

# Проект программы целевого финансирования на тему «Разработка новых диагностических тест-систем для особо опасных вирусных инфекций», ИРН: BR24992948

Ответственный исполнитель проекта: Червякова Ольга Викторовна



## Аннотация

- После пандемии, вызванной COVID-19, обнаружилось глобальные проблемы, связанные с быстрой диагностикой и терапией нового инфекционного заболевания, а также с разработкой мер по предотвращению распространения. В связи с широким спектром генетических модификаций, высокой степенью изменчивости и развитием логистики международной торговли для Казахстана наибольшую проблему представляют вирусные инфекции.
- В этом проекте будут разработаны две тест-системы. Первая тест-система будет предназначена для лабораторной мультиплексной диагностики коронавируса SARS-CoV2 и вируса гриппа А методом ОТ-ПЦР РВ, и вторая тест-система для выявления антител к возбудителю коронавирусной инфекции методом иммуноферментного анализа.
- Внедрение разрабатываемых диагностических средств будет включать в себя лабораторные испытания, регистрацию и патентование. Результаты исследований будут опубликованы в научных изданиях. Создаваемые диагностические средства позволят подготовить платформу для разработки отечественных тест-систем в отношении других инфекций.

## Цель

- Целью данного исследования является разработка тест-систем для дифференциальной диагностики гриппа и коронавирусной инфекции методом мультиплексной ОТ-ПЦР РВ и оценка иммунного статуса населения путем обнаружения антител к коронавирусу SARS-CoV 2 методом ИФА.

## План публикаций работ

- 2025 жылы КОКСНВО ұсынған журналда бір мақала жариялау және Ұлттық зияткерлік меншік институтына екі патент алуға өтінім беру жоспарлануда;
- 2026 жылы рецензияланатын ғылыми журналда 1 мақала жариялау жоспарлануда.

## Задачи

### Разработка и испытание диагностического средства на основе ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени для выявления РНК возбудителей гриппа и коронавирусной инфекции:

- Конструирование праймеров и зондов;
- Разработка положительных и отрицательных контрольных образцов;
- Оптимизация состава реакционной смеси и температурно-временных параметров реакции;
- Определение специфичности и чувствительности тест-системы;
- Лабораторное испытание и валидация диагностической тест-системы;
- Комиссионное испытание тест системы;
- Разработка НТД на тест-систему;
- Внедрение средств диагностики особо опасных вирусных инфекций путем получения регистрационных удостоверений. Регистрация тест-системы для выявления гриппа и коронавирусной инфекции.

### Разработка и испытание диагностического средства для выявления антител к возбудителю коронавирусной инфекции методом иммуноферментного анализа:

- Получение рекомбинантных антигенов и специфических сывороток, оптимизация условий проведения анализа;
- Определение специфичности и чувствительности диагностической тест-системы для выявления антител к коронавирусу;
- Лабораторное испытание диагностической тест-системы для выявления антител к коронавирусу. Определение клинической специфичности и чувствительности тест-системы;
- Комиссионное испытание ИФА тест системы;
- Разработка НТД на тест-систему для выявления антител к коронавирусу;
- Регистрация тест-системы.

## Методы

- Множественное выравнивание последовательностей нуклеотидов. Подбор и анализ специфичности олигонуклеотидных праймеров и зондов;
- Выделение РНК вирусов;
- Конструирование рекомбинантных плазмидных ДНК;
- Постановка ОТ-ПЦР и ОТ-ПЦР в режиме реального времени;
- Оптимизация ОТ-ПЦР анализа. Определение специфичности и чувствительности тест-системы;
- Конструирование плазмиды для экспрессии рекомбинантного белка;
- Экспрессия рекомбинантного белка;
- ДСН-ПААГ-электрофорез и вестерн блот;
- Получение специфической сыворотки.

## Результаты и обсуждение

В результате проведения научно-исследовательских работ на текущее время получены следующие результаты:

- В результате выравнивания и анализа нуклеотидных последовательностей геномов вирусов гриппа типа А и коронавируса SARS-CoV-2 определены консервативные и полиморфные участки, которые были использованы для конструирования видоспецифичных праймеров и зондов для постановки ОТ-ПЦР в реальном времени.
- Подобраны и синтезированы специфические праймеры и зонды для диагностики вирусов гриппа типа А и коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР в реальном времени.
- Оптимизирован количественный состав реагентов, олигонуклеотидных зондов и праймеров в реакционной смеси, и подобран оптимальный температурный режим амплификации ПЦР-продуктов с помощью градиентной постановки ОТ-ПЦР и ОТ-ПЦР в реальном времени.
- Получены положительные контроли для вируса гриппа А и SARS-CoV-2.
- Сконструирована рекомбинантная плазида для экспрессии химерного полиэпитопного белка.
- Получены иммуноспецифические компоненты: рекомбинантный белок и гипериммунные сыворотки, предназначенные для разработки тест-системы по выявлению антител к вирусу SARS-CoV-2 сыворотках крови.
- Подобраны оптимальные условия постановки ИФА.

## Контакты

Червякова Ольга Викторовна, email: o.chervyakova@biosafety.kz