

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ӘДІЛЕТ МИНИСТРЛІГІ



ӨНЕРТАБЫСҚА
ПАТЕНТ

АСТАНА



(19) **ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ ӘДІЛЕТ МИНИСТРЛІГІ**

ӨНЕРТАБЫСҚА

(11) **№ 32962**

(12) **ПАТЕНТ**

(54) **АТАУЫ:** 2b генотипті шошқа инфекциясының цирковирусты «PCV2b/SKO17/KZ/RIBSP» вирус штаммы

(73) **ПАТЕНТ ИЕЛЕНУШІСІ:** Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитетінің "Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты" шаруашылық жүргізу құқығындағы республикалық мемлекеттік кәсіпорыны (KZ)

(72) **АВТОР (АВТОРЛАР):** Сансызбай Абылай Рысбайұлы (KZ); Мамбеталиев Муратбай (KZ); Абдураимов Ергали Орынбасарович (KZ); Абсатова Жаркинай Серикбаевна (KZ); Есимбекова Назым Бейсехановна (KZ); Килибаев Санат Серикович (KZ); Валиева Айсулу Дулатбековна (KZ); Битешова Эльмира Туракбаевна (KZ); Кенжебаева Маржан Кулкубековна (KZ)

(21) **Өтінім №** 2017/0094.1

(22) **Өтінім берілген күн:** 06.02.2017

25.06.2018 Қазақстан Республикасы Өнертабыстардың мемлекеттік тізілімінде тіркелді.

Патентті күшінде ұстау ақысы уақытылы төленген жағдайда, патенттің күші Қазақстан Республикасының бүкіл аумағында қолданылады.

**Қазақстан Республикасының
Әділет вице-министрі**

Н. Пан

Өзгерістер енгізу туралы мәліметтер осы патентке қосымша түрінде жеке паракта келтіріледі

003835



(19) **МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

(12) **ПАТЕНТ**

(11) **№ 32962**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(54) **НАЗВАНИЕ:** Штамм «PCV2b/SKO17/KZ/RIBSP» вируса цирковиральной инфекции свиней генотипа 2b

(73) **ПАТЕНТООБЛАДАТЕЛЬ:** Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения "Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности" Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (KZ)

(72) **АВТОР (АВТОРЫ):** Сансызбай Абылай Рысбайұлы (KZ); Мамбеталиев Мурагбай (KZ); Абдураимов Ергали Орынбасарович (KZ); Абсатова Жаркинай Серикбаевна (KZ); Есимбекова Назым Бейсехановна (KZ); Килибаев Санат Серикович (KZ); Валиева Айсулу Дулатбековна (KZ); Битешова Эльмира Туракбаевна (KZ); Кенжебаева Маржан Кулкубековна (KZ)

(21) **Заявка № 2017/0094.1**

(22) **Дата подачи заявки: 06.02.2017**

Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений Республики Казахстан 25.06.2018.

Действие патента распространяется на всю территорию Республики Казахстан при условии своевременной оплаты поддержания патента в силе.

**Вице-министр юстиции
Республики Казахстан**

Н. Пан

Сведения о внесении изменений приводятся на отдельном листе в виде приложения к настоящему патенту



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) B (11) 32962
(51) C12N 7/00 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21) 2017/0094.1

(22) 06.02.2017

(45) 23.07.2018, бюл. №27

(72) Сансызбай Абылай Рысбайұлы; Мамбеталиев Муратбай; Абдураимов Ергали Орынбасарович; Абсатова Жаркинай Серикбаевна; Есимбекова Назым Бейсехановна; Килибаев Санат Серикович; Валиева Айсулу Дулатбековна; Битешова Эльмира Туракбаевна; Кенжебаева Маржан Кулкубековна

(73) Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения "Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности" Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан

(56) Lin Lv et al. Comparative Sequence analysis of Porcine Circovirus Type 2 Strains Isolated from the Fattening Pig in China // Inter J Agri Biosci, 2015 .No 4(3) Pp.108-113

EA 201370140 A1, 30.10.2013

RU 2283862 C2, 20.09.2006

Раев С.А. и др. Получение рекомбинантного капсидного белка цирковируса свиней второго типа (генотип 2b) в бакуловирусной системе и использование его для изготовления вакцины // РВЖ. СХЖ, 2012. №3. с.17-19

(54) ШТАММ «PCV2b/SKO17/KZ/RIBSP»
ВИРУСА ЦИРКОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ
СВИНЕЙ ГЕНОТИПА 2b

(57) Впервые в Республике Казахстан получен штамм «PCV2b/SKO17/KZ/RIBSP» для производства диагностических и профилактических средств против цирковиральной инфекции свиней (ЦВИС) генотипа 2b.

Изобретение относится к области ветеринарной вирусологии и биотехнологии и представляет собой эпизоотический штамм цирковиральной инфекции свиней генотипа 2b, репродуцированный в перевиваемой культуре клеток MARC-145 (клонный вариант клеток почки эмбриона макаки - резус МА-104) с биологической активностью $(7,00 \pm 0,25)$ lg ТЦД₅₀/мл.

Полученный штамм «PCV2b/SKO17/KZ/RIBSP» цирковиральной инфекции свиней генотипа 2b депонирован в Коллекции микроорганизмов Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности (НИИПББ) Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан под регистрационным номером М-5-16/Д и хранится при температуре минус 40-70°C в лиофилизированном виде в ампулах ШПБ-6 под вакуумом с защитной средой (6,5% пептона) в соотношении 1:1, имеющий pH 7,2-7,6. Жизнеспособность штамма в стабильном состоянии поддерживается путем освежения в культуре клеток MARC-145.

(19) KZ (13) B (11) 32962

Изобретение относится к области ветеринарной вирусологии и биотехнологии и представляет собой новый актуальный штамм «PCV2b/SKO17/KZ/RIBSP» циркувирусной инфекции свиней (ЦВС) генотипа 2b, предназначенного для производства диагностических и профилактических средств против данной инфекции.

Целью изобретения является выделение эпизоотического штамма «PCV2b/SKO17/KZ/RIBSP» вируса циркувирусной инфекции свиней генотипа 2b, обладающего репродуктивной активностью в системе культивирования, предназначенного для производства диагностических и профилактических средств против ЦВИС.

Циркувирус свиней типа 2 является этиологическим агентом целого ряда заболеваний, объединяемых в научной литературе под общим названием циркувирусные болезни свиней (Б.Г. Орлянкин, А. М. Мишин, 2010; С.А. Раев, 2014).

Возбудитель инфекции ЦВС-2, по международным комитетом по таксономии (1995) отнесен к роду *Circovirus*, семейства *Circoviridae*. Это мелкий без оболочечный икосаэдрический вирус, содержащий замкнутую односпиральную геномную ДНК, размером около 1767-1768 нуклеотидов. Помимо патогенного ЦВС-2 также существует непатогенный ЦВС-1, который был обнаружен как нецитопатогенный контаминант перевиваемой культуры клеток почки поросенка РК-15 (Орлянкин Б.Г., Мишин А.М., Алипер Т.И., 2011).

ЦВС-2 подразделяют на основании генетических различий в области второй открытой рамки считывания (ORF2) на генотипы ЦВС-2а, ЦВС-2b и ЦВС-2с. Изменения в тяжести, с которой протекают заболевания, в последнее время многие исследователи связывают со сменой генотипов от ЦВС-2а к ЦВС-2b и ЦВС-2с (Choi Y.K., Goyal S.M., Joo H.S., 2003).

Известен штамм QY PCV2 (AY682995 strain QY) (PCV2, H), который выделен от больных свиней на свиноферме в провинции Син-Чу, Тайвань. Выделенный штамм культивируется в перевиваемой линии клеток почки поросят РК-15. В течение 6-ти последовательных пассажей в РК-15, наблюдалось характерные ЦПД при микроскопировании.

Приведенный выше аналог является наиболее близким предлагаемому изобретению по совокупности существенных признаков и признан в качестве прототипа.

В задачу создания настоящего изобретения входило получение штамма ЦВС-2 типа, обладающего репродуктивными свойствами в культурах клеток.

Предлагаемое изобретение включает штамм, совокупность существенных признаков которого, обеспечивающих получение технического результата:

Штамм «PCV2b/SKO17/KZ/RIBSP» циркувирусной инфекции свиней генотипа 2b,

выделенный в перевиваемой культуре клеток MARC-145 (клонный вариант клеток почки эмбриона макаки - резус МА-104) из образцов патологических материалов (кусочки печени, легких, селезенки и лимфатических узлов) от больных свиней ТОО «Виктория-2013» Тайыншинского района Северо-Казахстанской области в 2015 году. Для генетического анализа вируса, исследовали нуклеотидную последовательность полного генома. С использованием специфических праймеров PCV2_MCV1 и PCV2_MCV2 была проведена идентификация вируса ЦВС-2, а наработка полного генома проведена с праймерами PCV-1NF-PCV-1NR и PCV-2NF-PCV-2NR (фиг.1).

Изоляты вируса ЦВС-2 разделяют на линии или генотипы на основании филогенетического анализа частичной или полной нуклеотидной последовательности определенных генов. Для построения филогенетического дерева и определения генотипа была использована программа MEGA 6.06 и набор нуклеотидных последовательностей с известным генотипом из международной базы данных GenBank (фиг.2).

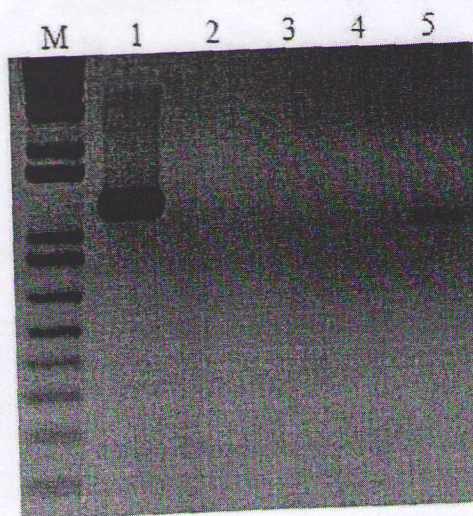
По полученным результатам выделенный штамм «PCV2b/SKO17/KZ/RIBSP» принадлежит к семейству *Circoviridae*, роду *Circovirus*, типу 2, подтипу b.

Штамм «PCV2b/SKO17/KZ/RIBSP» активно репродуцируется в культуре клеток MARC-145 при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 5-7 суток. Биологическая активность четвертого пассажного уровня вируса составляет $(7,00 \pm 0,25) \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$.

Выделенный штамм «PCV2b/SKO17/KZ/RIBSP» циркувирусной инфекции свиней генотипа 2b депонирован в Коллекции микроорганизмов Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности (НИИПББ) Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан под регистрационным номером М-5-16/Д и хранится при температуре минус $40-70^\circ\text{C}$ в лиофилизированном виде в ампулах ШПБ-6 под вакуумом с защитной средой (6,5% пептона) в соотношении 1:1, имеющий pH 7,2-7,6. Жизнеспособность штамма в стабильном состоянии поддерживается путем освежения в культуре клеток MARC-145.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Штамм «PCV2b/SKO17/KZ/RIBSP» вируса циркувирусной инфекции принадлежащий к семейству *Circoviridae*, роду *Circovirus* генотипу 2b депонирован в Коллекции микроорганизмов РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан под регистрационным номером М-5-16/Д, предназначен для производства диагностических и профилактических средств против циркувирусной инфекции свиней



М - Маркер, 1 kb, Invitrogen; ОК - отрицательный контроль; 1 - «ЦВС-2 № 17 ORF1»;
 2 - «ЦВС-2 № 19 ORF1»; 3 - «ЦВС-2 № 19 ORF2»; 4 - «ЦВС-2 № 20 ORF1»;
 5 - «ЦВС-2 № 17 ORF2»;

Фиг.1 – Электрофореграмма изолята №17 вируса ЦВС (после изучения
 изолят был назван «Штамм «PCV2b/SKO17/KZ/ RIBSP») (1254 п.н. и 1045
 п.н. соответственно)