

ВИРУСТ ХЕПАТИТ В-ИЙН ХАЛДВАРААС УРЬДЧИЛАН

СЭРГИЙЛЭХ РЕКОМБИНАНТ ВАКЦИНЫ ТЕХНОЛОГИ, СТАНДАРТЫН ТӨСӨЛ

Х.Цацрал, А.Ариунаа, Л.Төмөрхүү,
З.Сайнжаргал, Э.Алтанцэцэг, Л.Лхагва, Д.Оюундэлгэр
Нийгмийн Эрүүл Мэндийн Хүрээлэн,
Биотехнологийн үйлдвэр, судалгаа, сургалтын Төв

Хепатитын В вирусийг /ХВВ/ эрдэмтэн Б.Блюмберг анх Австралийн уугуул иргэдийн цусны уургийн полиморфизмыг судалж байх үедээ олж тодорхойлсон бөгөөд хожмоо энэхүү бүтээлээрээ Нобелийн шагнал хүртсэн байна. Хепатитын В вирус нь цочмог ба архаг хепатит, элэгний хатуурал буюу цирроз, элэгний анхдагч өмөн /ЭАӨ/ гэсэн бие даасан 4 өвчлөлтэй холбоотой, анагаах ухааны чухал ач холбогдол бүхий эмгэгтөрөгч юм.

Манай орны хүн амын 15 – 21% нь хепатитын вирус тээгч төдийгүй /П.Нямдаваа нар 1984, Ж.Оюунбилэг нар 1998/ архаг вирус хепатит өвчтэй хүмүүсийн 30 – 31%-д нь ХВВ-ийн маркер илэрдэг тул хепатитын өвчлөл болон тархалтаараа өндөр эрсдэлтэй улс орны тоонд орж ЭАӨ-ийн өвчлөлөөр Ази – Номхон далайн орнууд дотор дээгүүрт ордог.

Вирус хепатит нь дэлхийн ихэнх бүс нутаг, ялангуяа Ази-Номхон Далайн бүсэд нутагшмал хэлбэрээр тархсан байдаг ба дэлхийн хүн амын 2 Тэрбум гаруй нь халдварласан гэдэг судалгаа байдаг бөгөөд үүнээс 350-400-аад сая нь вирусийн архаг тээгчид болсон байна. Олонхи оронд 1980-аад оноос эхлэн В хепатитын эсрэг вакцины түүхий эдийг вирус тээгчдийн цуснаас бэлтгэн ийлдсийн вакциныг үйлдвэрлэн хэрэглэж байсан. Манай оронд 1993 оноос эх орны үйлдвэрийн ийлдсийн вакцин болох Хепвак-В-ын технологи, стандартыг боловсруулан нэвтрүүлсэн.

Хүн төрлөхтөний энэ шинэ технологээр бүтээсэн хамгийн анхны вакцин нь хепатитын В вирусийн халдвараас сэргийлэх вакцин юм. 1986 оноос хөгжилтэй улс орнуудад хепатитын В вирусийн халдварын эсрэг рекомбинант вакциныг үйлдвэрлэх суурийг тавьсан. Рекомбинант вакцины үйлдвэрлэлд *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula polymorpha*, *Pichia pastoris* гэсэн хөрөнгөнцөрийн омгийг хэрэглэн В хепатитын болон папиллома вирусийн халдварын эсрэг вакциныг бүтээсэн нь амжилтанд хүрсэн байна. Хепатитын В вирусийн гадаргын эсрэгтөрөгч болох HBsAg-ны генийг агуулсан вектор плазмидыг хөрөнгөнцөрийн эсэд трансформаци хийн рекомбинант омгийг гаргаж авах биотехнологийн дэвшилтэт технологи болох генийн инженерчлэлийн аргыг хэрэглэн вакциныг үйлдвэрлэдэг. Рекомбинант вакцин бүтээх судалгааг Хепатитын В вирусийн HBsAg ба Pgs геныг ашиглан рекомбинант вакцины (*vaccinia*) вирус гарган авч эсийн өсгөвөр нийлэгжүүлэх ба хөрөнгөнцөрт гарган авах судалгааг НЭМХ ба ШУА-ын Биологийн хүрээлэнд хийж байв.

Зорилго: Вирус хепатит В –ийн халдвараас урьдчилан сэргийлэх эмчлэх рекомбинант вакцины технологи, стандартын төслийг боловсруулах

Зорилтууд:

1. HBsAg-ний генийг кодлох вектор-плазмидыг бүтээх
2. Хөрөнгөнцрийн эсэд уургийн генийг шилжүүлэн суулгах
3. Өсгөвөрлөн олшруулсан уургийг ялгаж цэвэрлэх

Материал, аргазүй:

Хепатит В-ийн халдварын эсрэг рекомбинант вакцин нь вирусийн гадаргын эсрэгтөрөгч /HBsAg/-ийг хөрөнгөнцөр/*Saccharomyces cerevisiae*/-ийн эсэд олшруулан гаргасан вакцин юм. HBsAg –ийг хариуцагч Pre-S генийг хөрөнгөнцрийн эсэд трансформацлан олшруулж түүнээс ялгаж, цэвэрлэж авсан. Хөрөнгөнцрийг пептон, декстроз, амин хүчлүүд, эрдэс бодисуудыг агуулсан орчинд ургуулсан. HBsAg-ний уургийг хөрөнгөнцрийн эсээс ялгахын тулд усны орчинд хэт авиаг хэрэглэн дараа нь 2 шаталбарт гель хроматографын аргаар цэвэрлэв. Цэвэршилтийг ПААГ-ЭФ-ын аргаар тодорхойлов.

Үр дүн: Цэвэрлэлтийн эхний шатны дараа 50%, хоёрдугаар шатны дараа 98%-тай байв.

Дүгнэлт: Генийн инженерийн арга нь шинэ, аюулгүй, үр дүнтэй вакциныг бүтээхэд *E.coli* бактер болон хөрөнгөнцрийг ашиглан рекомбинант вакциныг бүтээх боломжийг олгоно. Чухал шаардлага бүхий вакцинуудын дотроос хепатит В-ийн халдварын эсрэг рекомбинант вакцин нь хамгийн их хэрэгцээтэй юм.

Түлхүүр үг: ХВВ, Pre-S, вектор-плазмид, HBsAg, хөрөнгөнцөр, гель-хроматограф

**PRODUCTION TECHNOLOGY AND STANDARD OF RECOMBINANT
VACCINE AGAINST HEPATITIS B VIRUS INFECTION**

Kh.Tsatral, A.Ariunaa, L.Tumurkhuu, E.Altantsetseg,

S.Lkhagva, D.Oyundelger

Public Health Institute,

Biotechnology production, research and training center

Hepatitis B virus /HBV/ was identified as the causative agent of serum hepatitis in the 1970s after B.Blumberg discovered the Australia antigen. It turned out the surface protein of HBV that is secreted into the bloodstream of infected patients in large excess over viral particles. HBV was found to be endemic in many parts of the world, more than 2 billion people having had contact with the virus and more than 350 million chronic carriers of the virus. Many studies observed that 15-21% of Mongolian population are carriers of HBV. In many country, the first licensed vaccines against HBV became available at the beginning of the 1980s, this vaccine was produced by harvesting and purifying HBsAg from the serum of chronic carriers. In our country 1993s developed technology and standard of serum derived vaccine Hepvac-B against hepatitis B virus infection. Since 1986, recombinant hepatitis B vaccines have been used as more practical alternatives with the HBsAg produced in yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula polymorpha*, *Pichia pastoris*. The second-generation vaccine elaborated by recombinant technology. In this vaccine the HBsAg coding gene is isolated from the hepatitis B-virus and, by means of modern genetic engineering, transferred into a host cell inducing the production of HBsAg in the transformed host.

Goal: Develop the technology of prophylactic and treatment recombinant vaccine against Hepatitis B virus infection.

Research objectives:

- To use vector-plasmid which coding HBsAg gene
- transformate the protein gene to yeast cells
- Isolation and purification of the cultured proteins

Materials and methods:

Recombinant Hepatitis B vaccine is a non-infectious subunit viral vaccine Derived from hepatitis surface antigen /HBsAg/ produced in yeast cells. A portion of the hepatitis B virus gene ,coding for HBsAg, is cloned into yeast, and the vaccine for hepatitis B is produced from cultures of this recombinant yeast strain according to methods developed in the research laboratories. The antigen is harvested and purified from the cell culture infected by recombinant vaccinia virus and fermentation cultures of a recombinant strain of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* containing the gene for HBsAg Pre-S of HBsAg. The fermentation process involves growth of *S.cerevisiae* on a complex fermentation medium consist of a extract of a yeast, peptone, dextrose, aminoacids and mineral salts. The HBsAg protein is released from the yeast cells by cell distruption and purified by a chromatographycal methods. The vaccine contains no detectable yeast DNA but may contain not more than1% yeast protein.

Results: Purity of protein at first purification stage from yeast cells was 50%, at second stage was 98%.

Conclusion:

To expess Pre-S antigens of HBV is important to improve the existing vaccine technologies. There fore it is possible to organize the production of improved HBV vaccine when GMP requirememts meet in our country.

Keywords: *HBV, recombinant, fermentation, yeast cell, purification*

