

Улсын бүртгэлийн
дугаар

Нууцын зэрэглэл: Б

Аравтын бүрэн
Ангиллын код

Төсөл гүйцэтгэх гэрээний
дугаар: ШуСс – 2018/39

АНАГААХ ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛЬ
БИО-АНАГААХЫН ХҮРЭЭЛЭН

ГЕПАТИТИЙН С ВИРУСИЙН ХАЛДВАРЫН ШАЛТГААНТ ЭЛЭГНИЙ ЭДИЙН ГЭМТЭЛД INOS УУРГИЙН ИНГИБИТОРЫН НӨЛӨӨГ ТОДОРХОЙЛСОН ДҮН

Суурь судалгааны төсөл
2018-2023

Төслийн удирдагч:
Төслийн зөвлөх:

Л.Энхсайхан – АУ-ы доктор (Ph.D), дэд профессор
С.Цогтсайхан- Хүний их эмч АУ-ы доктор, профессор

Төслийн гүйцэтгэгч:

Ц.Билэгтсайхан – Хүний их эмч, АУ-ы доктор, дэд профессор
Ч.Гансүх - Хүний их эмч, АШУУИС-ийн Дархлаа судлалын тэнхимийн багш, АУ-ы доктор
С.Долгорсүрэн - Хүний Их Эмч, АШУУИС-СС багш, АУ-ы магистр
М.Батхишиг - Био-анагаах судлаач, Токушима их сургуулийн Био-анагаахын хүрээлэн, докторант
Ө.Уранбилэг - Био-анагаах судлаач, АУ-ы магистр
Э.Баасансүрэн - Био-анагаах судлаач, АУ-ы магистр
Т.Балжинням - Био-анагаах судлаач, АУ-ы магистр
Б.Туул - Био-анагаах судлаач
Э.Билгүүн - Био-анагаах судлаач

Санхүүжүүлэгч байгууллага:

Шинжлэх Ухаан, Технологийн Сан

Захиалагч байгууллага:

Боловсрол Шинжлэх Ухааны Яам

Гүйцэтгэгч байгууллага:

Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их
Сургууль, Био-анагаахын хүрээлэн

Улсын бүртгэлийн
дугаар

Нууцын зэрэглэл: Б

Аравтын бүрэн
ангилалын код.....

Төсөл хэрэгжүүлэх гэрээний
дугаар: ШyCc – 2018/39

АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛЬ

ГЕПАТИТЫН С ВИРУСИЙН ХАЛДВАРЫН ШАЛТГААНТ ЭЛЭГНИЙ ЭДИЙН ГЭМТЭЛД INOS УУРГИЙН ИНГИБИТОРИЙН НӨЛӨӨГ ТОДОРХОЙЛСОН ДҮН

Суурь судалгааны төслийн тайлан
2018-2023

Төслийн гүйцэтгэгч:	Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их Сургууль, Био-анагаахын сургууль, Био-анагаахын хүрээлэн
Төслийн удирдагч:	Л.Энхсайхан – АУ-ны доктор (Ph.D), дэд профессор, Анагаахын шинжлэх ухааны үндэсний их сургууль, Био-АС, Дархлаа судлалын тэнхмийн ахлах багш
Санхүүжүүлэгч байгууллага:	Шинжлэх Ухаан Технологийн Сан
Захиалагч байгууллага:	Боловсрол, Шинжлэх ухааны яам
Тайлан өмчлөгч:	Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их Сургууль

УЛААНБААТАР ХОТ
2023 ОН

РЕФЕРАТ

Монгол Улсад хийгдсэн судалгаагаар гепатитын С вирусийн РНХ нийт хүн амын 11%-д илрэн, HCV (Hepatitis C virus)-ийн 1b генотип хэвшинж эдгээр тохиолдлын ихэнх хувийг эзэлж байна¹. Мөн элэгний хорт хавдартай өвчтөний 90-с дээш хувьд нь HCV эсвэл HBV-ийн халдвар илэрсэн бол элэгний хатууралтай өвчтөнүүдийн 39%-д HCV илэрсэн². Гепатитын С вирусийн шалтгаант элэгний хатуурал, анхдагч өмөн нь дэлхийд төдийгүй манай улсын хүн амын эрүүл мэнд, нийгэм, эдийн засагт ихээхэн хор хохирол учруулсаар байна. Гепатоцит эс халдварын үндсэн бай мөн боловч макрофаг эс халдварт өртдөг талаарх олон судалгаа бий. Тиймээс макрофаг төст эсийн шугамыг ашиглан HCV-ийн Core, NS5A, E1 уургаар үйлчлэн, энэ үеийн дохио дамжилт, уураг молекулуудын экспрессийг тайван үеийнхтэй харьцуулан судаллаа. HCV-ийн халдварын үе дэх азотын дан ислийн ялгарал, ямар механизмаар гепатитын С вирус IFN болон эзэн эсийн дархлаа тогтолцооноос зайлсхийдэг нь нарийн тодорхойгүйн дээр түүний гетероген чанар, дэд хэв шинжийн тархалт болон интерфероноор өдөөгдөх бусад ген, эмчилгээний үр дүнд хэрхэн нөлөөлдөг гэх мэтчилэн олон тайлагдаагүй зүйлс бий. Өвөрмөц бус дархлаа, IFN -оор өдөөгдөх вирусийн эсрэг зам, өвөрмөц дархлааны урвалын хоорондын холбоо хамаарлыг тайлах цаашдын судалгаа шаардлагатай байна.

Арга, аргачлал: HCV-ийн Core, E1, NS5A уургийг агуулсан плазмидыг (Sinobiological Inc) XL1-blue бактерийн омогт дулааны шокын аргаар трансформаци хийн олшруулж, (Exprep™ plasmid, Geneall Biotechnology, Co.,LTD) цомог ашиглан ялгав. Ялган авсан плазмидыг тус тусад нь макрофаг төст RAW264.7 эсэд липофектамин (Lipofectamine 3000, Thermo fisher Scientific) урвалжаар трансфекци хийн, трансфекцийн үр дүнг Core, NS5A, E1 уургийн эсрэгбиеийг (Abcamplc) ашиглан баталгаажуулав. IFN γ (Peprotech Inc) цитокин, 1400W ингибитороор 18 цаг өдөөн iNOS, IRF1 уургийн экспрессийг иммуноблоттинг аргаар, азотын дан ислийн гарцыг Гриесс урвалжаар үнэлэв.

Үр дүн:

Хяналтын бүлэгт Core, NS5A, E1 уургийн экспресс илрээгүй ба Core, NS5A, E1 уураг бүхий плазидаар үйлчилсэн бүлэгт уургийн экспресс илэрч, трансфекци амжилттай явагдсаныг харуулж байна. Харин Core+IFN γ , NS5A+IFN γ бүлэгт Core уургийн экспресс буурсан нь IFN γ нь вирусийн уургийн эсрэг үйлдэлтэйг харуулж байна. Сонирхолтой нь E1+IFN γ бүлэгт IFN γ нь E1 уургийн экспрессийг

нэмэгдүүлэв. Энэ нь эзэн эсэд IFN γ -аар нөхцөлдөх төрөлхийн дархлааны хариу урвалыг эрчимжүүлж байж болох юм. Хяналтын бүлэгт iNOS уургийн экспресс илрээгүй ба E1 уургийн ген бүхий плазмидаар трансфекци хийсэн бүлэгт iNOS уургийн экспресс нэмэгдсэн. Харин Core болон NS5A уураг нь дангаараа iNOS уургийг идэвхжүүлж чадаагүй. Сонирхолтой нь Core+IFN γ , E1+IFN γ болон NS5a+IFN γ бүлэгт IFN γ хамааралт iNOS уургийн идэвхжил улам нэмэгдсэн. Эдгээр үр дүнгээс харахад HCV-ийн E1 уураг нь дангаараа эзэн эсийн дархлааг өдөөхийн зэрэгцээ IFN-аар идэвхжих өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалыг улам эрчимжүүлж байна. HCV-ийн бусад уургууд нь (Core, NS5A) дангаараа бус IFN γ -аар өдөөгдөх хариу урвалыг нэмэгдүүлж байна. Нэг талаас, анхдагч дархлааны хариу урвалыг илтгэгч IFN-аар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжил, нөгөө талаас вирусийн довтолгоог илтгэгч Core болон NS5A уургийн нийлэгжлийг харьцуулан үнэлэв.

Вирусийн Core, NS5A уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалаар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжилтэй урвуу хамааралтай байна Энэ нь вирусийн эсрэг IFN γ -ийн хариу урвал идэвхэжсэнээр вирусийн уургуудын үйл ажиллагааг саатуулж байгааг харуулж байна. HCV-ийн NS5A нь эзэн эсийн дархлааны хариу урвалын IRF1 транскрипцийн факторыг идэвхжүүлж байна. HCV-ийн Core, E1 уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн дархлааны хариу урвалтай (IRF1) урвуу хамааралтай. Харин NS5A уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн дархлааны хариу урвалаар өдөөгдөх IRF1 уургийн идэвхжилтэй шууд хамааралтай байгаа нь вирусийн эсрэг дархлааны механизмийг өдөөхөд илүү үүрэгтэй байна. Мөн 1400W ингибитор нь NO-ийн гарцыг бууруулж байна.

Түлхүүр үгс: Гепатитын C вирус (HCV), эсийн өсгөвөр, iNOS, IRF1 транскрипцийн фактор, Core, E1, NS5A плазмид, интерферон гамма, азотын исэл, 1400W ингибитор

Төслийн удирдагч:

Лхагвасүрэнгийн Энхсайхан - Хүний Их Эмч, Дархлаа Судлаач, АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын сургуулийн Дархлаа судлалын тэнхим, АУ-ны Доктор, дэд профессор /...../

Төслийн багийн гишүүд:

Сандагийн Цогтсайхан – Хүний Их Эмч, АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын сургуулийн Дархлаа судлалын тэнхим, АУ-ны доктор, профессор, Дархлаа судлаач, Эмнэлзүйн эмгэг судлаач /...../

Чойжилсүрэнгийн Гансүх – Хүний Их Эмч, АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын сургуулийн Дархлаа судлалын тэнхим, АУ-ны доктор, Дархлаа судлаач, Эмнэлзүйн эмгэг судлаач /...../

Цолмонгийн Билэгтсайхан – Хүний Их Эмч, Халдварт өвчин судлалын үндэсний төв, АУ-ны доктор, дэд профессор /...../

Мөнхжаргалын Батхишиг – Био-анагаах судлаач, Токушима Их Сургуулийн Био-Анагаахын хүрээлэн докторант /...../

Түвдэнжамцын Балжинням – Био-Анагаах судлаач, АШУҮИС-ийн Молекул биологи тэнхим, АУ-ны магистр /...../

Энхжаргалын Баасансүрэн – Био-Анагаах судлаач, АУ-ны магистр /...../

Сандагдоржийн Долгорсүрэн – Хүний их эмч, АШУҮИС Сувилахуйн сургуулийн багш, АУ-ны магистр /...../

Өлзийсайханы Уранбилэг – Био-Анагаах судлаач, АШУҮИС-ийн Анагаах ухааны хүрээлэн, АУ-ны магистр /...../

Энхтүвшингийн Билгүүн – Био-Анагаах судлаач, АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын сургуулийн Дархлаа судлалын тэнхим /...../

ГАРЧИГ

ТОВЧИЛСОН ҮГИЙН ЖАГСААЛТ	6
ЗУРГИЙН ЖАГСААЛТ	8
ХҮСНЭГТИЙН ЖАГСААЛТ	9
УДИРТГАЛ	10
Судалгааны ажлын үндэслэл.....	10
Судалгааны ажлын зорилго	12
Судалгааны ажлын зорилт.....	12
Судалгааны ажлын шинэлэг тал.....	12
Судалгааны ажлын практик ач холбогдол	12
Судалгааны үр дүнг хэлэлцүүлсэн байдал	12
Судалгааны үр дүнгээр хэлэлцүүлсэн илтгэл.....	13
Судалгааны үр дүнгээр хэвлэн нийтлүүлсэн өгүүлэл	14
НЭГДҮГЭЭР БҮЛЭГ. ХЭВЛЭЛИЙН ТОЙМ.....	15
1.1. Гепатитын С вирус.....	15
1.2 HCV-ийн халдварын үед макрофаг эсийн оролцоо.....	17
1.3. Интерферон	19
1.3.1 IFN γ ба түүний гепатитын С вирусийн эсрэг идэвх	19
1.4 IRF1 транскрипцийн фактор.....	21
1.5. iNOS (NOS2) ба дархлаа тогтолцоо	22
1.6 iNOS саатуулагчид.....	26
ХОЁРДУГААР БҮЛЭГ. СУДАЛГААНЫ ХЭРЭГЛЭГДЭХҮҮН БА АРГА ЗҮЙ	27
2.1 Судалгааны ажлын загвар	27
2.2 Судалгааны хүрээ	27
2.3 Судалгааны ажлын хэрэглэгдэхүүн	27
2.4 Судалгааны ажлын арга зүй	28
2.4.1 Компетент эс	28
2.4.2 Трансформаци	29
2.4.3. Компетент эсээс плазмидын ДНХ ялгах.....	30

2.4.4. Эсийн өсгөвөр	31
2.4.5. Трансфекци болон эсийн эмчилгээ	31
2.4.6. Иммуноблоттинг.....	33
2.4.7. Азотын ислийн гарцыг тодорхойлох	33
2.4.8. Эсийн өсгөвөрт гепатитын С вирусийн загвар үүсгэх аргачлал	34
2.4.9. Эсээс ГСВ-ын РНХ-ийг ялгах арга	35
Б2.5. Үр дүнгийн статистик боловсруулалт	35
2.6. Судалгааны ажлын ёс зүй	35
ГУРАВДУГААР БҮЛЭГ. СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ҮР ДҮН.....	36
3.1 Плазмид ДНХ-ийг трансформаци хийсэн дүн.....	36
3.2 Плазмид ДНХ-ийг ялган авсан дүн	36
3.3 Плазмид ДНХ-ийг гель электрофорезоор шалгасан дүн	37
3.4 Уургийн концентрацийг тодорхойлсон дүн.....	38
3.5 Core уургийн экспресст үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөөг иммуноблоттинг аргаар баталсан дүн.....	39
3.6. NS5A уургийн экспресст үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөөг иммуноблоттинг аргаар баталсан дүн.....	39
3.7. E1 уургийн экспресст үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөөг иммуноблоттинг аргаар баталсан дүн.....	40
3.8. IFN γ -аар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжилд Core, E1 болон NS5A уургийн нөлөө	41
3.9. IFN γ -аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцад Core, E1 болон NS5A уургийн нөлөө	42
3.10. Эзэн эсийн хамгаалах хариу урвал болон вирусийн гэмтээх урвалын харилцан уялдааг тодорхойлсон дүн.....	43
3.11 IRF1 уургийн идэвхжилийг иммуноблоттингийн аргаар тодорхойлсон дүн	45
3.12 Эзэн эсийн хамгаалах хариу урвал болон вирусийн гэмтээх урвалын харилцан уялдааг тодорхойлсон дүн.....	46
3.13 1400W ингибиторийн эс хордуулах тунг МТТ аргаар тодорхойлсон дүн	49
3.14 IFN γ -аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцад 1400W уургийн нөлөө	50
ДӨРӨВДҮГЭЭР БҮЛЭГ. ХЭЛЦЭМЖ.....	52

СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ДҮГНЭЛТ61

НОМ ЗҮЙ

ТАЛАРХАЛ

ХАВСРАЛТ

ТОВЧИЛСОН ҮГИЙН ЖАГСААЛТ

Монгол товчилсон үгийн жагсаалт

АШУУИС	Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их Сургууль
БНЛП	Бага нягтралтай липопротейн
ГАГ	Гликозамингликан
ДНХ	Дезоксирибонуклейн хүчил
ДЭМБ	Дэлхийн Эрүүл Мэндийн байгууллага
ПЭГ	Полиэтиленгликол
РНХ	Рибонуклейн хүчил
ЭДТА	Этилендиаминтетрацетат

Гадаад товчилсон үгийн жагсаалт

CD	Cluster of differentiation
GAS	Gamma Interferon- activated site
HCV	Hepatitis C virus
IFN	Interferon
IFNAR	Interferon alpha receptor
IFNG	Interferon-gamma gene
Ig	Immunoglobulin
IKK	Inhibitor of NF-kB kinase complex
IL	Interleukin
iNOS	Inducible nitric oxide synthase
IRAK	Interleukin-1 receptor-associated kinase
IRF	Interferon regulatory factor
ISGF	Interferon stimulation gene factor
ISGR	Interferon stimulation gene regulatory
ISRE	Interferon-sensitive response element
JAK	Januse kinase
LPKS	Leucine-Proline-Lisine-Serine
MAPKs	Mitogen-activated protein kinase
mRNA	messenger ribonucleic acid
NED	N-(1-Naphthyl) ethylenediamine bromide
NF-kB	Nuclear factor-kappa B
NK	Natural killer cell
NLS	Nuclear localization sequence
NO	Nitric oxide
NOS	Nitric oxide synthase
PAMPs	Pathogen- associated molecular patterns
RNA	Ribonucleic acid
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
STAT	Signal transducer and activator of transcription
TGF	Tumor growth factor
Th	T helper cell
TLR	Toll-like receptor
TNF	Tumor necrosis factor
TRAF	TNF receptor- associated factor
TRIF	TIR domain-containing adapter protein

ЗУРГИЙН ЖАГСААЛТ

Зураг 1. HCV-ийн геномын бүтэц, үүрэг.....	15
Зураг 2. HCV-ийн вирионы үүсэлт.....	16
Зураг 3 Вирусийн халдвар ба макрофаг эс	17
Зураг 4. HCV-ийн халдвар ба макрофаг эс	18
Зураг 5. HCV-ийн халдварын үед интерфероны ялгарал, үйлдэл	20
Зураг 6. Аргинины бодисын солилцоо ба азотын оксид үүсэх явц	23
Зураг 7. Элэгний эмгэгийн үед iNOS уургийн оролцоо	24
Зураг 8. Эрүүл ба эмгэг үед азотын оксидын солилцоо	24
Зураг 9. Азотын оксидын үйлдэл.....	25
Зураг 10. HCV-ийн уургийн ген агуулсан плазмид ДНХ-ийн бүтэц	29
Зураг 11. Дулааны шок үүсгэн бактерийн эсэд трансформаци хийх аргачлал.....	30
Зураг 12. Трансформацын үед дулааны шок болон Ca^{+2} ионы үүрэг.....	30
Зураг 13. Катионик липид ашиглан эукариот эсэд трансфекци хийх	32
Зураг 14. Гриесс урвалжаар NO_2^- -ийг тодорхойлох үед өрнөх урвал.....	33
Зураг 15. Нитритийн агууламж хэмжих урвалын самбар	34
Зураг 16. Нэг бөөмт эсийн (Анхдагч эсийн өсгөвөр) өсгөвөрт ГСВ-ын халдварын загвар үүсгэж буй бүдүүвч зураг.	35
Зураг 17. Core, NS5A, E1 плазмидийг трансформаци хийснийг баталсан дүн.....	36
Зураг 18. Ялган авсан плазмид ДНХ-ийг гель электрофорезоор шалгасан дүн	37
Зураг 19. Эсийн өсгөвөрт HCV-ийн Core уургийн экспресс болон түүнд үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөөг тодорхойлсон дүн	39
Зураг 20. Эсийн өсгөвөрт HCV-ийн NS5A уургийн экспресс түүнд үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөөг харьцуулсан дүн	40
Зураг 21. Эсийн өсгөвөрт HCV-ийн E1 уургийн экспресс түүнд үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөөг харьцуулсан дүн	41
Зураг 22. IFN γ -аар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжилд Core, E1 болон NS5A уургийн нөлөө	42
Зураг 23. IFN γ -аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцад Core, E1 болон NS5A уургийн нөлөө.....	43
Зураг 24. iNOS болон Core уургийн идэвхжилийн хамаарал	44
Зураг 25. iNOS болон NS5A уургийн идэвхжилийн хамаарал.....	44
Зураг 26. iNOS болон NS5A уургийн идэвхжилийн хамаарал.....	45
Зураг 27. IRF1 уургийн идэвхжилд Core, E1 болон NS5A уургийн нөлөөг тодорхойлсон дүн	46
Зураг 28. IRF1 болон Core уургийн идэвхжилийн хамаарал	47
Зураг 29. IRF1 болон NS5A уургийн идэвхжилийн хамаарал	48
Зураг 30. IRF1 болон E1 уургийн идэвхжилийн хамаарал	49
Зураг 31. RAW264.7 эсэд 1400W уургийн эс хордуулах тунг MTT аргаар тодорхойлсон дүн	50
Зураг 32. IFN γ -аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцад 1400W ингибиторийн нөлөөг тодорхойлсон дүн	51

ХҮСНЭГТИЙН ЖАГСААЛТ

Хүснэгт 1.	Плазмид ДНХ-ийн гарц болон цэвэршилтийг нанодроп аппаратаар үнэлсэн дүн	37
Хүснэгт 2.	Уургийн концентрацийг тодорхойлсон дүн	38
Хүснэгт 3.	Иммуноблоттингийн үр дүнг imageJ программаар тоон анализ хийсэн дүн	45

УДИРТГАЛ

Судалгааны ажлын үндэслэл

Гепатитын С вирусийн халдвартай хүний тоо дэлхий дээр 170 саяд хүрсэн бөгөөд элэгний хатуурал, элэгний анхдагч өмөнгийн тэргүүлэх шалтгааны нэг болоод байгаа билээ. Монгол Улсад хийгдсэн судалгаагаар гепатитын С вирусийн РНХ нийт хүн амын 11%-д илрэн, HCV (Hepatitis C virus)-ийн 1b генотип хэвшинж эдгээр тохиолдлын ихэнх хувийг эзэлж байна¹. Мөн элэгний хорт хавдартай өвчтөний 90-с дээш хувьд нь HCV эсвэл HBV-ын халдвар илэрсэн бол элэгний хатууралтай өвчтөний 39%-д HCV илэрсэн². Элэгний хорт хавдрын 75% нь Ази тивд бүртгэгдсэн бол манай улсын 100000 хүн тутмын 78 нь уг хорт хавдраар өвчилсөн гэх баримт бий³. Дээрх тоо баримтаас үзэхэд гепатитын С вирусийн шалтгаант элэгний хатуурал, анхдагч өмөн нь манай улсын хүн амын эрүүл мэнд, нийгэм болон эдийн засагт ихээхэн хохирол учруулсаар байна.

Энэ вирусийн халдварын эсрэг эхэн үеийн хамгаалах тогтолцоонд гепатоцит эсүүд вирусийг илчлэн, халдварлагдсан эсэд буюу эдэд хэсэг газрын вирусийн эсрэг хамгаалах тогтолцоог өдөөж, өвөрмөц дархлаа тогтолцооны эсийг дайчлах үүргийг гүйцэтгэнэ. Тиймээс элэгний эдэд өрнөх өвөрмөц бус хамгаалах тогтолцоо нь вирусийн халдварыг хянахад чухал үүрэгтэй. Гэвч халдварлагдсан эсүүдийн ихэнх нь халдварыг устгах үр дүнтэй дархлааны хариу урвалыг өдөөж чаддаггүй ба үүний гол шалтгаан нь HCV вирусийн дархлааны хариу урвалыг зохицуулах, түүнээс зайлсхийх механизмтай холбоотой⁴. Өвөрмөц болон өвөрмөц бус дархлааны бүрэлдэхүүн хэсгүүд хамтдаа өвчтөний халдварыг устгах чадварыг нөхцөлдүүлдэг гэвч дархлааны хамгаалах урвалаас үл хамааран цочмог халдварын 70-80% нь архаг халдварт шилждэг^{5,6}. Энэ нь HCV-ийн эсрэг эсийн доторх өвөрмөц бус дархлааны урвалыг эзэн бие болон вирусийн хүчин зүйлүүд хавсран зохицуулдгаас шалтгаалдаг. Мөн эсийн доторх өвөрмөц бус дархлааны хариу урвал идэвхгүйжсэнээр өвөрмөц дархлааны хариу урвал үр дүнтэй өрнөдөггүй байх магадлалтай юм⁷⁻⁹.

HCV-ийн халдварын дараагаар идэвхэжсэн макрофаг, бусад эсээс IFN γ хэмээх цитокин ялгарч богино хугацаанд интерфероноор өдөөгдөх генүүд (ISG-Interferon stimulating gene)-ийн экспресс идэвхэждэг байна¹⁰. Сармагчны элгэнд дархлааны эффектор эсээс ялгарах IFN γ нь гепатитын С вирусийг бие махбодоос зайлуулах үйлд чухал үүрэгтэй болох нь батлагджээ¹¹. IFN γ цитокины рецептор нь элэгний эс ба бусад эс, эдэд илэрдэг. IFN γ өөрийн рецептортой холбогдсоноор JAK1

(Januse kinase 1) ба JAK2 (Januse kinase 2) гэх дохио дамжилтын замаар STAT1 (Signal transducer and activator of transcription 1) уургийн фосфоржилтийг өдөөдөг. Фосфоржсон STAT1 нь гомодимер бүтэц үүсгэн, бөөм рүү шилжсэнээр GAS (Gamma Interferon-activated site) буюу интерферон гаммаг идэвхжүүлэх хэсэгт үйлчлэн интерфероноор өдөөгдөх генүүдийн ISG (Interferon stimulating genes) нийлэгжүүлэлтийг эхлүүлнэ.

Судалгаагаар вирусийн эсрэг идэвхтэй 400 орчим ISG генийг тодорхойлоод байгаа билээ^{12,13}. Эдгээр генийн үйлдлийн механизм бүрэн тайлагдаагүй ч вирусийн эсрэг шууд идэвх нь HCV-ийн репликациг хянахад чухал үүрэгтэй ба халдварыг бүрэн хязгаарлахад нэмэлтээр өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалын зохицуулга шаардлагатай. HCV-аар халдварлагдсан гепатоцит эсэд вирусийн Core зэрэг уургууд нь JAK/STAT (Janus kinase/Signal transducer and activator of transcription) замаар явагдах интерфероны дохио дамжилтыг саатуулах эсвэл өөр өөр замаар HCV-ийн халдварыг хязгаарладаг өвөрмөц ISG генүүдийг дарангуйлдаг байж болох юм¹⁴.

ISG генүүдийн нэг төлөөлөл нь NOS2 (Nitric oxide synthase) ген юм. Элэгний эсийн архаг үрэвслийн үед NOS2-ын бүтээгдэхүүн болох азотын дан исэл NO (Nitric oxide) чухал үүрэгтэй медиатор болдог. Элэг, бусад эд эрхтэнд NO нь маш олон үйлдэлтэй ба хэд хэдэн эх үүсвэрээс үүсэх боломжтой учир эс, эд эрхтний үйл ажиллагааг зохицуулах үүрэг нь төвөгтэй бөгөөд судалгаагаар батлагдсан L-аргинин цитруллин болж хувирах урвалын дүнд үүснэ. Цитокин ба эндотоксины нөлөөгөөр эдэд азотын дан исэл ихсэх нь NOS2 энзимийн идэвхээс хамаарна. Архаг вируст гепатитын эмгэгжамд NO-ийн үүрэг бүрэн тодорхой болоогүй боловч NO-ийн хэт их нийлэгжил нь үрэвслийн үеийн эмгэг өөрчлөлттэй холбоотой хэмээн үздэг⁵. Элэгний үрэвсэл, өөхлөлт, фиброз зэрэг нь HCV-ийн халдварын шууд, харин үрэвсэл ба исэлдүүлэх стрессийн шууд бус гэмтлийн үр дагавар юм. Маш олон судалгаанд вирусийн халдварын дараа элгэнд NOS2-ын экспресс ихэсдэгийг харуулжээ¹⁵. Нөхцөл байдлаас хамааран NO нь элэг хамгаалах ба эс хордуулах нөлөөтэй боловч их хэмжээгээр нийлэгжих нь фиброзын үйлийг дэмжих, үрэвслийн урвалыг нөхцөлдүүлж болох юм¹⁶⁻¹⁸.

HCV түүний халдварын үе дэх азотын дан ислийн ялгарал, ямар механизмаар гепатитын C вирус IFN болон эзэн эсийн дархлаа тогтолцооноос зайлсхийдэг нь нарийн тодорхойгүйн дээр түүний гетероген чанар, дэд хэв шинжийн тархалт болон

интерфероноор өдөөгдөх бусад ген, эмчилгээний үр дүнд хэрхэн нөлөөлдөг гэх мэтчилэн олон тайлагдаагүй зүйлс бий.

Өвөрмөц бус дархлаа, IFN-оор өдөөгдөх вирусийн эсрэг зам, өвөрмөц дархлааны урвалын хоорондын холбоо хамаарлыг тайлах цаашдын судалгаа шаардлагатай байна.

Судалгааны ажлын зорилго

IFN γ -аар өдөөгдөх дархлааны хариу урвалд HCV-ийн уургийн нөлөөг тодорхойлох

Судалгааны ажлын зорилт

1. Трансфекци хийсэн эс дэх HCV-ийн зарим уургийн экспресст IFN γ -ийн нөлөөг тодорхойлох,
2. Трансфекци хийсэн эсэд IFN γ -аар өдөөгдөх iNOS, NO, IRF1-ийн идэвхжилд HCV-ийн уургийн нөлөөг тодорхойлох,
3. HCV-ийн уургийн эмгэг нөлөө болон вирусийн эсрэг дархлааны механизмийн харилцан уялдааг тодорхойлох.
4. IFN γ -аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцад 1400W уургийн нөлөөг тодорхойлох

Судалгааны ажлын шинэлэг тал

IFN γ нь HCV-ийн халдварын эсрэг чухал үүрэгтэй ба IFN γ болон HCV-ийн харилцан үйлчлэлийг макрофаг эс дээр судалсан нь бидний ажлын шинэлэг тал болж байна.

Судалгааны ажлын практик ач холбогдол

HCV-ийн халдварын загварыг судлах, систем, арга аргачлалыг нутагшуулах ач холбогдолтой.

Судалгааны үр дүнг хэлэлцүүлсэн байдал

1. Сэдэвт ажлын арга аргачлалыг АШУҮИС-ийн эрдмийн зөвлөлийн 2018 оны 06 дугаар сарын 28-ний өдрийн хуралдаанаар (Тогтоол 18/12) хэлэлцүүлж батлуулсан.
2. ЭМЯ-ны Анагаах Ухааны Ёс Зүй Хяналтын Хорооны 2018 оны 10 дугаар сарын 05-ний өдрийн хурлаар хэлэлцүүлэн (Тогтоол №80) судалгаа эхлүүлэх зөвшөөрөл авсан.

3. Судалгааны тайлан хэлэлцүүлгийг АШУҮИС-ийн Эрдмийн зөвлөлийн хуралдаанаар 2022 оны 12-р дугаар сарын 22-ны өдөр хэлэлцүүлэв (Тогтоол №05/02).
4. ЭМЯ-ны Анагаах Ухааны Ёс Зүй Хяналтын Хорооны 2023 оны 01 дүгээр сарын 18-ны өдрийн хурлаар хэлэлцүүлэн (Тогтоол №23/006) судалгааг хаах дүгнэлт гаргах тухай ажлын ёс зүйн хорооны дүгнэлт гаргуулсан.
5. Монголын Анагаах Ухааны Академийн чуулганы 2023 оны 3 дугаар сарын 31-ний өдрийн хуралдаанаар (Тогтоол №003/23) хэлэлцүүлэн төслийн тайланг ШУТС-д хүлээлгэн өгөх дүгнэлт гарсан.

Судалгааны үр дүнгээр хэлэлцүүлсэн илтгэл

1. Batkhisig Munkhjargal, Dolgorsuren Sandagdorj, Baasansuren Enkhjargal, Baljinnyam Tuvdenjamts, Budjav Jadamba, Uranbileg Ulziisaikhan, Batchimeg Sambuu, Khulan Unurbuyan, Bilegtsaikhan Tsolmon, Enkhsaikhan Lkhagvasuren. "The determination study to regulating action of hepatitis C virus in vitro infection on type II interferon-induced interferon stimulating genes". Discovering Future Together XV Congress of the Asian Society of Clinical Pathology and Laboratory Medicine. Abstracts: p43. September 06-08, 2018; Ulaanbaatar, Mongolia
2. Batkhisig M, Baljinyam T, Baasansuren E, Biligtsaikhan Ts, Badmaarag B, Enkhsaikhan L, "HCV effects on IFN gamma induced nitric oxide production" 4th International Conference of Health Sciences. Darkhan-Uul, Mongolia, 2018; p29-30
3. М.Батхишиг, Ө.Уранбилэг, Э.Баасансүрэн, Л.Энхсайхан, Ж.Өлзийсайхан, Б.Байгалмаа, Н.Цэвэлмаа, Б.Галиндэв, Л.Содномцогт, Д.Нямбаяр, Н.Мөнхтүвшин, Б.Мөнхбат, Ц.Билэгтсайхан. "IFNγ-аар өдөөгдөх азотын ислийн гарцад HCV нөлөөлөх нь". "Эрдэм судлал – Өв уламжлал" Эрдэм Шинжилгээний хурал. 2018; х18
4. М.Батхишиг, Э.Баасансүрэн, Т.Балжинням, Ц.Билэгтсайхан, Л.Энхсайхан. "Интерферон Гаммагийн дохио дамжилтанд гепатитын С вирусийн уургийн нөлөөг тодорхойлох нь", Алхам Урагш-2018 Магистрант, докторант нарт зориулсан эрдэм шинжилгээний бага хурал. 2018; х63
5. Ө.Уранбилэг, М.Батхишиг, Э.Баасансүрэн, Т.Балжинням, С.Цогтсайхан, Ц.Билэгтсайхан, Л.Энхсайхан. "Макрофаг төст RAW264.7 эсэд HCV-ийн уургийн нөлөөг тодорхойлсон дүн" Био-Анагаахын салбарын эрдмийн чуулган 61. 2019; 75х
6. Ө.Уранбилэг, М.Батхишиг, Э.Баасансүрэн, Т.Балжинням, Э.Хишигдэлгэр, С.Цогтсайхан, Ц.Билэгтсайхан, Л.Энхсайхан. "RAW264.7 эсэд HCV-ийн

уургийн нөлөөг тодорхойлсон дүн” Medical science IV international conference-Altai in Govi-Altai Medical School 2019; 41x

7. Batkhishig M, Uranbileg U, Dolgorsuren S, Baasansuren E, Baljinnyam T, Tuul B, Bilguun E, Budjav J, Jambaldorj J, Batchimeg S, Khulan U, Bilegtsaikhan Ts, Tsogtsaikhan S, Enkhsaikhan L. Effect of HCV proteins on macrophage cell line. The Recent Advances in Immunology International Online Conference. Abstract book: p50. October 16, 2020. Ulaanbaatar Mongolia.

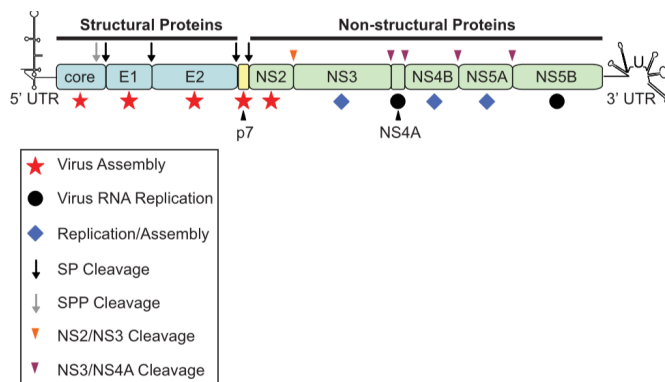
Судалгааны үр дүнгээр хэвлэн нийтлүүлсэн өгүүлэл

1. М.Батхишиг, Ө.Уранбилэг, Т.Балжинням, Э.Баасансүрэн, Ө.Хулан, Э.Билгүүн, Б.Туул, Ц.Билэгтсайхан, Л.Энхсайхан, RAW264.7 эсэд HCV вирусийн уургийн нөлөөг тодорхойлсон дүн, Эрүүл мэндийн шинжлэх ухаан сэтгүүл, Vol.15, №1 (49) 2019, 114x-117x
2. Ө.Уранбилэг, М.Батхишиг, Ө.Хулан, Э.Баасансүрэн, Т.Балжинням, С.Цогтсайхан, Ц.Билэгтсайхан, Л.Энхсайхан “IRF1 уургийн идэвхжилд HCV-ийн Core, NS5A, E1 уургийн нөлөөг тодорхойлсон дүн”, “Эрүүл мэндийн шинжлэх ухаан” сэтгүүл. Vol.15, №1 (49) 2019, 112x-113x
3. Batkhishig Munkhjargal, Bilguun Enkhtuvshin, Uranbileg Ulziisaikhan, Baljinnyam Tuvdenjamts, Khulan Unurbuyan, Dolgorsuren Sandagdorj, Baasansuren Enkhjargal, Tuul Baasandalai, Tsogtsaikhan Sandag, Bilegtsaikhan Tsolmon, Enkhsaikhan Lkhagvasuren. Hepatitis C virus E1 protein enhances macrophage iNOS expression in vitro. bioRxiv server for biology.
doi: <https://doi.org/10.1101/2021.02.15.431273>; February 16, 2021.

НЭГДҮГЭЭР БҮЛЭГ. ХЭВЛЭЛИЙН ТОЙМ

1.1. Гепатитын С вирус

HCV (Hepatitis C virus) нь эерэг туйлтай, дан утаслаг РНХ (рибонуклеин хүчил) агуулсан *Flaviviridae* бүлийн вирус юм. Уг вирусийн РНХ нь ойролцоогоор 3000 амин хүчил бүхий поли-протейн кодлох ба полипротейн нь эзэн эсийн болон вирусийн протеазуудын тусламжтай котрансляцийн үеийн болон трансляцийн дараах боловсруулалтанд орж вирусийн уургууд бий болдог. HCV нь бүтцийн E1, E2, Core болон бүтцийн бус p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B уургаас тогтоно¹⁶. 1-р зургаас харахад HCV-ын РНХ-ийн нээлттэй уншигдах хүрээний 5' болон 3' төгсгөлд UTR (Untranslated region) орших ба трансляцийн дараа вирусийн полипротейн эзэн эсийн 2 протеаза (сигнал пептидаза, сигнал пептид пептидаза)-аар боловсруулагдаж, Core, E1, E2 болон p7 уураг үүснэ. Харин вирусийн кодлодог хоёр протеаза болох NS2-NS3 (аутопротеаза) болон NS4-ийн хамт үүсэх NS3 серин протеаза комплекс нь NS2-NS5B бүсээс гүйцэд боловсорсон уургуудыг үүсгэнэ. Core, E1, E2 уургууд нь вирионы бүтцийн хэсгийг бүрдүүлдэг бол p7, NS2 нь вирус угсрагдах процесст чухал үүрэгтэй. Вирусийн РНХ-ийн репликацид NS4A, NS5B нэн чухал үүрэгтэй ба NS3, NS4B, NS5A-ын хувьд вирусийн хэсгийн үүсэлт болон РНХ-ийн репликацид давхар үүрэгтэй оролцдог.



Зураг 1. HCV-ийн геномын бүтэц, үүрэг

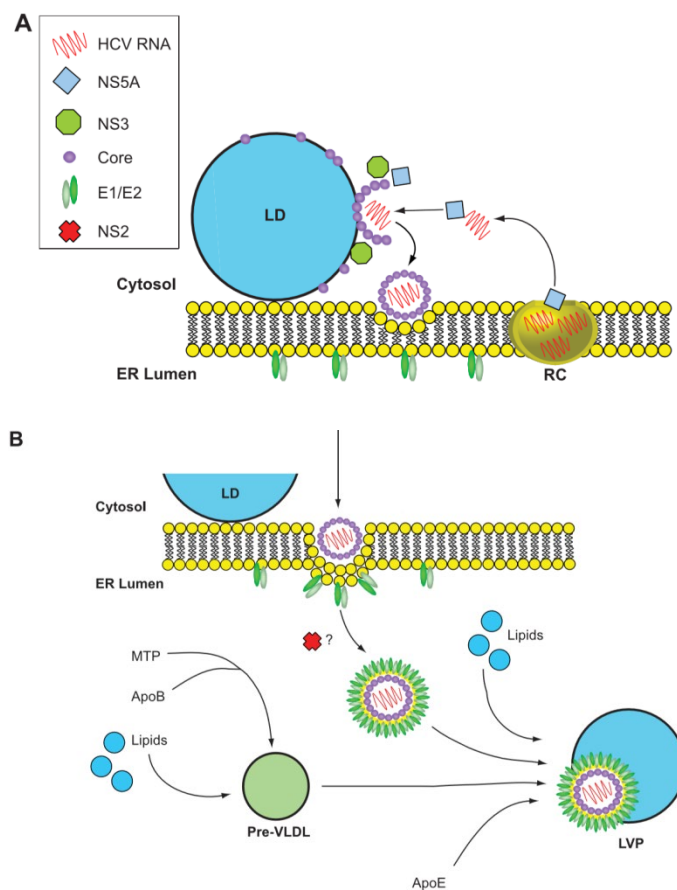
Daniel M.Jones and John McLauchla et al,

The journal of biological chemistry, May 2010, pp.22733-22739

HCV-ийн бүтцийн уургууд (цэнхэр), бүтцийн бус уургууд (ногоон), p7 пептид (шар), сигнал пептидаза-SP (хар сум), сигнал пептидпептидаза-SPP (саарал сум), аутопротеаза-NS2, NS3 (улбар шар сум), NS3 серин протеаза+NS4 комплекс (нил ягаан сум), p7+NS2 (улаан од), NS4A+NS5B (хар дугуй), NS3, NS4B, NS5A (хөх дөрвөн өнцөгт)

HCV-ийн репликаци эндоплазмын торын мембранд явагдах¹⁹ ба вирионууд эндоплазмын тор холбоот липидэн дуслын гадаргуу дээр угсрагдана²⁰. Зураг 2A-аас харахад вирион угсралтын эхний үе шатуудад Core уураг липидэн дусалтай

холбогддог. Вирусийн репликацын комплекс Core болон NS5A хамааралт замаар олширсон вирусийн РНХ-г липидэн дуслын гадаргуу руу дайчилж, ингэснээр Core уурагтай холбогдсон геномд бүрхүүл үүснэ. Энэ үе шатанд бүрдэх Core агуулсан халдваргүй вирионыг төлөөлөх партиклийн үүсэлтэнд NS3 уураг шаардлагатай. 2В зурагт вирионд липидэн бүрхүүл үүсч, E1 болон E2 гликопротеин вирионтой нэгдэх үе шатуудыг харуулсан. NS2 уураг гликопротеиний комплекс (E1, E2) болон боловсорч гүйцээгүй хэсэгтэй харилцан үйлчлэлцсэнээр вирионд эсэд халдварлах чадварыг олгодог гэж үздэг. LPV (lipovirparticle)-ийг үүсгэхийн тулд боловсорч гүйцээгүй вирусийн партиклууд apoB (apolipoprotein B)-ийн MTP (microsomal transfer protein)-ээр липиджих эхэн үеэс үүсдэг pre-VLDL (very low density lipoprotein), жижиг липидэн дуслууд болон apoE (apolipoprotein E) зэрэг бусад липопротеинтэй нэгддэг.



Зураг 2 HCV-ийн вирионы үүсэлт

Daniel M.Jones and John McLauchla et al,

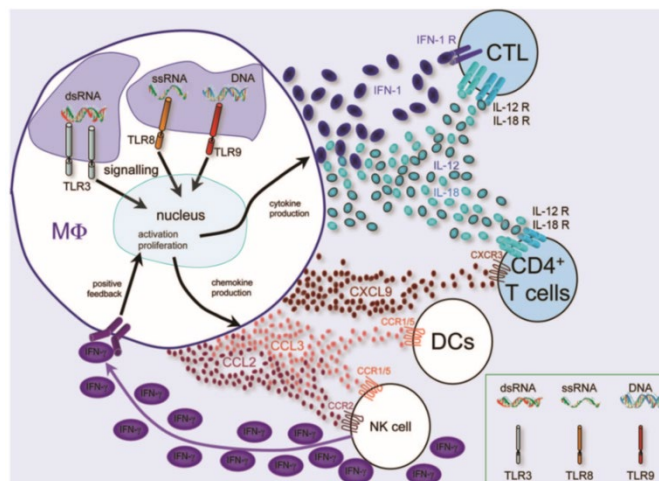
The journal of biological chemistry, May 2010, pp.22733-22739

Вирионы угсралт эндоплазмын торын цитозоль руу харсан мембран дээр эхэлж үүсээд (A), эндоплазмын сувагт цаашдын боловсролт нь явагдаж гүйцээд эсээс чөлөөлөгдөнө (B).

1.2 HCV-ийн халдварын үед макрофаг эсийн оролцоо

Макрофаг эс нь өвөрмөц дархлааны хариу урвалыг эхлүүлэх, дэмжих үүрэгтэй өвөрмөц бус дархлааны бүтэгдэхүүн эс юм. Захын цусны моноцит эсүүд эд рүү нүүдэллэж, макрофаг эс болон ялгаран хөгждөг. Ялгаран хөгжсөн эсийн генийн экспресс эсийн гаднах матрикс, хемокиний орчин болон Т эсийн нөлөөгөөр өөрчлөгддөг²¹.

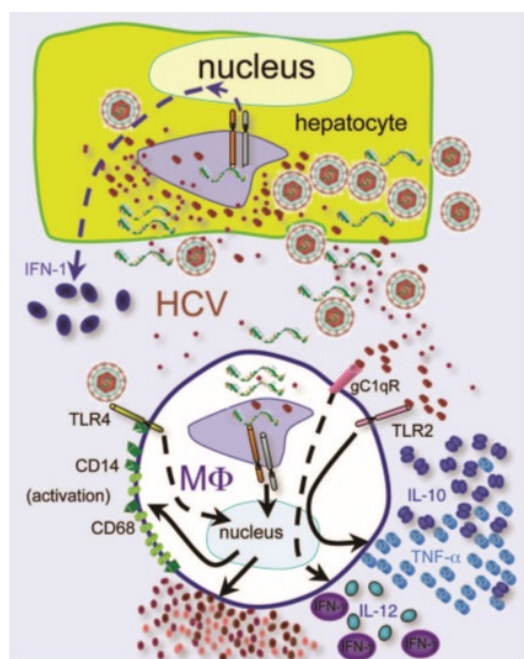
Купфферын эс нь элгэнд орших эс ба элэгний нийт эсийн 15-20%-ийг эзэлнэ²². Макрофаг эсүүд эдийн бичил орчин болон гадны өдөөгчдөөс шалтгаалан өөр өөр үйл ажиллагааны чадамж бүхий фенотипийг үзүүлдэг. Плазмын мембраны рецепторуудаар дамжуулан макрофаг эс хүрээлэн буй орчноо хянадаг, фагоцитозыг эхлүүлдэг²³. Толл төст рецептор зэрэг PRR (Pattern recognition receptors) нь PAMPS (Pathogen associated molecular patterns)-ийг таньж фагоцитоз болон дохио дамжилтыг эхлүүлнэ. Өвөрмөц бус дархлааны идэвхжил нь антиген өвөрмөц бус, Т эс үл хамааралт байдаг бөгөөд макрофаг эс хүчилтөрөгчийн урвалж уламжлал, азотын дан исэл, IFN- α , β болон бусад цитокин, хемокинуудыг ялгаруулдаг²⁴.



Зураг 3 Вирусийн халдвар ба макрофаг эс
Mathis Heydtmann, Macrophages in Hepatitis B and Hepatitis C Virus Infections, Journal of virology, Apr. 2009, p. 2796–2802

Тайлбар: Фагоцитозоор залгигдсан вирусийн ДНХ болон РНХ-ийг эндосомын толл төст рецептор (LR3, TLR8, TLR9) таньж, макрофаг эсийн транскрипцэд өөрчлөлт оруулан, идэвхжил болон хуваагдлийг нь нэмэгдүүлнэ. Үүний үр дүнд цитокинууд (IFN-I, IL-12, IL18) болон хемокинууд (CCL2, CCL3, CXCL9) ялгарч, цаашид өвөрмөц (NK, Сэртэнт эс, Т эс) болон өвөрмөц бус дархлааны эсийг дайчлана. NK эсээс нийлэгжих IFN γ (нил ягаан)-ийн эерэг цохицуулга нь макрофаг эсийг идэвхжүүлнэ. Макрофагаас ялгарах IFN-I, IL-12 болон IL-18 нь CD4⁺, CD8⁺ Т эсүүдийн хариу урвалыг идэвхжүүлнэ. Сэртэнт эс идэвхжсэн Т эсэд антигенийг илчилж, халдварлагдсан эсийг устгана.

Макрофаг эсийн өвөрмөц идэвхжил нь Т эстэй шууд харилцан үйлчлэн зохицуулагдана. Макрофаг эсийн сонгомол замын идэвхжил нь IFN γ -аар нөхцөлдөх ба макрофаг эсийн эс хордуулах нөлөөг нэмэгдүүлнэ. Харин макрофаг эсийн альтернатив идэвхжил Th 2-р төрлийн цитокиныг ялгаруулах ба (IL-4, IL-13) макрофаг эсийг паразит болон эсийн гаднах эмгэг төрүүлэгчдийн эсрэг дайтахад бэлддэг²⁵. Гепатоцит эсээс гадна бусад эсэд HCV халдварлагдаж, репликацыг дэмждэг олон талт судалгаанууд байна²⁶⁻³¹.



Mathis Heydtmann, Macrophages in Hepatitis B and Hepatitis C Virus Infections, Journal of virology, Apr. 2009, p. 2796–2802

Зураг 4. HCV-ийн халдвар ба макрофаг эс

сэртэнт эсийн апоптозийг өдөөж, Т эсийн хуваагдлыг бууруулж фиброгенезийг нэмэгдүүлдэг байна.



Элэгний макрофаг эсүүд IFN γ -ийн хариуд антиген илчлэгч шинжээ нэмэгдүүлж, MHC-II-ын илрэл хэдэн зуу дахин ихэсдэг. HCV вирусийн халдварын үед мөн адил купфферийн эс MHC-II-ыг их хэмжээгээр экспресслэдэг. Макрофаг эс MHC-II молекултай хамт макрофаг эс CD4⁺ Т эсэд антигенийг илчилдэг. Гэвч макрофаг эсүүд вирусийн эпитопыг CD8⁺ Т эсүүдэд илчлэх чадвартай байдаг. Эс холбоот вирусийн антиген болон хос утаслаг PHX-ийг макрофаг эсүүд залгин, фагосомд задалж, MHC-I молекултай хамт илчилнэ². Ингэснээр өвөрмөц дархлааг өдөөх эсвэл HCV өвөрмөц Т эсийг идэвхжүүлнэ²⁶.

1.3.Интерферон

Интерферон нь дархлаа тогтолцооны хамгаалах урвалыг өдөөдөг янз бүрийн эмгэг төрүүлэгч вирус, бактери, мөөгөнцөр ба шимэгчийн эсрэг эзэн эсээс ялгардаг бүлэг цитокин юм. Эзэн эсэд халдварлаж буй вирусээс хамгаалахын тулд IFN нь олон тооны ISG (interferon stimulating gene) генийн транскрипцийг идэвхжүүлснээр вирусийн эсрэг өргөн хүрээний хариу үйлдлийг өрнүүлдэг.³²

1989 онд IFN-α цитокиныг HCV-ийн эмчилгээнд албан ёсоор хэрэглэснээс хойш 28 жил өнгөрсөн ба био-анагаахын суурь судалгаа нь IFN-ны нийлэгжил, зохицуулга, вирусийн эсрэг идэвхийн молекул механизмын талаарх ойлголтыг сайжруулжээ.

Бүтэц, рецепторын хэрэглээ болон биологийн идэвх дээр нь үндэслэн IFN-ийг гурав ангилна:

-I хэлбэрийн IFN (IFN³³-α, IFN-β, IFN-ω)

-II хэлбэрийн IFN (IFN-γ)

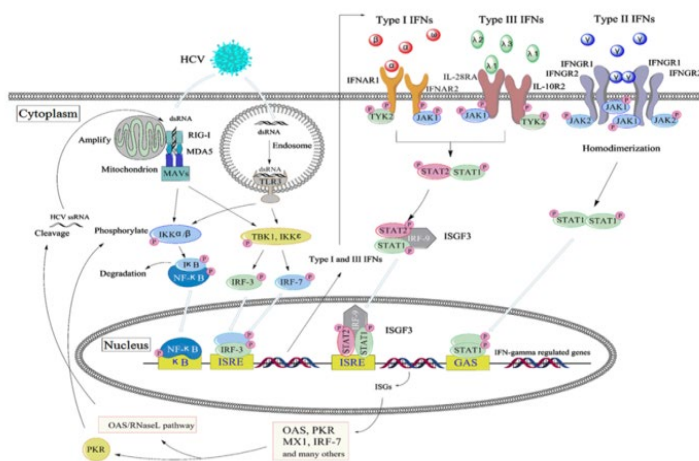
-III хэлбэрийн IFN (IFN-λ1, IFN-λ2, IFN-λ3)

IFN-α цитокин вирусийн халдварын эсрэг, эсийн үржлийг бууруулах, иммуномодуляторын үйлдэлтэй. I хэлбэрийн IFN нь өсөлтийг дэмжигч цитокиныг дарангуйлах, апоптозыг өдөөх, эсийн үржлийг дарангуйлдаг. IFN-α моноцит, макрофаг, лимфобластид эс, фибробласт эсээс шүүрнэ. Маш олон төрлийн эсээс вирус, нуклеин хүчил, глюкокортикостероид даавар, жижиг молекулын нөлөөгөөр IFNα ялгардаг. IFN-α цитокин IFNAR1/IFNAR2 рецептороор дамжуулан, JAK/STAT, p38, PCK болон IRS/PI3K замыг идэвхжүүлдэг ажээ. Интерферон альфа нь Т эсийн IL-2 цитокинд мэдрэг байдлыг нэмэгдүүлэх, Т эсийн эс хордуулах урвалыг ихэсгэх, NK эсийн эс хордуулах урвалыг нэмэгдүүлдэг байна.

Вирусээр халдварлагдсан ихэнх төрлийн эс, өвөрмөц бус дархлааны гол хамгаалагч эс (сэртэнт эс, макрофаг)-ээс I хэлбэрийн IFN (IFN-α, IFN-β, IFN-ω) ялгардаг.

1.3.1 IFNγ ба түүний гепатитын С вирусийн эсрэг идэвх

IFN-γ нь Т, В эс, NK, NKT эсээс ялгардаг. IFN-γ нь эс хордуулагч (CD8+) Т эс, Th1 эсээс голлон ялгарч, Th2 урвалыг дарангуйлдаг онцлогтой. IFN-γ цитокин нь вирус, шимэгчийн эсрэг үйлдэлтэй бөгөөд TNFα цитокинтэй синергист байдлаар үйлчилж, хэвийн ба хавдрын эсийг устгах нөлөө үзүүлнэ. IFN-γ нь иммуномодулятор үйлчилгээтэй. Моноцит эсийг идэвхжүүлж, макрофагийн хавдрын эсийг устгах үйлийг эрчимжүүлнэ.



Зураг 5. HCV-ийн халдварын үед интерфероны ялгарал, үйлдэл

Menghao Huang, Recent advances in the anti-HCV mechanisms of interferon, 2014

Тайлбар: HCV-ийн PHX нь эндосомын TLR3 рецептор, цитоплазмын RIG-I рецептортой холбогдон интерфероны генийн транскрипцийг эхлүүлдэг. I, III төрлийн интерферон нь тус тусын рецепторт холбогддог ч JAK-STAT-ын ижил замыг идэвхжүүлж, интерферон өдөөгч маш олон генийн экспрессийг өдөөнө.

Мөн В эсийн үржлийг ихэсгэн, иммуноглобулины хөнгөн гинжний нийлэгжлийг дэмждэг. IFN-ү цитокин нь нейтрофил, NK эс, судасны эндотел эсийг идэвхжүүлнэ. IFN-ү цитокины агууламж халдвар, аутоиммун өвчин, эрхтэн шилжүүлэн суулгалт, харшил, чихрийн шижин өвчний үед өөрчлөгддөг. IFN-ү нь эсийн доторх халдвараас хамгаалахад чухал үүрэгтэй эсийн дархлааны хариу урвалыг өдөөнө. HCV-ийн PHX нь эндосомын TLR3 рецептор, цитоплазмын RIG-I рецептортой холбогдон интерфероны генийн транскрипцийг эхлүүлдэг. I, III төрлийн интерферон нь тус тусын рецепторт холбогддог ч JAK-STAT-ын ижил замыг идэвхжүүлж, интерферон өдөөгч маш олон генийн экспрессийг өдөөнө (Зураг 5). IFN-ү рецептор IFNGR1 болон IFNGR2 гэсэн 2 дэд нэгжээс тогтдог. Энэхүү 2 дэд нэгжийн аль аль нь JAK-ийн бүлийн гишүүдтэй (IFNGR1-JAK-1 болон IFNGR2-JAK-2) харилцан үйлчлэлцдэг. IFN-ү өөрийн рецептортой холбогдсоны дараа JAK-1, JAK-2 идэвхжин, зөвхөн STAT1-ыг фосфоржуулна. Фосфоржсон STAT-1 нь өөрөө гомодимер бүтэцтэй болж, эсийн бөөм рүү шилжсэнээр ISG-ийн промотор хэсэгт GAS элементтэй холбогддог³⁴. IFN-ү нь IFN-I болон IFN-III-тай бүтцийн хувьд хамааралгүй боловч эдгээр гурван IFN-р зохицуулагддаг хэдэн зуун ижил ген бий^{35,36}. Интерферон HCV ба бусад вирусийн эсрэг үйлдэл, HCV-ийн IFN-д нөлөөлөх идэвх болон зохицуулгад хэрхэн нөлөөлдөг цаад механизм бүрэн гүйцэд тайлагдаагүй.

1.4 IRF1 транскрипцийн фактор

IRF (Interferon regulatory factor) нь интерфероны дохио дамжилтанд чухал үүрэгтэй уургийн бүл юм. IRF-ийг 1988 онд нээсэн IFN нь PRR-аар өдөөгдөж байдаг чухал хүчин зүйл юм. IRF нь төрөлхийн дархлааны хариу урвалд оролцдог генийг идэвхжүүлэн транскрипцийг зохицуулагч, хавдар дарангуйлагч болдог.³⁷ Өөрөөр хэлбэл вирус, бактерийн эсрэг бие махбодын хариу урвалд оролцон генийн транскрипцийг идэвхжүүлж, эсийн тархалт, апоптоз, дархлааны хариу урвал, ДНХ-ийн гэмтэлд хариу үйлдэл үзүүлэхэд үүрэг гүйцэтгэдэг. Хавдрын эсийн эсрэг дархлааны хариу урвалыг өдөөж өсөлтийг нь дарангуйлдаг. IRF1 нь өвөрмөц гормон, цитокин, давхар утаслаг РНХ, интерфероноор идэвхжин ДНХ-ийн өвөрмөц ISRE (Interferon-sensitive response element) сайтад холбогдох болон бусад транскрипцийн уургуудтай харилцан үйлчлэлцэх замаар IFN-ийг зохицуулан дархлааны урвал, апоптоз, ДНХ-ийн гэмтэл, хавдар зэрэгт идэвхжүүлэх ба дарангуйлах байдлаар оролцдог.⁵

IRF ийн нийт 9 бүлэг уураг тодорхойлогдоод байна. Интерферон-зохицуулагч фактор (IRF) нь биологийн үүрэг болон эсийн дохио дамжилтад, генийн транскрипцид нөлөөлөх зэргээр нь ангилан авч үздэг бөгөөд эдгээр бүлэг уургууд нь бүтэц болон амин хүчлийн дарааллаараа ялгаатай байдаг.³⁷

- IRF1 транскрипцийн фактор нь хүний 5-р хромосомын q мөрний 31,1 локуст бүртгэгддэг. IRF1 хавдар дарангуйлах, дархлааны хариу урвалыг зохицуулах, бактери, вирусийн эсрэг үйлдэлтэй болох нь тогтоогдоод байна. С төгсгөлийн хэсэг дэх аминхүчлийн дарааллаар генийн транскрипцийг өдөөх чадвартай.³⁸
- IRF2 транскрипцийн фактор нь хүний 4-р хромосомын q мөрний 35.1 локуст бүртгэгддэг. IRF1-ийн эсрэг үйлдэлтэй бөгөөд интерферон алфа, бета идэвхжилийг өдөөж өгдөг байна. Мөн генийг гистон уургаас чөлөөлж өгдөг байна.
- IRF3 транскрипцийн фактор хүний 19-р хромосомын q мөрний 13.3 локуст бүртгэгддэг. Интерферон идэвхжилийн фосфоржилтыг өдөөх, интерфрон альфа, бета, гамма генийн транскрипцийг нэмэгдүүлдэг байна.³⁹
- IRF4 транскрипцийн фактор хүний 6-р хромосомын p мөрний 25.3 локуст бүртгэгддэг. ДНХ-д холбогдон идэвхжүүлэгч бөгөөд лимфоцит эсийн дасан зохицох урвалыг нөхцөлдүүлдэг. Интерферон индукци, болон вирусийн эсрэг үйлдэл үзүүлдэг байна.⁴⁰
- IRF5 транскрипцийн фактор хүний 7-р хромосомын q мөрний 32.1 локуст бүртгэгддэг. Вирусийн эсрэг интерфероныг идэвхжүүлж, эсийн өсөлтийг

дэмжих, зарим төрлийн гэмтсэн эсийн апоптозыг өдөөх зэрэг үйлдэлтэй байна. Энэ уургийн N төгсгөлийн хэсэг нь триптофанаар баялаг бөгөөд ДНХ-тэй холбогдон генийн транскрипцийг эхлүүлдэг байна.⁴¹

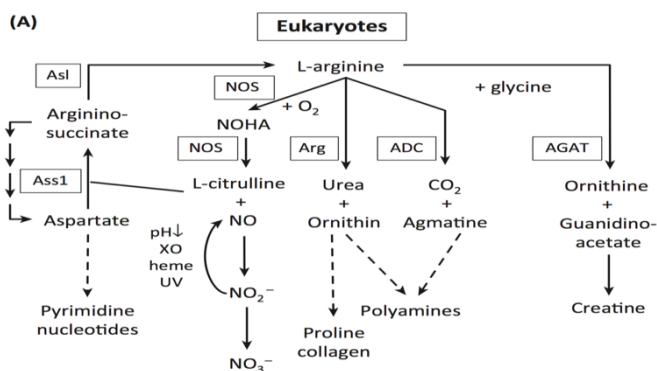
- IRF6 транскрипцийн фактор хүний 1-р хромосомын q мөрний 32.2 локуст бүртгэгддэг. Уг уураг нь мушгирсан бүтэцтэй бөгөөд ДНХ-тэй C төгсгөлийн хэсгээр холбогдон генийн транскрипцийг өдөөж өгдөг.
- IRF7 транскрипцийн фактор хүний 11-р хромосомын p мөрний 15.5 локуст бүртгэгддэг. Вирусээр өдөөгдсөн генийн транскрипцид нөлөөлж интерферон бетагийн генийн транскрипцийг өдөөдөг байна. Мөн эдийн төрлөөс хамаарч IRF7 тархалт өөр өөр байдаг бөгөөд дархлааны эдэд харьцангуй бага тодорхойлогддог байна.⁴²
- IRF8 транскрипцийн фактор хүний 16-р хромосомын q мөрний 24.1 локуст бүртгэгддэг.
- IRF9 транскрипцийн фактор хүний 14-р хромосомын q мөрний 12 локуст бүртгэгддэг. Одоогоор үүрэг болон эсийн дохио дамжилтанд хэрхэн нөлөөлдөг нь тодорхой болоогүй бөгөөд STAT1, STAT2 түвшинд хянах үүрэгтэй гэх таамаг дэвшүүлээд байна.

IRF-ийн бүлийн хүчин зүйлс (1, 2, 9) IFN-γ-ийн дохио дамжихад оролцоно. Хэвийн үед IRF1-ийн ялгарал тогтвортой нэг хэмжээнд байдаг. Харин фосфоржсон STAT1 болон бөөмийн хүчин зүйл B (NF-κB) IRF1 генийн промотортой харилцан үйлчилж транскрипцийг нь эрс нэмэгдүүлнэ. Иймээс IFN-γ-ийн дохио дамжих явцад үүссэн фосфоржсон STAT1 нь IRF1-ийн ялгаралтыг нэмэгдүүлнэ. Ялгарсан IRF1 нь IFN-γ-аар зохицуулагддаг генүүдийн транскрипцийг зохицуулдаг ба үүний нэг нь iNOS-ийн ген юм.⁴³

1.5. iNOS (NOS2) ба дархлаа тогтолцоо

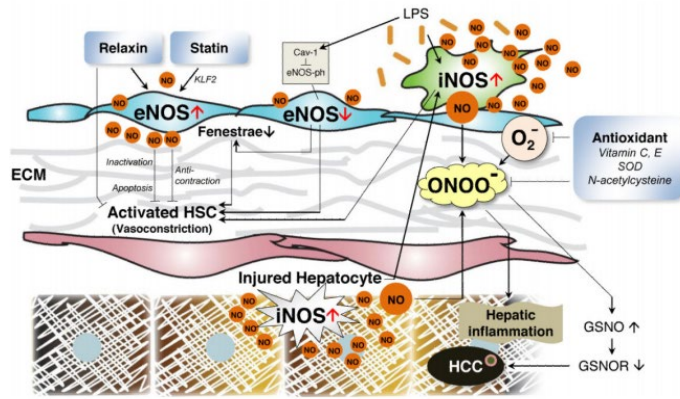
Азотын оксид (NO)-ийн эх үүсвэр: Амьтдын NO синтаза NOS-ийн бусад изоформын нэгэн адил NOS2 нь L-аргинин, хүчилтөрөгчийг L-цитруллин болох исэлдэн ангижрах урвалд NO үүсгэдэг гомодимер бүтэцтэй эсгэг юм (Зураг 6). NOS2-ын онцлог шинж чанар нь тайван байдалд байгаа эсэд илрэл нь маш сул байдаг. Харин NOS2 нь Ca²⁺ үл хамааралт замаар дархлааны урвалаар өдөөгддөг ба энэ нь NOS2-г iNOS хэмээх анхны тодорхойлолттой нь нийцдэг⁴⁴. Эсийн доторх цитозоль, жижиг цэврүү, анхдагч, гуравдагч мөхлөг, фагосомын ойролцоо, мембраны доорх актинтай холбоотой байдлаар болон митохонд дотор энзимийн идэвх бүхий NOS2 тодорхойлогдож болох ба макрофаг ба нейтрофил эсэд голчлон судлагдсан байдаг⁴⁵.

NOS2-оос гадна 2 өөр төрлийн NOS-ийн изоформ байдаг бөгөөд эдийн тархалтын давамгайл байдлаар нь нейроны NOS (nNOS, NOS1) ба эндотелийн NOS (eNOS, NOS3) хэмээн нэрлэжээ. Энэхүү хоёр хэлбэрийг мөн cNOS гэж нэрлэдэг бөгөөд учир нь NOS2-с ялгаатай нь тэдний идэвх нь калмодулин уурагтай холбогдох боломжийг олгодог Ca^{+2} -н урсгалаас хамааралтай, тогтмол илрэлтэй юм^{46,47}. Гэхдээ NOS1 болон NOS3 нь эд, эсэд өргөн тархсан ба цитокин, эмгэгтөрөгчийн хор, ялгарлын бүтээгдэхүүн, даавар болон бичил хүчин зүйлийн нөлөөгөөр зохицуулагддаг гэж тогтоогдсон байна⁴⁵. NOS1 ба NOS3 *in vivo* судалгаанд дархлааны хариу урвал, үрэвслийн процессыг зохицуулдаг бол харин *in vitro* судалгаагаар дархлааны эсийн үйл ажиллагаа, ялгаран хөгжилд нөлөөлдөг болох нь ажиглагджээ^{48,49}.



Зураг 6. Аргинины бодисын солилцоо ба азотын оксид үүсэх явц
 Christian Bogdan, Nitric oxide syntase in innate and adaptive immunity: an update
 Trends in immunology, 2015

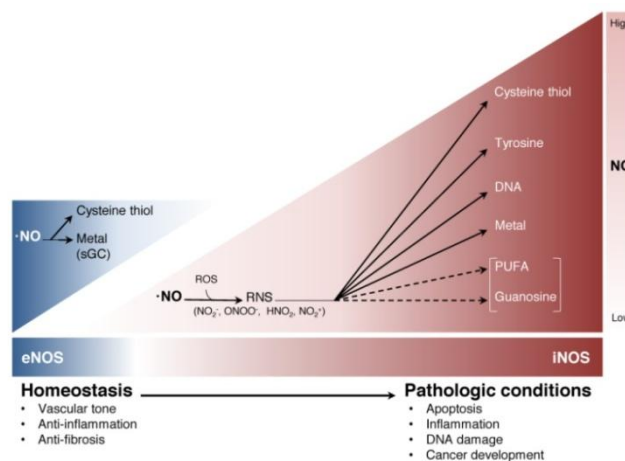
Тайлбар: Сүүн тэжээлтэн амьтдын эсэд аргинины бодисын солилцоо нь NOS, Arg (Arginases), ADC (L-Arginine decarboxylase) ба AGAT (L-arginine; glycine amidinotransferase) гэсэн 4 төрлийн замаар өрнөнө. Азотын оксид нь NOS үл хамааралтайгаар энзимийн (XO-Xanthine oxidase) ба энзимийн бус (хүчиллэг pH, хэт ягаан туяаны нөлөө эсвэл гем зэрэг Fe^{3+} порфиринуудтай урвалд орох) замаар нитритийн ангижрах урвалаар үүснэ. Макрофаг эсэд NOS-ын нөлөөгөөр L-аргининаас нь L-цитруллин хувирах урвалын дүнд азотын оксид үүснэ.



Зураг 7. Элэгний эмгэгийн үед iNOS уургийн оролцоо
 Yasuko Iwakiri and Moon Young Kim, Nitric oxide in liver disease
Trends Pharmacology Sci, 2015 August 36(8) 524-536

Тайлбар: Хэвийн үед элэгний синусоидын эндотель эсээс eNOS тогтмол бага хэмжээгээр ялгарч, судасны тонус, цусны урсгалыг хянадаг. Харин элэгний үрэвсэл, гэмтлийн үед eNOS идэвх буурч, iNOS үүсэлт нэмэгдэнэ.

Эрүүл хүний биемахбодид элэгний синусоидын эндотель эсээс eNOS тогтмол бага хэмжээгээр ялгарч, судасны тонус, цусны урсгалыг хянадаг. Харин элэгний үрэвсэл, гэмтлийн үед eNOS идэвх буурч, iNOS үүсэлт нэмэгдэнэ. Үрэвслийн урьдал цитокин, бактерийн эндотоксин, липосахаридын нөлөөгөөр iNOS-ийн идэвх, үүсэлт нэмэгдсэнээр их хэмжээний азотын оксид үүсч, элэгний синусоидоор тархах цусан хангамж хямардаг (Зураг 7). Энэ нь элэгний эсийн апоптоз, үрэвсэл, ДНХ-ийн гэмтэл болон хавдрын эсийн үүсэлтийг нөхцөлдүүлнэ (Зураг 8).

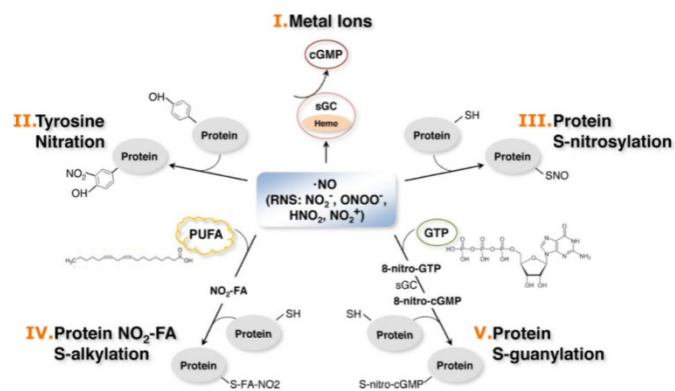


Зураг 8. Эрүүл ба эмгэг үед азотын оксидын солилцоо
 Yasuko Iwakiri and Moon Young Kim, Nitric oxide in liver disease
Trends Pharmacology Sci, 2015 August 36(8) 524-536

Тайлбар: Элэгний эмгэгийн үед азотын солилцоо хямарч, eNOS агууламж багасч, iNOS нийлэгжил ихэсдэг.

Металл, ураг, өөх тос, гуанины нуклеотидтэй холбогдох замаар азотын

дан исэл нь эсийн үйл ажиллагааг зохицуулахад өргөн хүрээтэй оролцоно. (1)**Металлын ион**: Азотын дан ислийн гол бай нь гемийн цагаригийн төмөр бөгөөд уусамтгай гуанинил циклаза (sGC-soluble guanylyl cyclase)-тай холбогдон хоёрдогч мессенжер cGMP (cyclic guanosine monophosphate)-ийг үүсгэнэ. (2) **Тирозины нитрат үүсэх**: Азотын дан исэл уургийн тирозины үлдэгдэлтэй холбогдсоноор тогтвортой, үл эргэх хэлбэрийг үүсгэнэ. (3) **S-нитросилат үүсэх-S-nitrosylation**-Уураг/пептидын цистеин-тиол анионтой исэлдсэн азотын оксид холбогдож, үл эргэх урвалыг үүсгэнэ. (4) **Ханаагүй өөхний хүчлийн нитрат үүсэх-S-alkylation**- Азотын оксид ба түүний уламжлал нь ханаагүй өөхний хүчилтэй холбогдож, электрофил нэгдлийг үүсгэнэ. Энэ нь цаашлаад уургийн солилцоонд оролцоно (Зураг 9).



Зураг 9. Азотын оксидын үйлдэл

Yasuko Iwakiri and Moon Young Kim, Nitric oxide in liver disease
Trends Pharmacology Sci, 2015 August 36(8) 524-536

Тайлбар: Металл, уураг, өөх тос, гуанины нуклеотидтэй холбогдох замаар азотын оксид нь эсийн үйл ажиллагааг зохицуулахад өргөн хүрээтэй оролцоно.

NOS2-ын илрэлийн зохицуулга:

I, II хэлбэрийн IFN (IFN- α , IFN- β , IFN γ) ба эмгэгтөрөгчийн хор, ялгарлын бүтээгдэхүүн хулганы макрофаг эсэд их хэмжээний NO ялгаралтыг үр дүнтэй өдөөж, NOS2-ын транскрипцийг нэмэгдүүлнэ. IFN, липополисахарид нь NOS2-ын промоторын холбох хэсэгтэй харилцан үйлчлэлцдэг NF- κ B-ийн идэвхжил эсвэл интерфероноор өдөөгдөх гамма фактор (ISGF) 3 бүрдлийн (STAT1, STAT2, IRF9-өөс тогтох), STAT1, интерферон-зохицуулагч фактор (IRF)-1-ийн димержих үзэгдлийг тус тус үүсгэдэг.

1. Бактерийн бүрдлүүд нь мембран холбоот эсвэл цитозолийн PRR-тай харилцан үйлчлэлцэн, NF- κ B-ын идэвхжил болон эндогенийн IFN- α , IFN- β -ийн үүсэлтийг

өдөөнө. NF-κB NOS2-ын промотортой холбогдсоноор транскрипцийн фактор II H болон түүний холбоот циклин-хамааралт киназ (CDK) 7-ийн дэд нэгжийг дайчилдаг.

2. IFN-α, IFN-β-ийн хариу сигнал нь ISGF3 комплексийн бүрдэлт ба промотор холболтыг үүсгэснээр PHX полимераз II-ын TFIIH-CDK7-оор фосфоржих, хам дайчлалт ба промотор холбогдох боломжийг нээдэг⁵⁰⁻⁵². Энэ үе шат нь NOS2 промоторт бромодомайн болон BET уургийн гишүүдийн холболтыг шаардсанаар NF-κB ба ISGF3 NOS2 промоторт дараалан ба хоршин үйлчилнэ⁵³.

NOS2-ын судалгааг голчлон хулганад хийсэн ба бусад зүйлийн амьтдын NOS2-ын илрэлийн молекул анализ нь зүйл хоорондын биологийн болон цар хүрээний ялгааг шийдвэрлэхэд чухал ач холбогдолтой. Хүний эсийн (гепатоцит, макрофаг, сэртэнт эс ба эдийн макрофаг) *in vivo* болон *in vitro* орчинд NOS2 уургийг илрүүлэх, идэвхийг үзүүлэх туршилт үнэний магадтай батлагджээ⁵⁴.

1.6 iNOS саатуулагчид

iNOS-ийн идэвхийг дарангуйлах нь олон төрлийн өвчин эмгэгийн үед эдийн гэмтлийг бууруулах, үрэвслийг дарангуйлах нэг шинэ арга зам болж гарч ирж байна. iNOS нь олон эмгэгийн үед өвчний эмгэг жамын томоохон хүчин зүйл болж байдаг. iNOS-ийн дарангуйлагчдыг амин хүчилд суурилсан болон амин хүчилд суурилагагүй дарангуйлагч гэсэн үндсэн хоёр бүлэгт хуваадаг.

Байгалийн болон нийлэг гаралтай янз бүрийн iNOS дарангуйлагчдыг мөн дараах байдлаар хувааж болно.

- (i) iNOS мPHX илрэлийг дарангуйлагч
- (ii) iNOS димеризацийг дарангуйлагч
- (iii) Аргинин холбогч хэсэгт өрсөлдөн холбогдогчид

Пептидын бус бүтэцтэй жижиг гетероцикл молекул 1400W нь харьцангуй шинээр гарч ирсэн эрчимтэй судлагдаж буй iNOS дарангуйлагч юм. Энэ нь L-аргинаанаас бүтцийн хувьд ялгаатай тул физиологийн бусад үйл ажиллагаанд саад учруулахаас зайлсхийх боломжийг олгодог. Уг молекулыг ашиглан клиникийн өмнөх болон эмнэл зүйн туршилт судалгаа тодорхой хэмжээнд хийгдэж байна⁸⁸.

ХОЁРДУГААР БҮЛЭГ. СУДАЛГААНЫ ХЭРЭГЛЭГДЭХҮҮН БА АРГА ЗҮЙ

2.1 Судалгааны ажлын загвар

Энэ судалгааг туршилт судалгааны загвараар хийж гүйцэтгэсэн болно.

2.2 Судалгааны хүрээ

Судалгааг АШУҮИС-ийн Цөм лабораторийг түшиглэн хийж гүйцэтгэв.

2.3 Судалгааны ажлын хэрэглэгдэхүүн

Ашигласан тоног төхөөрөмжийн жагсаалт:

1. CO₂ Incubator Series (Sheldon Manufacturing, Inc)
2. Hanil Smart R15 центрифуг (Hanil Biomed)
3. Operon ULT-Freezer-DFUCE загварын гүн хөлдөөгч
4. VS301 Vision загварын усан банн
5. Mini-Protein Tetra Cell (Bio-Rad) загварын уургийн электрофорезын систем
6. LSI-1001 загварын соронзон холигч
7. Gel Doc XR+ Molecular Image (Bio Rad)
8. ChemiDoc MP Imaging system (Bio Rad)
9. Микроскоп (Amscope)
10. Digital Heat block (Benchmark)
11. MR-96A microplate reader (Mindray)
12. NanoDrop One (Thermo Fisher Scientific)
13. DryBox
14. Shaker
15. Био аюулгүйн кабинет

Ашигласан урвалж бодисын жагсаалт:

1. Кальцийн хлорид (CaCl₂)
2. Магнийн хлорид (MgCl₂)
3. Глицерол
4. LB (Luria Bertani) агар тэжээлт орчин
5. Ампициллин
6. pHCV-Core, NS5A, E1(Sino biological) плазмид
7. Plasmid DNA extraction Midi kit (GeneAll)
8. Агар
9. TAE буфер
10. Ethidium Bromide
11. Size marker

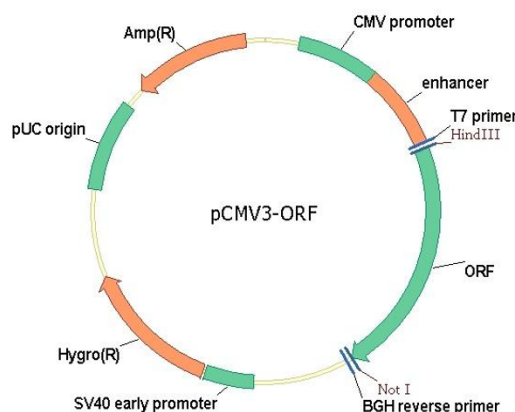
12. RPMI (Rosswel Park Memorial Institute) эсийн өсгөврийн тэжээлт орчин
13. FCS (Fetal Calf Serum)
14. Пенициллин-Стрептомицины холимог (Sigma Aldrich)
15. Трипан хөх (Sigma Aldrich)
16. Липофектамин 3000 (Sigma Aldrich)
17. Murine Recombinant IFN γ (Peprotech)
18. Уураг ялгах
19. SDS гель
20. Блоклогч буфер
21. Угаагч буфер
22. Шилжүүлэгч буфер
23. Anti-HCV-Core, Anti-HCV-NS5A, Anti-HCV-E1 primary antibody (Abcam)
24. Anti-p38 анхдагч эсрэг бие
25. Anti-mouse хоёрдогч эсрэгбие (Cell signaling technology)
26. ECL- Enhanced Chemi (Thermo Fisher Scientific)
27. Фосфатын бүфер (Phosphate buffer saline)

2.4 Судалгааны ажлын арга зүй

2.4.1 Компетент эс

Escherichia coli-ийн XL-1 blue омгийн компетент эсийг сэргээн Luria-Bertani (LB) хатуу тэжээлт орчинд ургуулан түүнээс нэг эсийн клон сонгон авч антибиотикгүй боловч бусад бичил биетэн ургахаас сэргийлсэн бодисын солилцоог дарангуйлах тусгай найрлага бүхий төгс оптимум орчин (SOC- Super Optimal broth with Catabolite repression)-д өсгөвөрлөж *E.coli*-ийн XL-1 Blue омгийг хурдтай ургах нөхцлийг бүрдүүлсэн. Эсийг ургуулан эсийн концентрацийг 1.6×10^8 эс/мл хүрэх үеэс хойш 15 минут тутамд шалган эсийн концентраци 3.2×10^8 эс/мл болж экспоненциал фаздаа хүрэх үед нь огцом 4°C хүртэл хөргөн ургалтыг зогсоож хурилдуурдан тунгаав. Эсийн тунадасыг урьдчилан 4°C хүртэл хөргөж бэлдсэн MgCl_2 , CaCl_2 -ын уусмалаар угааж 2мл 85 ммоль CaCl_2 , 15% глицеролын орчинд 100 мкл-ээр 1.5мл-ийн түбэнд савлан -80°C -д хадгалсан.

2.4.2 Трансформаци



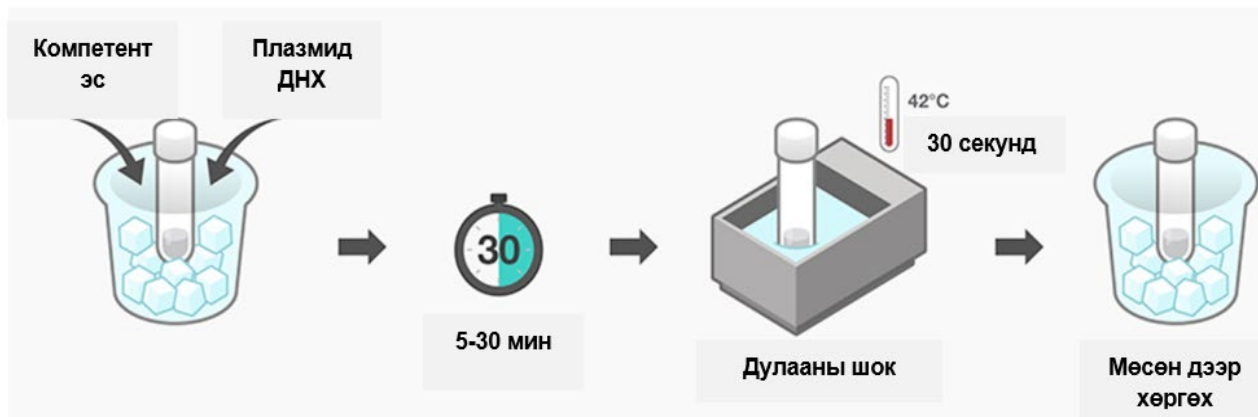
Зураг 10. HCV-ийн уургийн ген агуулсан плазмид ДНХ-ийн бүтэц

Тайлбар: Векторын нэр-pCMV3, векторын хэмжээ-6223х.н, векторын төрөл-mammalian expression vector, промотор-CMV, антибиотик тэсвэржилт-ампициллин, сүүн тэжээлтэн амьтдын эсэд антибиотик сонгон шилэлт- *гигромицин*.

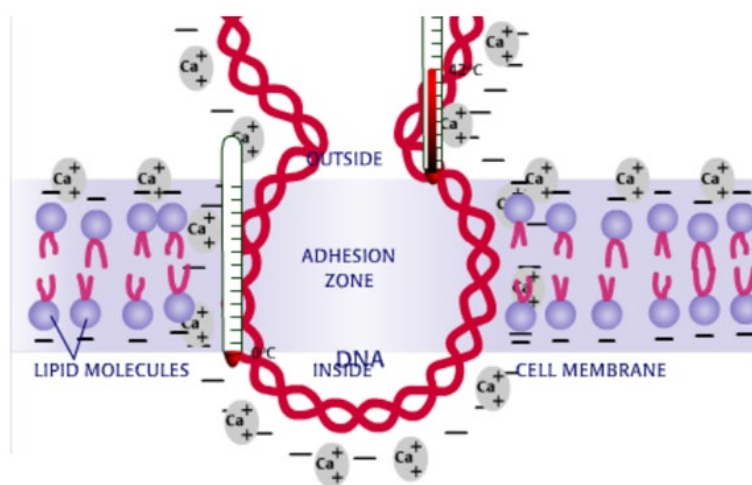
Дээрхи бүтэц бүхий HCV-ийн Core, NS5A эсвэл E1 уургийн ген агуулсан плазмид ДНХ-г олшруулах зорилготой бактерийн эсэд трансформаци хийв.

Трансформаци нь бактерийн эсэд эсийн гадна орчинд байгаа чөлөөт ДНХ-ийн молекулыг өөрийн цитоплазмд оруулснаар генетикийн шинэ мэдээлэл агуулсан эсийн омог үүсэх процесс юм. Бактерийн эсэд гадны ДНХ-ийг шилжүүлэн оруулахад химийн болон физикийн трансформацийн аргыг өргөн ашигладаг. Бид судалгаандаа дулааны шок үүсгэн трансформаци хийлээ. Энэхүү арга нь хими болон физикийн үзэгдэлд суурилсан трансформацийн арга бөгөөд ашиглахад хялбар, богино хугацаанд трансформацийн бүтээгдэхүүн үүсгэх боломжтой зэрэг давуу талтай.

Плазмид тус бүрээс 10 нг, харин компетент эсийн хөвмөгөөс 100 мкл-ийг хольж 20 минут мөсөн дээр байлгав. Үүний дараа 42°C хэмд 1 минут байлган дулааны шок үүсгэлээ (Зураг 11). Уг холимог дээр тасалгааны хэмд тогтворжуулсан LB шингэн тэжээлт орчин нэмж 37°C хэмд 1 цаг сэгсэрч ургуулсан. Түүний дараа 3000 эрг/мин эргэлтийн хурдаар 5 мин хурилдуурдаж, дээд шингэнийг үлдсэн бага зэрэг тэжээлт орчинд бактерийн тунадсыг хуруугаар доргион тогшиж сайтар хольж суспензлээд 50мкл-ийг хатуу тэжээлт орчинд асган 12 цаг өсгөвөрлөв. Хатуу тэжээлт орчинд ургасан бактерийн өсгөврөөс нэг эсийн клон ялган авч ампицилин 100мкг/мл (pHCV-Core, NS5A, E1) агуулсан LB (Luria-Bertani) шингэн тэжээлт орчинд плазмид тус бүрийг тарьж 12 цагийн турш +37°C хэмд сэгсэрч ургуулсан. Трансформаци хийх арга нь хими болон физикийн үзэгдэлд суурилсан арга бөгөөд ашиглахад хялбар, богино хугацаанд трансформацийн бүтээгдэхүүн үүсгэх боломжтой зэрэг давуу талтай.



Зураг 11. Дулааны шок үүсгэн бактерийн эсэд трансформаци хийх аргачлал



Зураг 12. Трансформацийн үед дулааны шок болон Ca^{+2} ионы үүрэг

Тайлбар: Дулааны шок (42°C) нь бактерийн эсийн мембраны гадна болон дотор талд температурын зөрүү үүсгэхэд Ca^{+2} ионоор бүрхэгдсэн плазмид ДНХ эсийн ханаар нэвтрэнэ. Ca^{+2} ион нь плазмид ДНХ болон бактерийн эсийн мембраны липидүүдтэй хобогдсоноор эсийн гаднах цэнэгийг саармагжуулдаг.

2.4.3. Компетент эсээс плазмидын ДНХ ялгах

GeneAll® Exprep™ Plasmid SV mini плазмид ДНХ ялгах цомгийг ашиглав. Шингэн тэжээлт орчин бүхий бактерийн өсгөврийг 13000 эрг/мин хурдаар эргүүлээд дээд шингэнийг асгаж S1 буферээс 2.5 мл нэмж суспенз бэлтгэнэ. Үүний дараа S2 уусмалаас 2.5 мл хийж холиод S3 буферээс 35 мл-ийг нэмж 5000 эрг/мин 20 мин эргүүлнэ. Дээд шингэнийг соруулан авч шүүгч цэнхэр багана бүхий тубе руу хийж 2200 эрг/мин 3 мин эргүүлэв. Эргүүлсэн шүүгдэсийг авч улаан багана бүхий тубе хийгээд дахин 3 мин эргүүлнэ. Баганыг 3 удаа угаагч буферээр угаасны дараа EB буфер хийн 4500 эрг/мин 5 мин эргүүлэн плазмид ДНХ-г тунгаан авна.

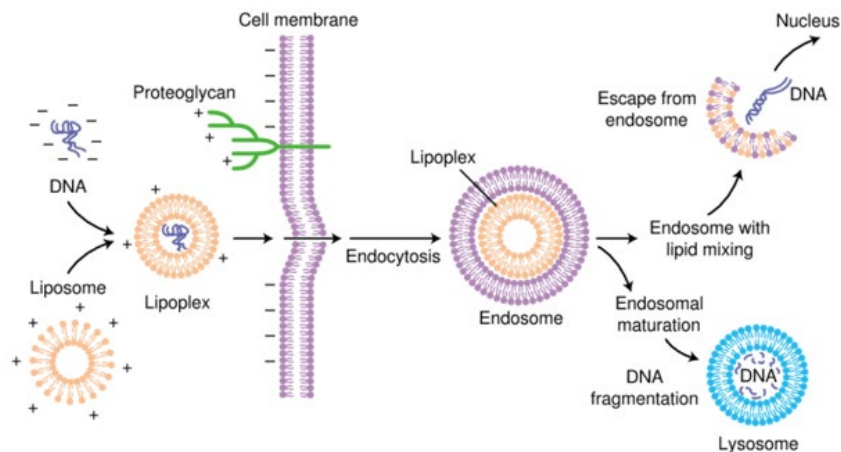
2.4.4. Эсийн өсгөвөр

Хулганы макрофаг (RAW-264.7) шугаман эсийн өсгөврийг идэвхгүйжүүлсэн 10%-ийн тугалын хээлийн ийлдэс (FCS-fetal calf serum), антибиотикийн холимог (пенициллин, стрептомицин) агуулсан орчинд (RPMI 1640 medium) 5% CO₂-ийн чийгшилтэй 37°C хэмд өсгөвөрлөв. Өсгөврийг трипсин ба этилендиамин-тетраацетатаар (ЭДТА) үйлчилж эсийн хөвмөг бэлтгэв.

Өсгөвөрийн таваг дахь эсийн нягт нийт талбайд 85-90% болох үед эсийг трипсин EDTA-аар үйлчлэн эсийн хөвмөг бэлтгэв. Энэ хөвмөг дэх эсээс 1 мл-ийг авч Трипан хөхөөр будаж гемоцитометрээр нийт эсийг тоолж, 5% Диметил Сульфоксид (DMSO) агуулсан шингэн тэжээлт орчинд 1×10^6 - 4×10^6 эс/мл байхаар тооцож хөлдөөх тубэнд хийж -80°C хэмд хадгалав.

2.4.5. Трансфекци болон эсийн эмчилгээ

Трансфекци гэдэг нь транс болон инфекции гэсэн хоёр үгнээс үүсгэсэн үг бөгөөд эукариот эсэд ДНХ-ийн материалыг оруулах арга зүй юм. Амьтны эсийн трансфекци нь эсийн мембранд жижиг сүв үүсгэн нээж түүгээр трансфекцийн материал оруулах хими, физик болон биологийн зарчимд үндэслэгдэнэ. Өөрөөр хэлбэл хөхтөн амьтны эсэд генетик материалыг нэвтрүүлж генийн үйл ажиллагааг судлах, генийн өөрчлөлт болон генийн эмчилгээг хийхийн тулд кальцийн фосфат, цахилгаан орны үйлчлэлийн тусламжтайгаар эсийн мембранд нүх сүв үүсгэх эсвэл катионы липидтэй ДНХ материалыг хольж липосомжуулан эсэд трансфекци хийх болон вирусийн бүтцээр дамжуулан ДНХ материалыг халдварлуулах зэрэг аргаар хийх боломжтой.



Зураг 13. Катионик липид ашиглан эукариот эсэд трансфекци хийх

Alan L. Parker and Christopher Newman Nonviral gene delivery, Techniques and implications for molecular medicine, *Expert reviews in molecular medicine*, Vol. 5; 3 September 2003

Тайлбар: Катионик липид нь мицелл бүтэц бүхий липосомыг үүсгэн ДНХ-тэй нэгдэж липоплексийг бий болгоно. Энэхүү бүтэц нь эсийн мембрантай нэгдэн, эндоцитозын замаар эсэд нэвтэрсэнээр хос давхарган бүтэцтэй цэврүүт мицел үүсгэдэг. Үүний дараа эндосом нь лизосом руу хувирах үед эндосомын хана задарч ДНХ цитоплазмд чөлөөлөгдөн бөөм руу шилжсэнээр генийн экспресс явагдана. Эсвэл ДНХ лизосомд задарч болно.

Трансфекци хийхийн өмнө шугаман эсийн өсгөвөрийг 6 үүрт хавтангийн үүр тус бүрд 0.5×10^6 эс/мл байхаар тооцож бэлтгэнэ. Эсийг идэвхгүйжүүлсэн 10%-ийн үхрийн хээлийн ийлдэс (FBS), антибиотик холимог (стрептомицин, пенициллин) агуулсан Roswell Park Memorial Institute (RPMI) орчинд, 5% CO₂, 37°C хэмд 24 цагийн турш өсгөвөрлөнө. Трансфекци хийхээр сонгон авсан плазмид вектор молекулыг үхрийн хээлийн ийлдэс (FBS) болон антибиотик холимог агуулаагүй RPMI орчинд хольж бэлтгэн Липофектамин-3000 болон түүний шингэлэгч урвалжийг тэнцүү харьцаатай холиод сайтар суспензлэнэ. Антибиотикгүй RPMI тэжээлт орчин дээр плазмид ДНХ-г нэмээд сайтар холино. Бэлтгэсэн плазмидын холимог болон липофектамин урвалжийг холиод 15 минут тасалгааны хэмд байлгана. Өмнөх өдөр нь бэлтгэсэн шугаман эсийн өсгөвөрийн тэжээлт орчинг нэмэлт тэжээл болон антибиотикийн агууламжгүй орчноор RPMI солино. Бэлтгэсэн плазмид вектор бүхий холимгийг эсийн өсгөвөр дээр дусаах маягаар зөөлөн нэмээд 5% CO₂-ийн чийгшилтэй 37°C хэмд 48 цагийн турш өсгөвөрлөнө.

Эсийн эмчилгээ

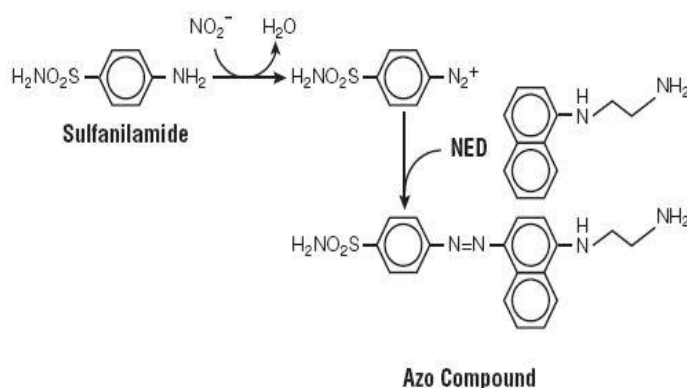
Шугаман эсийг Липофектамин3000 ашиглан Core, E1, NS5A уургийн ген агуулсан плазмидаар тус тус трансфекци хийснээс 48 цагийн дараа IFN γ -г 25 нг/мл, 1400W-ийг 10нМ тунгаар нэмж 18 цаг үйлчлэв.

2.4.6. Иммуноблоттинг

Core, NS5A, E1, iNOS, IRF1 зэрэг уургийн экспрессийг иммуноблоттинг аргаар үнэлэв. Эсээс уургийг протеаза дарангуйлагч агуулсан задлагч уусмалаар 4⁰C-д ялган авна. Уургийн концентрацийг BCA (Bicinchonic acid assay)-аар тодорхойлж, ижил концентрацитай уургуудыг гельд гүйлгэж хүндийн жингээр нь ялган авна. Гель дэх уургуудыг цахилгаан хүчдэлийн тусламжтайгаар нитроцеллюлоз мембран руу шилжүүлж, бай уурагтай холбогдох өвөрмөц анхдагч эсрэгбиеээр будна. Үүссэн дархан бүрдэл дээр тунхуугийн пероксидаза (HP-Horseradish peroxidase) зүүсэн хоёрдогч эсрэгбиеээр үйлчилсний дараа, хемилюминесцент бодис (ECL) нэмж толбо үүсгэдэг. Үүссэн толбыг гэрэл шингээгч системийн ChemiDoc анализаторын тусламжтай үнэлэв. Image J программ ашиглан үр дүнг боловсруулав.

2.4.7. Азотын ислийн гарцыг тодорхойлох

Азотын исэл (NO) нь *in vivo* орчинд судас өргөсгөх, нейроны дохио дамжуулагч молекул, дархлааны урвалын үндсэн эс хордуулагч медиаторын үүрэг гүйцэтгэж, эзэн организмын хамгаалах урвал, хавдрын эсийг устгах, эсийн доторх эмгэгтөрөгчийг зайлуулах зэрэгт оролцдог. Эсийн дээд шингэн дэх азотын ислийн бүтээгдэхүүн буюу нитрит (NO₂⁻)-ийн концентрацийг тодорхойлохдоо Гриессийн урвалжийн системийг ашигладаг. Энэ урвалжийн бүрэлдэхүүнд сульфаниламид (SA) ба нафтилэтилендиамин (NED) орно (Зураг 14).



Зураг 14. Гриесс урвалжаар NO₂⁻-ийг тодорхойлох үед өрнөх урвал

Нитритийн концентрац тодорхойлох стандарт муруй

Эсийн дээд шингэний нитритийн хэмжээг тоон үзүүлэлтээр илэрхийлэх зорилгоор нитритийн тодорхой концентрац бүхий уусмал ашиглан цуврал шингэрүүлэлтийн аргаар стандарт муруйг байгуулдаг.



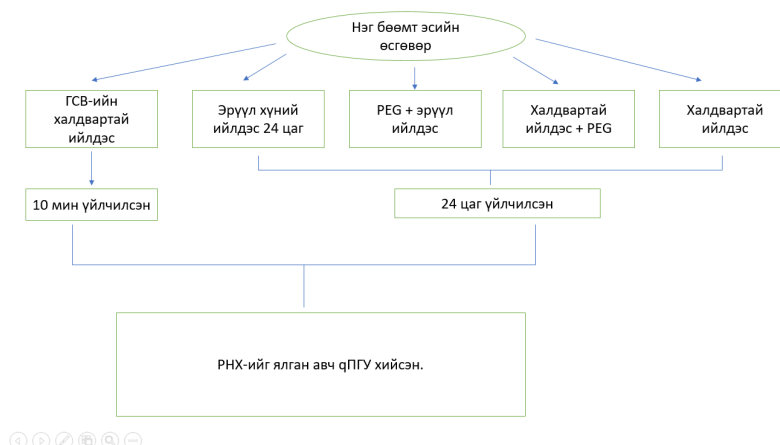
Зураг 15. Нитритийн агууламж хэмжих урвалын самбар

2.4.8 Эсийн өсгөвөрт гепатитын C вирусийн загвар үүсгэх аргачлал

Эрүүл хүний хураагуур судаснаас цус авч 1:1 концентрациар PBS уусмалаар шингэрүүлсэн. Үүний дараагаар шингэлсэн цусыг фикоцеллын уусмал дээр үелүүлэн хийсэн. Уг бэлдсэн уусмалыг 1500 эрг/мин хурдаар 30 мин хурилдуурт эргүүлсэн. Нэг бөөмт эсийг ялган авч PBS-ийн уусмалаар 3 удаа угааж эсийн хөвмөг бэлтгэсэн, эсийг тоолж нэг урвалын хавтанд 3.5×10^4 байхаар хувааж 24 цаг 37°C 5% CO₂ бүхий нөхцөлд инкубаци хийсэн.

Түүний дараа HCV халдвартай хүний хураагуур судаснаас цус авч ийлдсийг ялгаж өмнө нь урьдчилж бэлтгэсэн эрүүл хүнээс авсан нэг бөөмт эсийн өсгөвөрт 5

хоног үйлчилж 37°C 5% CO₂ нөхцөлд инкубаци хийсэн. РНХ-ийг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу ялган авсан.



Зураг 16. Нэг бөөмт эсийн (Анхдагч эсийн өсгөвөр) өсгөвөрт ГСВ-ын халдварын загвар үүсгэж буй бүдүүвч зураг.

Тайлбар: PEG- polyethylenglycol

2.4.9 Эсээс ГСВ-ын РНХ-ийг ялгах арга

Эсийн өсгөвөрийг соруулан авч эпендорф түбэнд шилжүүлж, задлагч буфер болон уураг задлагч энзим нэмж сайтар холив. Дараа нь 99%-ийн этанол нэмж хурилдуурдсан. Супернатантыг болгоомжтой авч баганат түбэнд шилжүүлэн хурилдуурдав. Дараа нь хаягдал шингэнийг хаяж баганат түбийг дахин хурилдуурдсан. Баганат түбэнд угаагч уусмал нэмж хурилдуурдаж хаягдал шингэнийг асгаж, баганат түбийг дахин хурилдуурдсан. Баганат түбийг шинэ түбэнд РНХ чөлөөлөгч буфер нэмж, хурилдуурдав.

Б2.5.Үр дүнгийн статистик боловсруулалт

Судалгааны мэдээлэл, туршилт судалгааны үр дүнд Microsoft Excel 2010 программ ашиглан статистик боловсруулалт хийв. Тоон мэдээлэлд арифметик дундаж, стандарт хазайлт, стандарт алдааг тодорхойлж, бүлгүүдийн тоон үзүүлэлтийн хоорондын ялгааг стьюдэнтийн Т тестийн аргаар тооцооллоо. Дунджуудын хооронд статистик ач холбогдол бүхий ялгааг 95%-ийн итгэх интервалаар баталгаажуулав.

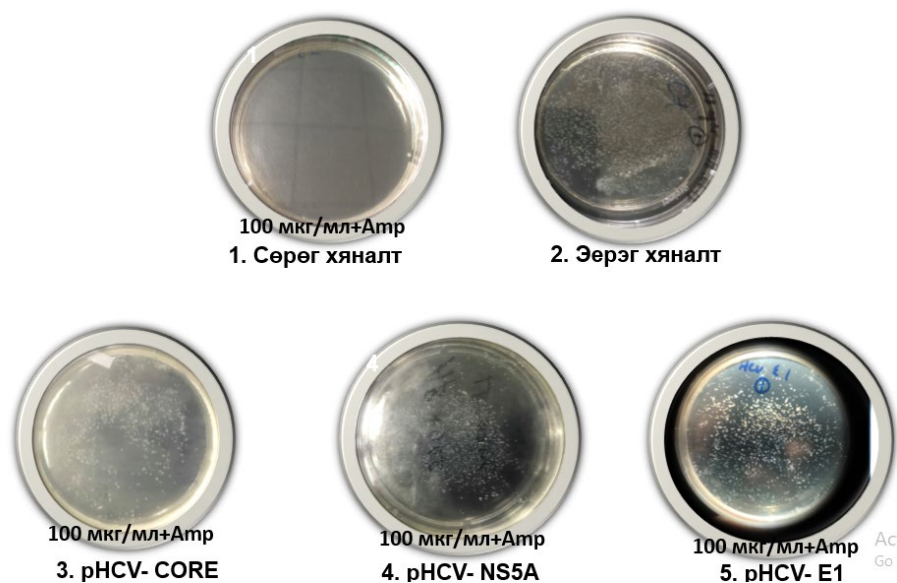
2.6.Судалгааны ажлын ёс зүй

Эрүүл Мэндийн Яамны дэргэдэх Анагаах Ухааны Ёс зүйн Хяналтын Хорооны 2018 оны 10-р сарын 05-ны өдрийн хурлаар хэлэлцүүлэн ёс зүйн зөвшөөрөл аван, судалгаа хийх ёс зүйн хэм хэмжээг мөрдөн судалгааны ажлыг эхлүүлж 2023 оны 01 дүгээр сарын 18-ны өдрийн хурлаар хэлэлцүүлэн (Тогтоол №23/006) судалгааг хаах дүгнэлт гаргах тухай ажлын ёс зүйн хорооны дүгнэлт гаргуулсан.

ГУРАВДУГААР БҮЛЭГ. СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ҮР ДҮН

3.1 Плазмид ДНХ-ийг трансформаци хийсэн дүн

Бид HCV-ийн Core, NS5A, E1 уургийн ген агуулсан плазмид тус бүрийг судалгаанд хэрэглэх хангалттай хэмжээтэй болгохын тулд олшруулсан. Ингэхдээ плазмидийг дулааны шок үүсгэх аргаар бактерийн эсэд (XL-1 blue) трансформаци хийсний дараа 100 мкг/мл ампициллин агуулсан тэжээлт орчинд +37°C-д 12 цаг өсгөвөрлөв.



Зураг 17. Core, NS5A, E1 плазмидийг трансформаци хийснийг баталсан дүн

Тайлбар: 1. Ампициллинтай тэжээлт орчинд бактерийн эсийг тарьсан таваг. 2. Ампициллингүй тэжээлт орчинд бактерийн эсийг тарьсан таваг. 3. Ампициллинтай тэжээлт орчинд Core плазмидийг трансформаци хийсэн бактерийн эсийг тарьсан таваг. 4. Ампициллинтай тэжээлт орчинд NS5A плазмидийг трансформаци хийсэн бактерийн эсийг тарьсан таваг. 5. Ампициллинтай тэжээлт орчинд E1 плазмидийг трансформаци хийсэн бактерийн эсийг тарьсан таваг.

Ампициллин агуулсан тэжээлт орчинд трансформаци хийгээгүй бактерийн эсийг тарихад эсийн клон илрээгүй. Харин ампициллин агуулаагүй тэжээлт орчинд трансформаци хийгээгүй бактерийн эсийг тарихад *e.coli* илэрсэн тул судалгаанд ашиглах боломжтой гэж үзсэн. Гурван плазмидийг тус бүрт нь трансформаци хийж, ампициллин бүхий тэжээлт орчинд ургуулахад бактерийн эсийн клон илэрсэн (Зураг 17). Энэ нь трансформаци амжилттай хийгдсэнийг харуулж байна.

3.2 Плазмид ДНХ-ийг ялган авсан дүн

HCV-ийн Core, NS5A, E1 уургийн ген агуулсан плазмид тус бүрийг олшруулсны дараа бактерийн эсээс ялган авсан. Үүний тулд GeneAll® Expresp™ Plasmid SV mini

плазмид ДНХ ялгах цомгийг ашигласан ба гарц болон цэвэршилтийг нанодроп аппаратаар үнэлсэн.

Анх 10 нг плазмидыг трансформаци хийсэн бөгөөд E1 плазмидийг 125.3 нг/мкл, Core плазмидийг 159.8 нг/мкл, NS5A плазмидийг 124.6 нг/мкл хэмжээгээр ялгаж авсан. Мөн цэвэршилт нь 1.8 байгаа нь плазмид ДНХ-ийг судалгаанд ашиглах боломжтойг харуулж байна (Хүснэгт 1).

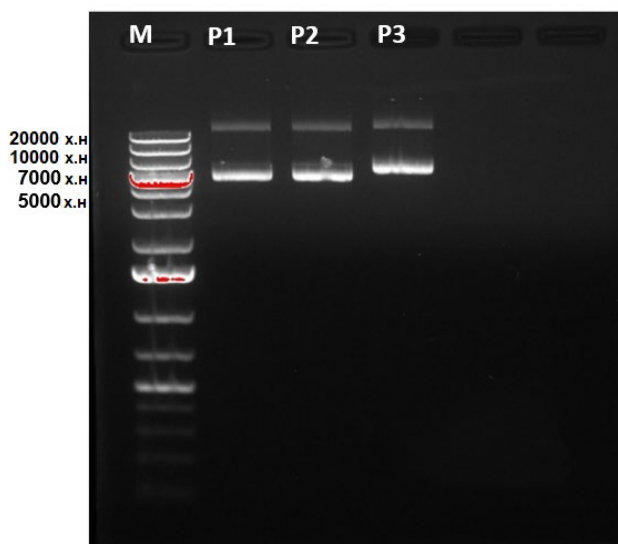
Хүснэгт 1. Плазмид ДНХ-ийн гарц болон цэвэршилтийг нанодроп аппаратаар үнэлсэн дүн

№	Плазмид	Үйлдвэрээс ирсэн плазмидийн агууламж	Трансформаци хийсэн тун	Ялган авсан Д	Цэвэршилт
1	pHCV-E1	1нг/мкл	10 нг	125.3 нг/мкл	1.81
2	pHCV-CORE	1нг/мкл	10 нг	159.8 нг/мкл	1.84
3	pHCV-NS5A	1нг/мкл	10 нг	124.6 нг/мкл	1.82

Тайлбар: pHCV-E1: HCV-ийн E1 уургийн ген агуулсан плазмид, pHCV-CORE: HCV-ийн Core уургийн ген агуулсан плазмид, pHCV-NS5A: HCV-ийн NS5A уургийн ген агуулсан плазмид

3.3 Плазмид ДНХ-ийг гель электрофорезоор шалгасан дүн

HCV-ийн Core, NS5A, E1 уургийн ген агуулсан плазмид тус бүрийг бактерийн эсээс ялган авсны дараа гель электрофорезоор давхар баталсан.



Зураг 18. Ялган авсан плазмид ДНХ-ийг гель электрофорезоор шалгасан дүн
Тайлбар: М-хэмжээ тогтоогуур, P1-pHCV-CORE, P2-pHCV-E1, P3-pHCV-NS5A, х.н-хос нуклеотид

Зураг 18-оос гелъ электрофорезийн үр дүнг харахад HCV-ийн Core, NS5A, E1 плазмидийн ДНХ илэрсэн байна. Энэ нь бактерийн эсээс плазмид ДНХ-ийг амжилттай ялган авсныг баталж байна.

3.4 Уургийн концентрацийг тодорхойлсон дүн

RAW264.7 эсээс ялгасан уургийн концентрацийг BCA туршилтын цомгоор ELISA уншигч ашиглан тодорхойлсон. Уургийн суспензээс 2 мкл-ийг авч 23 мкл PBS-ээр шингэлж BCA-ийн ажлын уусмалаас 200 мкл нэмж гэрлийн шингээлтийг хэмжлээ.

Уургийн концентраци нь хяналтын бүлэгт 18.15 мкг/мл, IFN γ -аар үйлчилсэн бүлэгт 26.17 мкг/мл, Core плазмидаар үйлчилсэн бүлэгт 12.52 мкг/мл, NS5A плазмидаар үйлчилсэн бүлэгт 13.44 мкг/мл, E1 плазмидаар үйлчилсэн бүлэгт 14.03 мкг/мл, E1+IFN γ -аар үйлчилсэн бүлэгт 15.24 мкг/мл байлаа (Хүснэгт 2). Цаашид бид гелийн нүх тус бүрт 20-40 мкг уураг байхаар тооцож ашигласан.

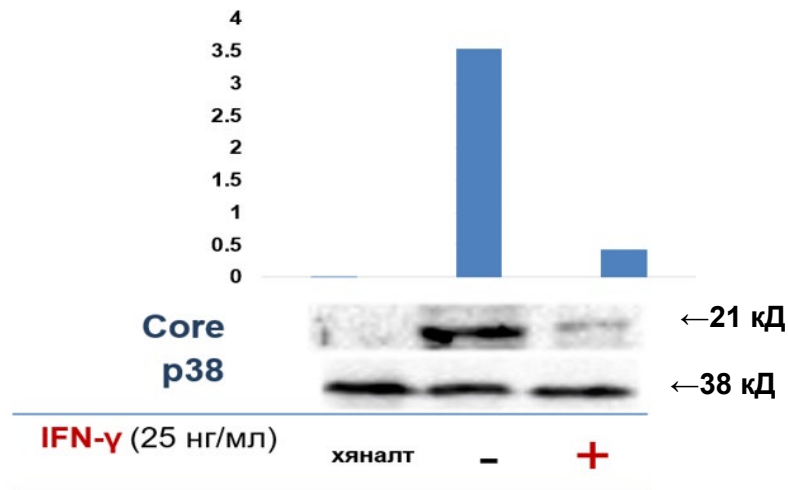
Хүснэгт 2. Уургийн концентрацийг тодорхойлсон дүн

	Х э м ж и лт 1	Х э м ж и лт 2	Х э м ж и лт 3	В S A 1	В S A 2	В S A 3	Д ун д а ж	Ши нгэ лэ лт	La em mli бу фе рх5	20 мкг	30 мкг	40 мкг
Хяналт	0.21	0.20	0.20	1.87	1.81	1.75	1.81	22.69	18.15	1.10	1.65	2.20
IFN γ	0.26	0.27	0.25	2.63	2.77	2.44	2.61	32.71	26.17	0.76	1.14	1.52
Core плазмид	0.16	0.16	0.17	1.24	1.23	1.27	1.25	15.65	12.52	1.59	2.39	3.19
NS5A плазмид	0.17	0.17	0.17	1.36	1.32	1.34	1.34	16.80	13.44	1.48	2.23	2.97
E1 плазмид	0.19	0.17	0.17	1.64	1.27	1.29	1.40	17.53	14.03	1.42	2.13	2.85
E1+IFN γ	0.19	0.18	0.18	1.62	1.49	1.45	1.52	19.05	15.24	1.31	1.96	2.62

Тайлбар: Хэмжилтийг 3 удаагийн давтамжтай хийсэн ба гарсан үр дүнг стандарт альбумины муруйтай харьцуулан үнэлсэн. Дундаж утгыг шингэлэлтийн фактоороор (x12.5) үржүүлж, x5 Laemmli буферт агуулагдахуургийн эцсийн концентрацийг тодорхойлов. BSA-Bovine Serum Albumin стандарт.

3.5 Core уургийн экспресст үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөөг иммуноблоттинг аргаар баталсан дүн

Макрофаг эсэд HCV вирусийн Core уургийн экспресст үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөө болон трансфекцийн үр дүн болох Core уургийн экспрессийг батлах зорилгоор шугаман эсийг Core уургийн ген агуулсан плазмидаар Липофектамин3000 ашиглан трансфекци хийн 48 цагийн дараа IFN γ -г 25 нг/мл тунгаар нэмж 18 цаг үйлчлэн уургийн экспрессийг тодорхойлов (Зураг 19).



Зураг 19. Эсийн өсгөвөрт HCV-ийн Core уургийн экспресс болон түүнд үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөөг тодорхойлсон дүн

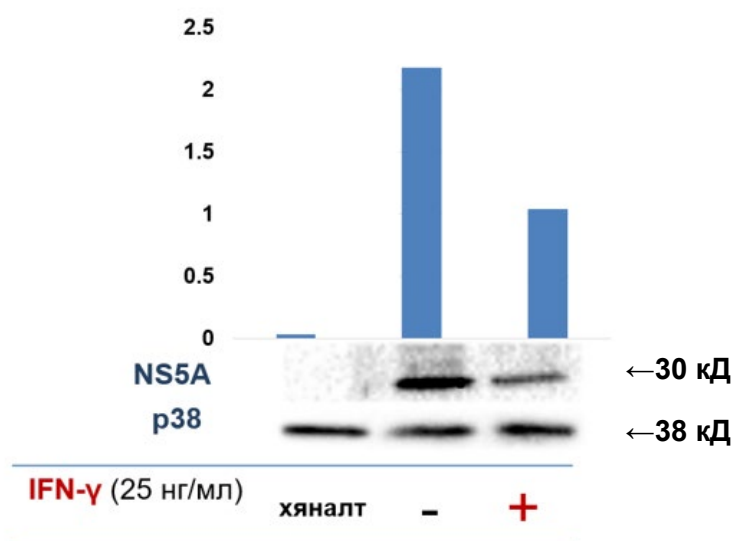
Тайлбар: Эсийг Core уургийн ген агуулсан плазмидаар 48 цаг үйлчилсний дараа IFN γ -г 25 нг/мл тунгаар 18 цаг үйлчлэв. Дотоод хяналтаар p38 уургийг ашигласан болно. Image J программ ашиглан HCV-ийн Core уургийн экспрессийн тоон утгыг график зургаар харуулав.

Хяналтын бүлэгт Core уургийн экспресс илрээгүй ба Core уураг бүхий плазмидаар үйлчилсэн бүлэгт Core уургийн экспресс илэрч, трансфекци амжилттай явагдсаныг харуулж байна. Харин Core+IFN γ бүлэгт Core уургийн экспресс буурсан нь IFN γ нь вирусийн уургийн эсрэг үйлдэлтэйг харуулж байна.

3.6. NS5A уургийн экспресст үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөөг иммуноблоттинг аргаар баталсан дүн

Макрофаг эсэд HCV вирусийн NS5A уургийн экспресст үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөө болон трансфекцийн үр дүн болох NS5A уургийн экспрессийг батлах зорилгоор шугаман эсийг NS5A уургийн ген агуулсан плазмидаар Липофектамин3000 ашиглан

трансфекци хийн 48 цагийн дараа IFN γ -г 25 нг/мл тунгаар нэмж 18 цаг үйлчлэн уургийн экспрессийг тодорхойлов (Зураг 20).



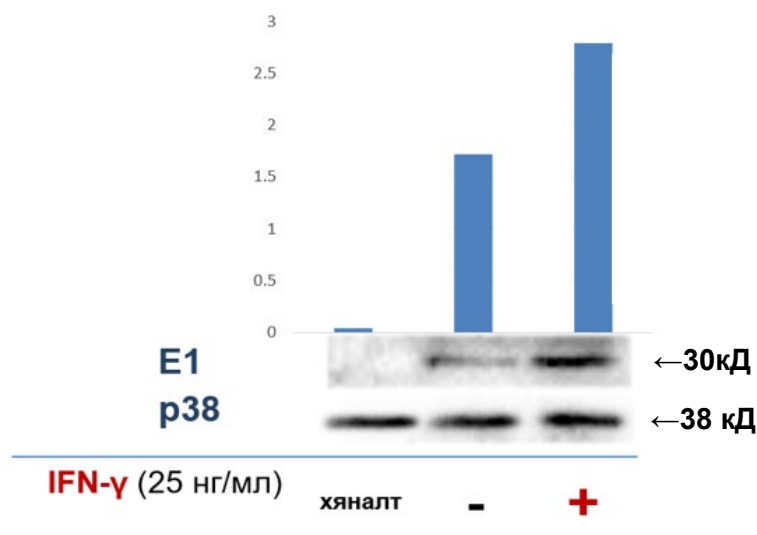
Зураг 20. Эсийн өсгөвөрт HCV-ийн NS5A уургийн экспресс түүнд үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөөг харьцуулсан дүн

Тайлбар: Эсийг NS5A уургийн ген агуулсан плазмидаар 48 цаг үйлчилсний дараа IFN γ -г 25 нг/мл тунгаар 18 цаг үйлчлэв. Дотоод хяналтаар р38 уургийг ашигласан болно. Image J программ ашиглан HCV-ийн NS5A уургийн экспрессийн тоон утгыг график зургаар харуулав

Хяналтын бүлэгт NS5A уургийн экспресс илрээгүй ба NS5A уургийн ген бүхий плазмидаар үйлчилсэн бүлэгт NS5A уургийн экспресс илэрч, трансфекци амжилттай явагдсаныг харуулж байна. Харин NS5A+IFN γ бүлэгт NS5A уургийн экспресс буурсан нь IFN γ -ийн вирусийн уургийн эсрэг үйлдлийг харуулж байна.

3.7. E1 уургийн экспресст үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөөг иммуноблоттинг аргаар баталсан дүн

Макрофаг эсэд HCV вирусийн E1 уургийн экспресст үзүүлэх IFN γ -ийн нөлөө болон трансфекцийн үр дүн болон E1 уургийн экспрессийг батлах зорилгоор шугаман эсийг E1 уургийн ген агуулсан плазмидаар Липофектамин3000 ашиглан трансфекци хийн 48 цагийн дараа IFN γ -г 25 нг/мл тунгаар нэмж 18 цаг үйлчлэн уургийн экспрессийг тодорхойлов (Зураг 21).



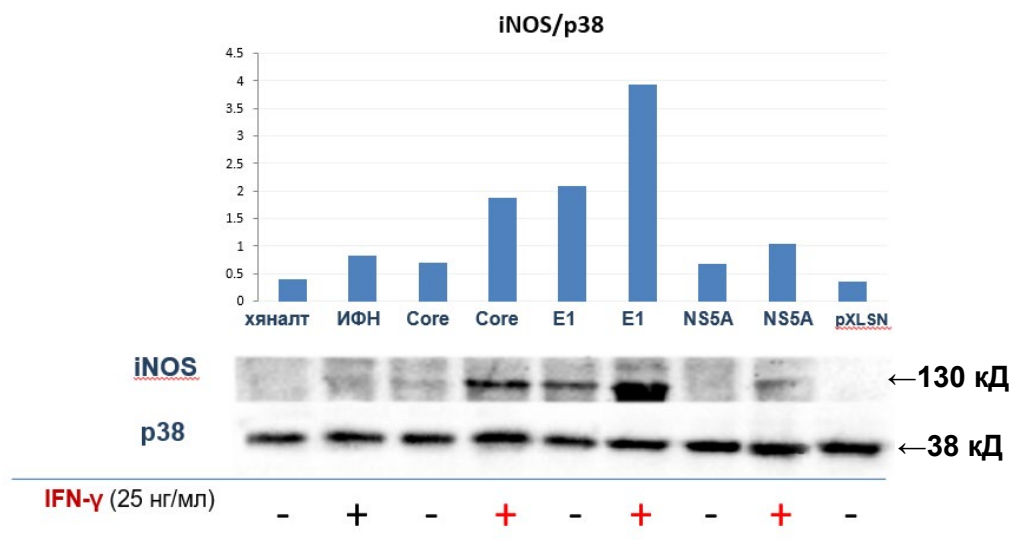
Зураг 21. Эсийн өсгөвөрт HCV-ийн E1 уургийн экспресс түүнд үзүүлэх IFNγ-ийн нөлөөг харьцуулсан дүн

Тайлбар: Эсийг E1 уургийн ген агуулсан плазмид болон IFNγ-г 25 нгмл тунгаар үйлчлэв. Дотоод хяналтаар нийт p38 уургийг ашигласан болно. Image J программ ашиглан HCV-ийн E1 уургийн экспрессийн тоон утгыг график зургаар харуулав

Хяналтын бүлэгт E1 уургийн экспресс илрээгүй ба E1 уургийн ген бүхий плаزمидаар үйлчилсэн бүлэгт E1 уургийн экспресс илэрч, трансфекци амжилттай явагдсаныг харуулж байна. Сонирхолтой нь E1+IFNγ бүлэгт IFNγ нь E1 уургийн экспрессийг нэмэгдүүлэв. Энэ нь эзэн эсэд IFNγ-р нөхцөлдөх төрөлхийн дархлааны хариу урвалыг эрчимжүүлж байж болох юм.

3.8. IFNγ-аар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжилд Core, E1 болон NS5A уургийн нөлөө

IFNγ-аар өдөөгдөх iNOS уургийн экспресст HCV-ийн Core, E1 болон NS5A уургийн нөлөөг тодорхойлсон. Ингэхдээ шугаман эсийг Липофектамин3000 ашиглан Core, E1, NS5A уургийн ген агуулсан плазмидаар тус тус трансфекци хийн 48 цагийн дараа IFNγ-г 25 нг/мл тунгаар нэмж 18 цаг үйлчлэн iNOS уургийн экспрессийг үнэлэв (Зураг 22).



Зураг 22. IFN γ -аар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжилд Core, E1 болон NS5A уургийн нөлөө

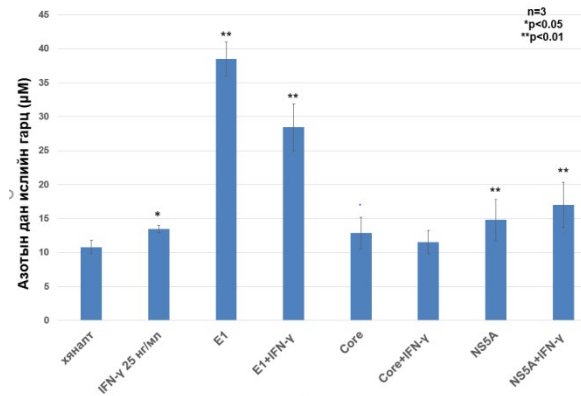
Тайлбар: Эсийг Core, NS5A, E1 уургийн ген агуулсан плазмид болон IFN γ -ийн 25 нг/мл тунгаар үйлчлэв. Дотоод хяналтаар нийт p38 уургийг ашигласан болно. Сөрөг хяналтаар pXLSN вектор ашиглав. Image J программ ашиглан iNOS уургийн экспрессийн тоон утгыг график зургаар харуулав.

Хяналтын бүлэгт iNOS уургийн экспресс илрээгүй ба E1 уургийн ген бүхий плазмидаар трансфекци хийсэн бүлэгт iNOS уургийн экспресс нэмэгдсэн. Харин Core болон NS5A уураг нь дангаараа iNOS уургийг идэвжүүлж чадаагүй. Сонирхолтой нь Core+IFN γ , E1+IFN γ болон NS5a+IFN γ бүлэгт IFN γ хамааралт iNOS уургийн идэвхжил нэмэгдсэн.

Эдгээр үр дүнгээс харахад HCV-ийн E1 уураг нь дангаараа эзэн эсийн дархлааг өдөөхийн зэрэгцээ IFN-аар идэвхжих өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалыг улам эрчимжүүлж байна. HCV-ийн бусад уургууд нь (Core, NS5A) дангаараа бус IFN γ -аар өдөөгдөх хариу урвалыг нэмэгдүүлж байна.

3.9. IFN γ -аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцад Core, E1 болон NS5A уургийн нөлөө

IFN γ болон вирусийн уургуудаар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцад уургийн Core, E1, NS5A уураг ба IFN γ -ийн харилцан үйлчлэл хэрхэн нөлөөлөхийг тодорхойлохын тулд макрофаг эсийг Липофектамин 3000 ашиглан Core, E1, NS5A уургийн ген агуулсан плазмидаар тус тус трансфекци хийн 48 цагийн дараа IFN γ -г 25 нг/мл тунгаар нэмж 18 цаг үйлчлэн Гриесс урвалжаар азотын ислийн гарцыг үнэлэв (Зураг 23).



Зураг 23. IFN γ -аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцад Core, E1 болон NS5A уургийн нөлөө

Тайлбар: Эсийг Core, NS5A, E1 уургийн ген агуулсан плазмид болон IFN γ -г 25 нг/мл тунгаар үйлчлэв. Босоо тэнхлэгт нитритийн гарцыг, хэвтээ тэнхлэгт туршилтын бүлгүүдийг тэмдэглэв. ** $p < 0.01$ болон * $p < 0.05$ үед статистикийн ач холбогдол бүхий ялгаатай гэж тооцов.

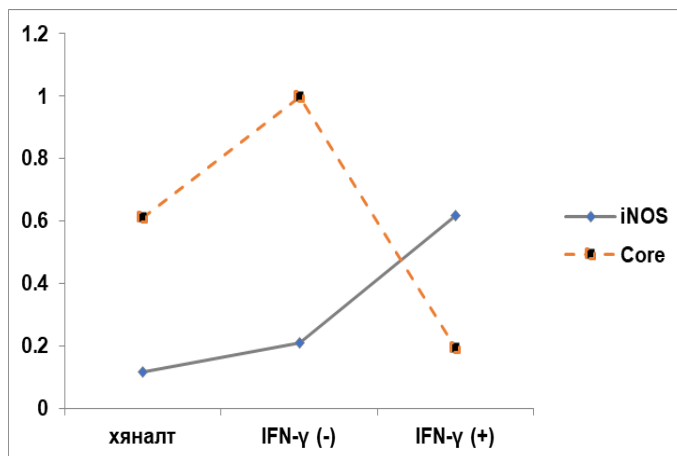
E1 уураг азотын дан ислийн гарцыг $38.0 \pm 2.1 \mu\text{M}$ хүртэл ихэсгэсэн. NS5A уураг азотын ислийн гарцыг өдөөгөөгүй боловч IFN γ -аар үйлчлэхэд азотын ислийн гарц $17.5 \pm 3.0 \mu\text{M}$ болж нэмэгдэв. Core уураг дангаараа азотын ислийн гарцыг нэмэгдүүлж, IFN γ -аар үйлчлэхэд азотын ислийн гарц буурсан боловч статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдаагүй болно.

Эдгээр үр дүнгээс үзэхэд E1 уураг дангаараа азотын дан ислийн гарцыг нэмэгдүүлсэн байгаа нь E1 уургийн iNOS уургийн идэвхжилийг нэмэгдүүлсэн дүнтэй уялдаж байна. IFN γ -аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцад HCV-ийн бусад (Core, NS5A) уургуудын нөлөө тод ажиглагдсангүй.

3.10. Эзэн эсийн хамгаалах хариу урвал болон вирусийн гэмтээх урвалын харилцан уялдааг тодорхойлсон дүн

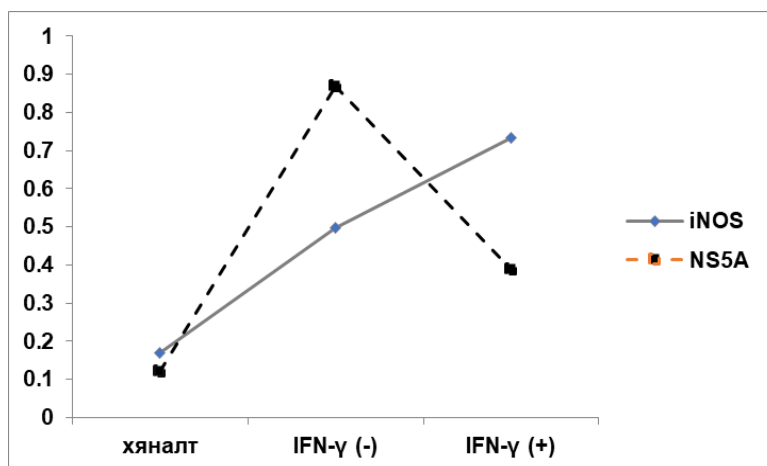
Нэг талаас, анхдагч дархлааны хариу урвалыг илтгэгч IFN-аар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжил, нөгөө талаас вирусийн довтолгоог илтгэгч Core болон NS5A уургийн нийлэгжлийг харьцуулан үнэлэв.

Вирусийн Core, NS5A уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалаар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжилтэй урвуу хамааралтай байна. Энэ нь вирусийн эсрэг IFN γ -ийн хариу урвал идэвхэжсэнээр вирусийн уургуудын үйл ажиллагааг саатуулж байгааг харуулж байна. (Зураг 24, 25)



Зураг 24. iNOS болон Core уургийн идэвхжилийн хамаарал

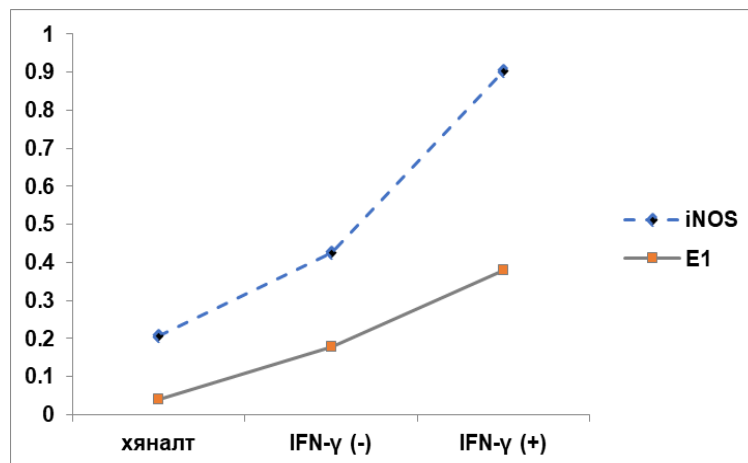
Босоо тэнхлэгийн дагуу ImageJ-ийн тоон утга, IFN γ -аар үйлчилсэн бүлгүүд дэхь iNOS болон вирусийн уургийн экспрессийг харуулав.



Зураг 25. iNOS болон NS5A уургийн идэвхжилийн хамаарал

Босоо тэнхлэгийн дагуу ImageJ-ийн тоон утга, IFN γ -аар үйлчилсэн бүлгүүд дэхь iNOS болон вирусийн уургийн экспрессийг харуулав.

Харин вирусийн E1 уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалаар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжилтэй шууд хамааралтай байна. Энэ нь HCV-ийн E1 уураг нь өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалыг (IFN γ -аар өдөөгдөх iNOS идэвхжилийг) нэмэгдүүлж, хүчжүүлж байна (Зураг 26).



Зураг 26. iNOS болон NS5A уургийн идэвхжилийн хамаарал

Босоо тэнхлэгийн дагуу ImageJ-ийн тоон утга, IFN γ -аар үйлчилсэн бүлгүүд дэхь iNOS болон вирусийн уургийн экспрессийг харуулав.

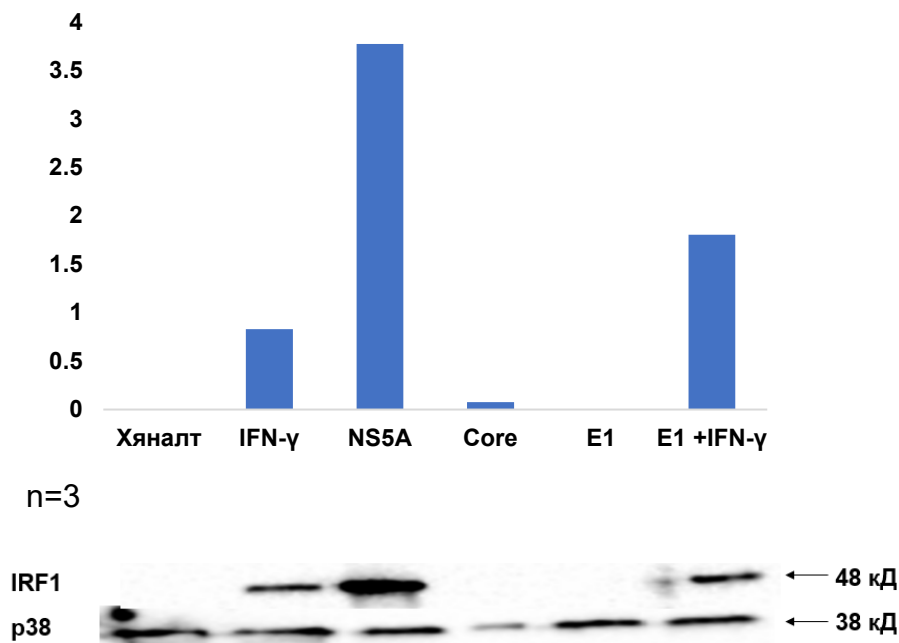
3.11 IRF1 уургийн идэвхжилийг иммуноблоттингийн аргаар тодорхойлсон дүн

RAW264.7 эсэд IRF1 уургийн идэвхжилд Core, E1, NS5A ген агуулсан плазмидийн нөлөөг иммуноблоттингийн шинжилгээгээр тодорхойлсон. Ингэхдээ шугаман эсийг Липофектамин3000 ашиглан Core, E1, NS5A уургийн ген агуулсан плазмидаар (3000нг) тус тус 48 цаг трансфекци хийсний дараа IFN γ -ийг 25 нг/мл тунгаар нэмж 18 цаг үйлчлэн IRF1 уургийн идэвхжилийг үнэлэв (Зураг 27). Иммуноблоттингийн үр дүнг Image J программ ашиглан боловсруулалт хийв. Уургийн идэвхжилийг үнэлэхийн тулд IRF1-ийг p38-тай харьцуулсан (Хүснэгт 3).

Хүснэгт 3. Иммуноблоттингийн үр дүнг imageJ программаар тоон анализ хийсэн дүн

Бүлэг	IRF1	p38	IRF1/p38
Хяналт	0	33.715	0.001
IFN γ	15.014	18.091	0.829
NS5A	56.901	15.077	3.774
Core	0.252	3.237	0.077
E1	0	14.491	0
E1+IFN γ	27.77	15.388	1.804

Тайлбар: Дотоод хяналтаар p38-ийг авлаа.



Зураг 27. IRF1 уургийн идэвхжилд Core, E1 болон NS5A уургийн нөлөөг тодорхойлсон дүн

Тайлбар: Эсийг Core, NS5A, E1 уургийн ген агуулсан плазмид болон IFN γ -ийг 25 нг/мл тунгаар үйлчлэв. Дотоод хяналтаар нийт p38 уургийг ашигласан болно. Image J программ ашиглан IRF1 уургийн идэвхжилийн тоон утгыг график зургаар харуулав.

Хяналтын бүлэгт IRF1 уургийн идэвхжил илрээгүй ба IFN γ дангаараа макрофаг төст эсэд IRF1 уургийн идэвхжилийг нэмэгдүүлсэн. NS5A уургийн ген бүхий плаزمидаар трансфекци хийсэн бүлэгт IRF1 уургийн идэвхжил нэмэгдсэн. Харин Core болон E1 уураг нь дангаараа IRF1 уургийг идэвхжүүлээгүй. Сонирхолтой нь E1+IFN γ бүлэгт IRF1 уургийн идэвхжил дан IFN γ -аар үйлчилсэн бүлэгтэй харьцуулахад улам нэмэгдсэн.

Эдгээр үр дүнгээс харахад NS5A плазмид нь дангаараа IRF1 транскрипцийн факторын идэвхжилд оролцож байна. Харин E1 плазмид нь дангаараа бус IFN γ -аар өдөөгдөн IRF1 транскрипцийн факторын идэвхжилийг нэмэгдүүлж байна.

3.12 Эзэн эсийн хамгаалах хариу урвал болон вирусийн гэмтээх урвалын харилцан уялдааг тодорхойлсон дүн

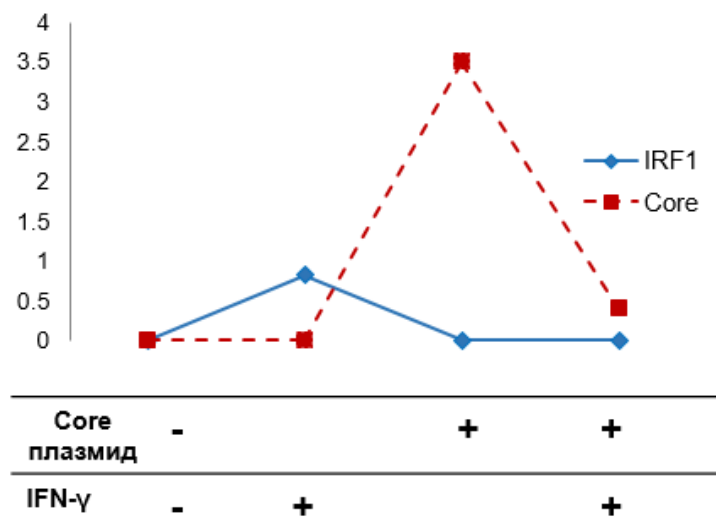
Өвөрмөц дархлааны хариу урвалыг илтгэгч IFN γ -аар өдөөгдөх IRF1 уургийн идэвхжил болон вирусийн довтолгоог илтгэгч Core, NS5A болон E1 уургийн нийлэгжлийг харьцуулан үнэлэв.

IRF1 болон Core уургийн идэвхжилийн хамаарал

Нэг талаас өвөрмөц дархлааны хариу урвалыг илтгэгч IFN γ -аар өдөөгдөх IRF1 уургийн идэвхжил, нөгөө талаас вирусийн довтолгоог илтгэгч Core уургийн идэвхжилийн хамаарлыг үнэлэх зорилгоор уургийн нийлэгжлийн үр дүнг Image J программ ашиглан тоон утгад шилжүүлэн нэг хавтгайд үзүүлэв.

Гадны ямар нэг цочролгүй эс тайван байхад IRF1 болон Core уураг идэвхэждэггүй. Core плазмидаар трансформаци хийсэн макрофаг төст эсэд Core уургийн нийлэгжилт ихэссэн. Харин IFN γ нь Core плазмидаар идэвхжих Core уургийн нийлэгжлийг бууруулсан. Core плазмидаар трансформаци хийсэн макрофаг төст эсэд IRF1 уураг идэвхэждэггүй. Харин IFN γ нь IRF1 уургийн нийлэгжлийг хүчтэй өрнүүлсэн (Зураг 28).

Вирусийн Core уургийн идэвхжил өндөр байхад эзэн эсийн өвөрмөц бус дархлааны IRF1 уургийн идэвхжил эхэлж чадахгүй байсан. Харин IFN γ -аар эзэн эсийн дархлааны IRF1 уураг идэвхжихэд эсрэгээрээ вирусийн Core уургийн идэвхжил буурсан.



Зураг 28. IRF1 болон Core уургийн идэвхжилийн хамаарал

Тайлбар: Босоо тэнхлэгийн дагуу ImageJ-ийн тоон утга, туршилтын бүлгүүд дэх IRF1 болон Core уургийн идэвхжилийг харуулав. Image J программ ашиглан боловсруулсан тоон утгуудыг нэг хавтгайд дүрслэв.

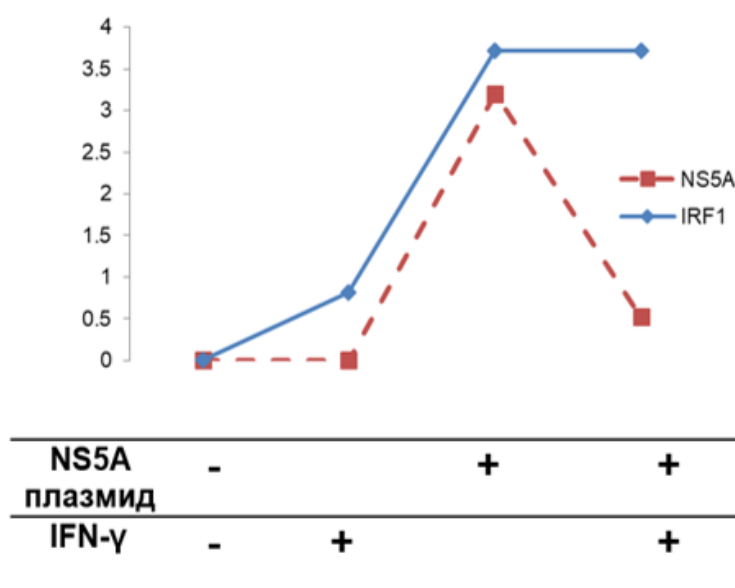
Энэ нь вирусийн эсрэг IFN γ -аар өдөөгдөх дархлааны хариу урвалаар IRF1 уураг идэвхжихэд вирусийн Core уургийн үйл ажиллагааг саатуулж байгааг харуулж байна.

IRF1 болон NS5A уургийн идэвхжилийн хамаарал

Нэг талаас анхдагч дархлааны хариу урвалыг илтгэгч IFN γ -аар өдөөгдөх IRF1 уургийн идэвхжил, нөгөө талаас вирусийн довтолгоог илтгэгч NS5A уургийн идэвхжилийн хамаарлыг үнэлэх зорилгоор уургийн нийлэгжлийн үр дүнг Image J программ ашиглан тоон утгад шилжүүлэн нэг хавтгайд үзүүлэв.

Гадны ямар нэг цочролгүй эс тайван байхад IRF1 болон NS5A уураг идэвхэждэггүй. NS5A плазмидаар трансфекци хийсэн макрофаг төст эсэд NS5A уургийн нийлэгжилт ихэссэн. Харин IFN γ нь NS5A плазмидаар идэвхжих NS5A уургийн нийлэгжлийг бууруулсан. Сонирхолтой нь NS5A плазмид дангаараа макрофаг төст эсэд IRF1 уургийг идэвхжүүлдэг (Зураг 29).

Вирусийн NS5A уураг идэвхжихэд эзэн эсийн өвөрмөц бус дархлааны IRF1 уургийн идэвхжил хамтдаа ихэссэн. Улмаар IFN γ -ийн нөлөөгөөр эзэн эсийн IRF1 уургийн идэвхжил тогтвортой хэвээр байсан бол вирусийн NS5A уургийн идэвхжил огцом буурсан. IFN γ -аар өдөөгдөх эзэн эсийн дархлааны хариу урвалыг (IRF1) NS5A плазмид улам нэмэгдүүлж байна. Вирусийн NS5A уургийн идэвхжилийг IFN γ нь дарангуйлж байна.



Зураг 29. IRF1 болон NS5A уургийн идэвхжилийн хамаарал

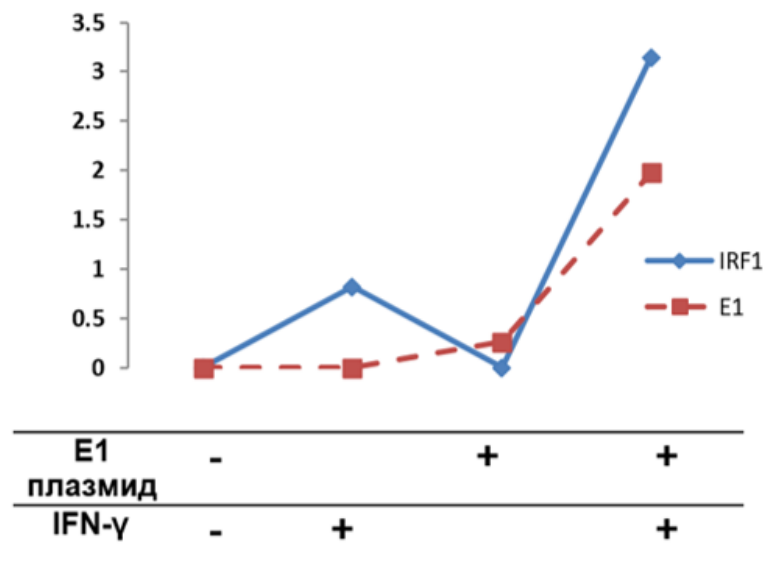
Тайлбар: Босоо тэнхлэгийн дагуу ImageJ-ийн тоон утга, туршилтын бүлэгт IRF1 болон NS5A уургийн идэвхжилийг харуулав. Image J программ ашиглан боловсруулсан тоон утгуудыг нэг хавтгайд дүрслэв.

IRF1 болон E1 уургийн идэвхжилийн хамаарал

Нэг талаас анхдагч дархлааны хариу урвалыг илтгэгч IFN γ -аар өдөөгдөх IRF1 уургийн идэвхжил, нөгөө талаас вирусийн довтолгоог илтгэгч E1 уургийн идэвхжилийн хамаарлыг үнэлэх зорилгоор уургийн нийлэгжлийн үр дүнг Image J программ ашиглан тоон утгад шилжүүлэн нэг хавтгайд үзүүлэв.

Гадны ямар нэг цочролгүй эс тайван байхад IRF1 болон E1 уураг идэвхэждэггүй. E1 плазмидаар трансфекци хийсэн макрофаг төст эсэд E1 уургийн нийлэгжилт ихэссэн. Харин IFN γ нь E1 плазмидаар идэвхжих E1 уургийн нийлэгжлийг улам ихэсгэсэн. E1 плазмидаар трансфекци хийсэн макрофаг төст эсэд IRF1 уураг идэвхэждэггүй. Сонирхолтой нь E1 плазмид нь дангаараа IRF1 уургийн нийлэгжлийг идэвхжүүлэхгүй хэдий ч IFN γ -аар өдөөгдөх IRF1 уургийн нийлэгжлийг хүчтэй нэмэгдүүлж байсан (Зураг 30). IFN γ -аар өдөөгдөх эзэн эсийн дархлааны хариу урвал (IRF1) нь E1 плазмидаар улам өдөөгдөж байгаа бол вирусийн E1 уургийн идэвхжил IFN γ -аар илүү нэмэгдэж байна.

Эдгээр үр дүнгээс харахад вирусийн довтолгоог илтгэгч Core, NS5A, E1 уураг нь анхдагч дархлааны хариу урвалын IRF1 уургийн идэвхжилд харилцан адилгүй нөлөөлж байна.



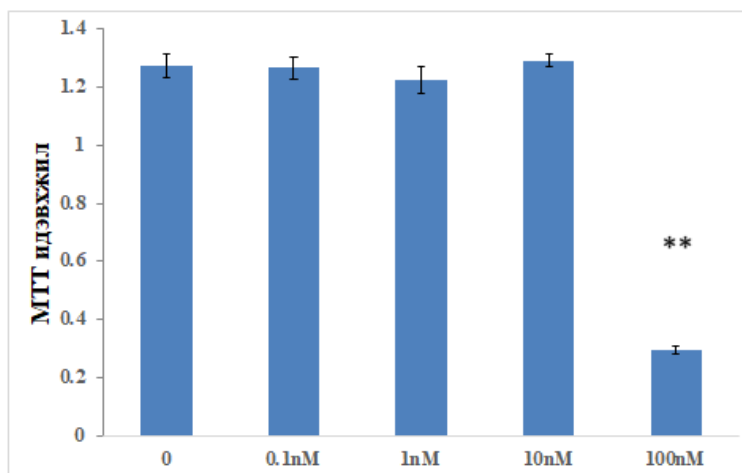
Зураг 30. IRF1 болон E1 уургийн идэвхжилийн хамаарал

Тайлбар: Босоо тэнхлэгийн дагуу ImageJ-ийн тоон утга, IFN γ -аар үйлчилсэн бүлгүүд дэхь IRF1 болон E1 уургийн идэвхжилийг харуулав. Image J программ ашиглан боловсруулсан тоон утгуудыг нэг хавтгайд дүрслэв.

3.13 1400W ингибиторийн эс хордуулах тунг MTT аргаар тодорхойлсон дүн

RAW264.7 эсэд 1400W ингибиторийн аль тун нь хоргүй болохыг эсийн амьдрах чадвар тодорхойлох шинжилгээгээр тодорхойлсон. RAW264.7 эсийн өсгөвөр дээр

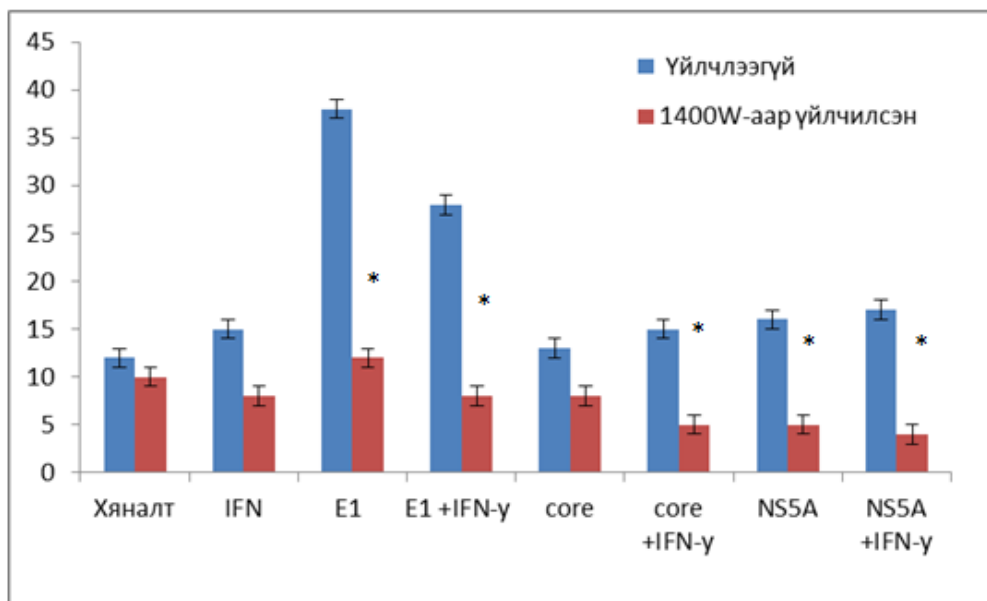
1400W-ийн таван тунгаар (0, 0.1nM, 1nM, 10nM, 100nM) 24 цаг үйлчилсэн. 1400W ингибиторийн 0, 0.1nM, 1nM, 10nM тунгууд эсийг хордуулахгүй байсан. Эдгээр тун нь эсийн амьдрах чадварт нөлөөлөхгүй бөгөөд 10nM тунг цаашдын судалгаанд ашигласан (Зураг 31).



Зураг 31. RAW264.7 эсэд 1400W уургийн эс хордуулах тунг MTT аргаар тодорхойлсон дүн

Тайлбар: Босоо тэнхлэгийн дагуу MTT-ийн идэвхжлийг, хэвтээ тэнхлэгийн дагуу 1400W уургийн тунг тус тус харуулав.* $p < 0.05$ үед статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай гэж тооцов.

3.14 IFN γ -аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцад 1400W уургийн нөлөө
IFN γ болон вирусийн уургуудаар өдөөгдөх азотын ислийн гарцад 1400W уураг хэрхэн нөлөөлөхийг тодорхойлохын тулд макрофаг эсийг Липофектамин 3000 ашиглан Core, E1, NS5A уургийн ген агуулсан плазмидаар тус тус трансфекци хийн 48 цагийн дараа 1400W-ийг 10nM тунгаар нэмж 18 цаг үйлчлэн Гриесс урвалжаар азотын ислийн гарцыг үнэлэв.



Зураг 32. IFN γ -аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцад 1400W ингибиторийн нөлөөг тодорхойлсон дүн

Тайлбар: Босоо тэнхлэгт нитритийн гарцыг, хэвтээ тэнхлэгт туршилтын бүлгүүдийг тэмдэглэв. Улаан өнгөөр 1400W уургаар үйлчилсэн бүлгүүдийг, цэнхэр өнгөөр үйлчлээгүй бүлгүүдийг тус тус харууллаа. * $p < 0.05$ үед статистикийн ач холбогдол бүхий ялгаатай гэж тооцов.

E1 уураг дангаар азотын дан ислийн гарцыг $38.0 \pm 2.1 \mu\text{M}$ хүртэл ихэсгэж байсан бол 1400W-аар үйлчилсэн бүлэгт $12 \pm 3.1 \mu\text{M}$ хүртэл бууруулж байсан. Харин NS5A, core уургаар үйлчилсэн бүлэгт азотын ислийн гарц хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад бага зэрэг ихэсгэх хандлага ажиглагдлаа. Гепатитын C вирусийн E1, core, NS5a уургуудаар өдөөгдсөн азотын дан ислийн гарц нь 1400W ингибитороор үйлчлэхэд статистикийн үнэн магадлалтайгаар буурч байлаа. Гепатитын C вирусийн E1, core, NS5a уургууд болон IFN γ -аар хам өдөөгдсөн азотын дан ислийн гарц нь мөн 1400W ингибиторийн нөлөөнд буурч байна (Зураг 32).

ДӨРӨВДҮГЭЭР БҮЛЭГ. ХЭЛЦЭМЖ

Бидний өмнөх судалгаанд HCV-ийн халдвар бүхий ийлдсээр халдварлуулсан шугаман эсийн загварт HCV нь IFN γ -ын дохио дамжилтыг STAT1 уургийн идэвхжил (pS727-STAT, pY701-STAT), iNOS уургийн болон генийн экспрессийн түвшинд, азотын дан ислийн гарцад тус тус саатуулах нөлөө үзүүлсэн. Тиймээс бид HCV-ийн бүтцийн болон бүтцийн бус уургуудыг сонгон авч, макрофаг эсэд трансфекци хийн IFN γ -ийн дохио дамжилт болон HCV-ийн уургийн харилцан үйлчлэлийг судаллаа. HCV-ийн Core, NS5A уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн дархлааны хариу урвалтай (iNOS) урвуу хамааралтай, харин E1 уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн дархлааны хариу урвалаар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжилтэй шууд хамааралтай байгаа нь вирусийн эсрэг дархлааны механизмийг өдөөхөд илүү үүрэгтэй байгааг тогтоолоо.

Гепатит С вирусийн халдвар (HCV) нь вируст гепатит, элэгний хатуурал ба элэгний эсийн хавдрын гол шалтгаан болдог. Эмчлүүлэгчдийн дархлааны хариу урвалыг нэмэгдүүлж, вирусийн эсрэг эмчилгээний идэвхийг улам нэмэгдүүлэх боломжтой. Мөн өнөө үед эмийн бодисын тэсвэржилт үүсэлтийг бууруулах боломжтой гэж үзэх болсон учраас интерфероны үйлчлэлийн механизмыг судлах судалгаа эрчимжих болов.¹² 1989 оноос хойш HCV-ийн геномын хэд хэдэн хувилбар бүртгэгдэж, 7 генотипын нуклеотидын дарааллыг тогтоогоод байна. HCV-ийн 1, 2, 3-р генотипын халдвар дэлхийн улс оронд түгээмэл тархсан. Үүнээс халдвартай хүмүүсийн 42.2%-д 1-р генотип, 30,1%-д 3-р генотип тодорхойлогддог.⁷³ Гепатит С вирусийн генотипыг тогтоох нь эмчилгээнд чухал ач холбогдолтой. 2, 3-р генотипын халдвартай өвчтөний эмчилгээний үр дүн 80% юмуу түүнээс их байгаа нь практик амьдралд зөвхөн HCV-ийн халдвар гэж онош тавих нь учир дутагдалтай байдаг. HCV-ийн геном нь бүтцийн болон бүтцийн бус 9 уургаас тогтох бөгөөд үүнд цөм уургаас (core) гадна E1, E2 (бүрхүүлийн гликопротеинууд), NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B орно.⁷⁴ Бид эдгээр уургаас Core, E1, NS5A уургийг сонгон судалсан. Core уураг нь РНХ-ийн нийлэгжлийг зохицуулдаг, вирусийн нуклеокапсидын бүтцэд оролцдог, РНХ холбогдох идэвхтэй бүтцийн үндсэн уураг юм. E1 уураг нь мембраны глюкозждог уураг.⁷⁵ Харин NS5A нь фосфоржиж эсийн мембранд холбогдох үүрэгтэй бүтцийн бус уураг юм.⁷⁶ Бид санхүү болон цаг хугацааны байдлаас хамааран, бусад судалгаа материалыг харгалзаж HCV-ийн геномын 9 уургаас зөвхөн гурван уургийг сонгон, гурван уургаас E1 уураг дээр IFN γ цитокиныг нэмэн судалсан. HCV-ийн нэг онцлог нь хувьсамтгай чанартай учраас удмын хувьд нэг төрлийн биш байдаг (quasispecies). Бүтцийн уургаас core уураг, бүтцийн биш уургаас NS5A хамгийн

тогтвортой нь юм. Харин бусад уурагтай харьцуулахад E1 уургийг IFN γ -ийн дохио дамжилттай холбон судалсан судалгаа ховор байсан. Тиймээс бид энэхүү гурван уургийг сонгон судалсан.

HCV-ийн халдварын эхэн үе дэх T эсийн хүчтэй, олон талын өвөрмөц хариу урвал нь вирусийг устгахад тус болдог байхад сул, төвлөрсөн хариу урвал нь халдварын тэсвэржилт үүсэхтэй холбоотойг тогтоожээ^{55,56}. Тиймээс элгэнд байрлах болон элэг рүү нүүдэллэн очих дархлааны эсүүд халдварлагдсан гепатоцит эсийг устгахаас илүүтэй IFN γ -г ялгаруулж цитолитик бус замаар вирусийн репликацийг хянадаг гэх таамаглалыг нэмэгдүүлж байна. HCV-ийн халдвараас эдгэрсэн сармагчнууд нь HCV-ийн халдвар тэсвэржсэн амьтнуудаас илүү их IFN γ ялгаруулсан байв⁵⁷.

Түүнчлэн HCV-ийн дахисан халдварын үед элэг шилжүүлэн суулгах реципиентээс давтан халдвар илрээгүй реципиент нь IFN γ -г илүү их нийлэгжүүлэх хандлагатай байжээ⁵⁸. 12-р хромосомын q24 дээр байрлах IFN γ -ийн ген нь ойролцоогоор 5400 х.н-аас тогтох ба 4 эксон болон олон тооны нэг нуклеотидын полиморфизм (SNP-Single nucleotide polymorphism) бүхий дарааллаас бүрдэнэ⁵⁹. Гэвч зөвхөн +874T/A, rs2430561 нэг нуклеотидын полиморфизм өргөн хүрээнд судлагдсан байна.

Энэхүү полиморфизм нь IFN γ генийн эхний интрон дахь трансляци эхлэх хэсэгт байрлах ба T аллель A аллелиар солигдоход үүснэ. TT генотипийн үед дархлааны систем идэвхжихэд IFN γ -ийн нийлэгжил их байдаг бол TA генотипууд нь IFN γ -ийн бага нийлэгжилтэй холбоотой гэж үздэг⁶⁰. CD4+ Th1, NK, CTL болон бусад лимфоцитаас ялгарах IFN γ нь T эсийн эс хордуулах нөлөөг нэмэгдүүлж, NK эсийн үйл ажиллагааг дэмжсэнээр эсийн дархлааны хариу урвалыг эрчимжүүлдэг. +874T/A полиморфизм нь IFN γ -ийн экспресст нөлөөлж, дархлааны хариу урвалын эрчимд нөлөө үзүүлдэг байна⁶¹.

Цаашилбал HCV/HIV хавсарсан халдвартай өвчтөнүүдэд HCV түргэн хугацаанд архаг халдвар руу шилждэг нь магадгүй HIV-аас шалтгаалан CD4+T эсийн тоо багасах эсвэл CD4+/CD8+ T эсүүдийн үйл ажиллагаа алдагдсантай холбоотойгоор IFN γ -ийн нийлэгжил буурдаг байж болох юм⁶². Эдгээр үр дүнгээс харахад IFN γ нь HCV-ийн халдварын эдгэрэлтэд чухал үүрэгтэйг харуулж байна.

HCV нь нуклеотидын түвшинд өөр хоорондоо 25-35% ялгаатай 7 генотипуудад хуваагддаг бол генотипууд нь өөр хоорондоо 15-25% ялгаатай 63 дэд хэв шинж болон ангилагдана⁶³. Бид судалгаандаа HCV-1a генотипийн Core, NS5A, E1 уургийг ашигласан билээ. Core болон NS5A уургийн геномын бүс дэх амин хүчлийн

полиморфизм нь олон тооны паталогийн үйл явц ялангуяа IFN эмчилгээнд хариу үзүүлэх байдал болон элэгний хорт хавдрын үүсэлт хөгжилттэй холбоотой билээ⁶⁴. Бусад генотиптэй харьцуулахад HCV-ийн генотип 1, 4, 5-ын халдварын үед интерферон эмчилгээний үр дүн бага байсныг тэмдэглэжээ⁶⁵. Манай судалгаанд Core болон NS5A уургийн экспрессийг IFN-ү бууруулсан байгаа нь HCV-ийн халдварын үед генотип болон дэд хэв шинж бүрд IFN эмчилгээний үр дүн ялгаатай байдаг нь HCV-ийн уургийн шинжээс хамаарч болох талтай. Бидний судалгаанд E1 уургийн үр дүнгүүд Core болон NS5A уургаас ялгаатай байв.

NK эсээс ялгарах IFNү нь макрофаг эсийг өдөөж NO-ийн ялгарлыг дэмжин цаашид NO нь вирусийн халдварын эсрэг өвөрмөц дархлааны хариу урвалыг эхлүүлэхэд оролцдог⁶⁶. Гэвч iNOS-ийн экспресс нь удаан хугацаагаар, их хэмжээний азотын дан исэл ялгарах нөхцөл болдог⁶⁷. iNOS нь IFNү өвөрмөц бөгөөд вирусийн эсрэг үйлдлийг хүчтэй үзүүлдэг ба HCV-ийн репликацийн мөчлөгийн хамгийн эхэн үе шатуудад оролцдог тул халдвар тэсвэржсэн үед үр нөлөө багатай байж болох юм гэж үзжээ.

Нөгөө талаас HCV-аар өдөөгдсөн мембраны дахин хувиарлалт нь тэсвэртэй халдварын үед iNOS-аас вирусийн репликацийн сайтыг хамгаалах үүрэгтэй ба NO-ийн гарц буурах эсвэл гаднаас NO-ийг оруулах аль аль нь тогтвортой HCV-ийн репликацид нөлөөлсөн байна. iNOS-ын транзиент HCV-ийн репликацид үзүүлэх нөлөө нь вирусийн репликацийн эхэн үе шатууд нь азотын дан исэлд илүү мэдрэгийг харуулжээ. Гэвч уг үйлдэл нь NO-р биш iNOS-ын өөр нэг үйлдлээр явагддаг гэж бичиж тэмдэглэсэн байна⁶⁸. iNOS уураг түүний бүтээгдэхүүн болох азотын дан исэл HCV-ийн репликацийн мөчлөгийн аль үе шатад хэрхэн оролцдог нь хараахан тодорхой болоогүй байгаа билээ. Бидний судалгаанд Core+IFN-ү, NS5A+IFN-ү, E1+IFN-ү бүлгүүдэд азотын дан исэл болон iNOS уургийн экспресс ихэссэн нь HCV-ийн халдварын үед вирусийн уургууд болон дархлааны хариу урвалаар өдөөгдөх хэт исэлдэлтийн бүтээгдэхүүн нь эд эсийн гэмтлийн шалтгаан болдог нь харагдаж байна.

Идэвхэжсэн макрофаг эсийн хэсэг газар ялгаруулах азотын дан исэл болон хэт исэлдэлтийн бүтээгдэхүүнүүд нь гепатоцит эсүүдийг үхэлд хүргэдэг. HCV-Core болон NS5A уургаар өдөөгдөж Купфер эсээс ялгарах хэт исэлдэлтийн бүтээгдэхүүн болон азотын дан исэл нь гепатоцит эсэд ДНХ-ийн гэмтлийг үүсгэх цаашлаад хавдрын үүсэлтийг өдөөдөг гэж үзжээ⁶⁹.

Түүнчлэн Core уураг экспресслэгч макрофаг эсийг Т лимфоцит эстэй холиход Т эсүүдийн олшрон дэмжих болон IFN γ -ийг нийлэгжүүлэх эффектор чанар нь буурсан байв⁷⁰. HCV-ийн архаг халдварын үед вирусийн (ийлдсийн HCV-Core уураг г.м) болон эзний (IFN γ , фагоцитозид ороогүй эндотоксинууд) хүчин зүйлүүд хавсран купферийн эс, макрофаг эсийн зохицуулгагүй, үргэлжилсэн идэвхжилийн шалтгаан болдог.

Ийнхүү идэвхжсэн Купферийн эс нь гепатоцит эсийг хэд хэдэн механизмаар устгах чадвартай байдаг. Купферийн эсээс ялгарах TNF- α нь Т эс хамааралт элэгний цочмог гэмтлийн маш олон загварууд дээр гепатоцит эсийг гэмтээдэг бол купфер эс FasL (Fas ligand)-ийг экспресслэх нь гепатоцит эсийн апоптозийг өдөөдөг болох нь тогтоогджээ⁷¹. Эдгээрээс үзэхэд макрофаг эс нь HCV-ийн халдварыг устгах болон элэгний эд эсийн гэмтэл аль алинд нь голлох үүрэгтэй оролцдог нь харагдаж байна.

Манай судалгааны үр дүнгээс харахад IFN γ нь HCV-ийн Core, NS5A уургийн экспрессийг бууруулсан нь IFN γ HCV-ийн PHX-ийн геномын болон суб-геномын репликацийг дарангуйлдаг¹² гэх үр дүнтэй нийцэж байна.

HCV вирусийн халдвар, азотын ислийн гарцын хамаарлын талаар Keigo Machida, Kevin T.H (2004) нарын судалгаанд Raji эсэд HCV-ийн бүтцийн бус уургууд нь азотын дан ислийн гарцад нөлөөлдөг ба HCV-ийн NS3, Core уураг азотын дан ислийн гарцад гол үүрэгтэй болон Core уураг нь (NF)- κ B-ээр дамжуулан iNOS генийн промоторыг идэвхжүүлж iNOS-ын экспрессийг нэмэгдүүлдэг. байна. Бидний судалгаанд Core уураг нь дангаараа iNOS уургийн экспрессийг хяналтын бүлэгтэй харьцуулахад илэрхий ялгаа ажиглагдаагүй нь туршилт хийгдсэн эсийн төрөл, плазмидын трансфекци хийсэн хэмжээнээс хамаарсан байж болох юм.

HCV-аар халдварлагдсан Huh.7 эсэд уургийн STAT1 болон P-STAT1 илрэл илэрхий буурч HCV, HCV Core/E1/E2 болон NS3-4A нь IFN α , β -аар идэвхжих STAT1 уургийн экспрессийг протеосом хамааралт задралаар дамжуулан бууруулдаг ба дархан тунадасжуулах аргаар зөвхөн Core уураг STAT1 уурагтай шууд холбогддогийг илрүүлжээ. Core уураг нь IFN-ий дохио дамжилтад оролцдог ISGF3-ын үйл ажиллагааг дарангуйлдаг SOCS3-ыг үүсэлтийг дэмжихэд оролцдог нь HepG2 эсэд ажиглагджээ. Харин бидний судалгаанд Core+IFN γ бүлэгт iNOS уургийн экспресс нэмэгдсэн буюу Core уураг IFN- γ -ийн дохио дамжилтад саатуулах нөлөө үзүүлээгүй гэж дүгнэж байна. Үүнээс харахад Core уураг нь эсийн төрлөөс хамаараад өөр өөр үйлдэл үзүүлдэг байж болох юм.

Харин хулганы элэгний эсэд хийсэн судалгаагаар Core уураг нь IFN γ -ын илрэлийг нэмэгдүүлж IFN γ -аар идэвхжих Jak/Stat дохио дамжилтыг дэмждэг болохыг

харуулжээ (Atsushi Hosui, Kazuyoshi Ohkawa et al.2004). Энэ нь манай судалгааны Core уураг IFN-γ-аар өдөөгдөх iNOS уургийн экспрессийг ихэсгэсэн үр дүнтэй дүйж байна.

CHL (хулганы элэгний эс) эсэд NS5A уургийг трансфекци хийхэд iNOS уураг илэрсэн бол цитокины холимгоор (IL-1b, TNFα болон IFNγ 250 UI/ml) нэмж үйлчлэхэд дээрхи 2 уураг хоёул дэмжих үйлдэл үзүүлж, iNOS-ын экспресс болон mPHX-ийн илрэлийг ихэсгэсэн. Манай судалгаанд NS5A уураг iNOS-ын экспрессийг өдөөгөөгүй ч IFN-γ-аар үйлчлэсний дараа iNOS-ын экспресс нэмэгдсэн нь дээрхи судлаачдын үр дүнтэй нийцэж байна.

Харин NS5A уураг нь E2 уурагтай хамтдаа PKR (protein kinase A)-тай холбогдох домайн агуулдаг учир PKR-ын идэвхийг дарангуйлдаг байж болохыг дурдсан ба энэ нь магадгүй цаашид PKR-аар идэвхжих NF-κB-ийн хэмжээнд нөлөөлж iNOS генийн экспресс буурах магадлалтай гэж тайлбарлажээ (Stacy M Horner, Michael Gale et al.2014).

Morris Paterson, Carl D. Laxton нар NS5A уургийн экспресс бага түвшинд байгаа тохиолдолд IFN-ыг дарангуйлах нөлөө ажиглагдаагүй ба эсийн өсгөвөр дэх вирусийн уургийн экспресс халдварлагдсан гепатоцит эсэд байдгаас өндөр байсан ч архаг халдварын үед NS5A уургийн экспресс нэмэгдэж, вирусийн репликаци явагддаг эсийн хэсгүүдэд уургууд төвлөрч, тэр хэсэг дэх IFN-ий вирусийн эсрэг үйлдлийг дарангуйлдаг байж болохыг дурджээ.

Туршилтын зарим системд вирусийн уураг нэг газар төвлөрөхөөс илүүтэй өргөн хүрээнд илэрдэг учир дарангуйлах нөлөөг ажиглахын тулд их хэмжээний уураг шаардлагатайг тэмдэглэсэн байна. IFN-α-ийн хувьд NS5A уураг нь IFN-ны дохио дамжилтыг саатуулахын зэрэгцээ NS5A агуулсан апоптозийн биенцэр нь моноцит эсүүдэд IL-10-ын ялгаралтыг ихэсгэж харин IL-12-ийг бууруулснаар NK эсийн үйл ажиллагааг саатуулжээ⁷².

E1 уураг нь HCV-ийн бусад уургуудтай харьцуулахад харьцангуй бага судлагдсан ба Keigo Machida, Kevin T.-H. Cheng нар E1 уураг нь RNS (Reactive nitrogen species) биш ROS (Reactive oxygen species)-ийг өдөөдөг гэж үзжээ. Сонирхолтой нь бидний судалгаанд E1 уураг нь дангаараа iNOS уургийн болон азотын ислийн гарцыг нэмэгдүүлж, түүнчлэн IFN-γ-аар өдөөгдөх iNOS-ийн экспрессийг улам нэмэгдүүлсэн нь уг уураг дархлааны хариу урвалыг дангаараа өдөөх чадвартай гэж үзэж байна.

HCV-ийн генотип болон дэд хэвшинж бүр нь IFN-д мэдрэг чанар нь өөр өөр байж болох ба зарим дэд хэвшинж нь сайтар судлагдаагүй хэвээр байгаагийн дээр HCV-ийн геномын тогтворгүй шинж чанараас үүдэн одоог хүртэл уг вирусийн эсрэг үр дүнтэй вакцин гараагүй байгаа билээ.

Хэдийгээр сүүлийн жилүүдэд HCV-ийн эсрэг эмчилгээ амжилттай хийгдэж байгаа ч HCV-ийн геномын гетероген чанар нь эмийн тэсвэржилт үүсгэх, суптип бүрийн геномын болон субгеномын цаашдын судалгаа шаардлагатай хэвээр байгаа гэж үзэж байна.

IFN эмчилгээнээс үүдэн HCV-ийн халдварын үед IFN- α , β түлхүү судлагдсан ба вирусийн уургийн экспрессийн хүрээ, судалгаанд ашигласан эсийн төрөл, аль хэлбэрийн IFN ашигласнаас шалтгаалаад үр дүн зөрүүтэй байж болох юм. Бид цаашдаа HCV-ийн уургийн ген агуулсан плазмидаар тун болон хугацаа хамааралтайгаар үйлчлэн IFN- γ -аар өдөөгдөх iNOS-ын илрэлийг үнэлэх болон IFN- γ -ийн дохио дамжилтын дээд молекул болох STAT1-ийн илрэл ба фосфоржилтыг үнэлснээр дээрхи уургууд IFN- γ -ийн дохио дамжилтад сонгомлоор нөлөөлж байгаа эсэхийг тодруулах боломжтой.

Гепатоцит эс халдварын үндсэн бай боловч макрофаг эс халдварт өртдөг талаарх олон судалгаа бий. *In vitro*, *in vivo* судалгаагаар микрогли эс, макрофаг эсийг гэмтээн цаашид HCV-ийн халдвар нь астрогли эс гэх мэт тархины эсэд халдвар тараахын тулд цус тархины хоригийг нэвтэрдэг байна. Мөн макрофаг нь удаан хугацаагаар амьдардаг эс бөгөөд энэхүү хугацааны туршид, HCV-ийн халдварын дараа ч HCV нь удаан хугацааны турш үйлдвэрлэгдээд зогсохгүй макрофаг нь T, B эс болон бусад ойролцоох эсүүдэд цитопатик нөлөөг үүсгэдэг.⁷⁷ Тиймээс HCV-ийн халдварын моноцит, макрофаг нь бусад эсэд халдвар дамжуулагч гэж үздэг учраас HCV-ийн халдварыг макрофаг эстэй холбон судлах нь маш чухал юм.

Бидний судалгаанд хулганы макрофаг төст эсийн өсгөвөрийг (RAW264.7) ашигласан бол HCV-ийн халдварыг Hela, Huh-7, HEPG2 эсийн өсгөвөр ашигласан олон судалгаа хэвлэгдэж байна. Тухайлбал, Miller K нар Хелла болон Huh7 шугаман эсийн өсгөвөрт өвөрмөц бус дархлаа (innate) тогтолцоо (интерферон зохицуулагч хүчин зүйл (IRF1), Jak-Stat болон iNOS-ийн зам болон Core уургийн хоорондын харилцан үйлчлэлийг судлав. Генотип 1b-ийн core уураг нь хүний IRF1 ба guanylate-холбох уураг-2 (GBP-2), IRF-1 мРНХ-г өдөөсөн боловч IRF3 фосфоржуултыг өдөөж чадаагүй. Мөн Core уураг нь хүний iNOS ферментийг дэмжиж, iNOS уургийг өдөөсөн ба HCV-ийн эмгэг жамд гол нөлөө үзүүлдэг гэсэн дүгнэлтэнд хүрсэн.⁷⁸ Мөн Jill

Pflugheber нарын судалгаагаар вирусийн бус бүтэц 5A (NS5A) уураг нь PKR-тай (protein kinase R) хамтарч, HCV-ийн репликацийн үед PKR-ийн dsRNA идэвхжилтийг зогсоосон. NS5A дангаараа IRF-1-ийн идэвхжил болон dsRNA-ээр IRF1 хамааралт эсийн идэвхжилийг дарангуйлахад хангалттай байна гэж үзсэн.⁷⁹ Харин бидний судалгаанд NS5A уураг нь дангаараа IRF1 транскрипцийн факторын идэвхжилийг өдөөсөн нь туршилт хийсэн эсийн өсгөвөр, плазмидийн генотипын ялгаанаас хамаарсан байж болох юм.

HCV халдвар нь iNOS-ийн экспрессийг өдөөж, NO-г хэт их идэвхжүүлж улмаар ДНХ-ийн гэмтэл, мутацийг нэмэгдүүлдэг гэж олон судлаачид үздэг⁸⁰ бөгөөд бидний өмнөх судалгаагаар энэхүү үр дүнг макрофаг эс дээр баталсан билээ. Гэсэн хэдий ч вирусийн репликаци дээр NO-ийн нөлөөг судлахын тулд илүү тооны судалгаа шаардлагатай.⁸² Machida K нарын судалгаагаар HCV халдвар нь iNOS-ийн идэвхжилийг өдөөн, NO-ийн процессыг өдөөж, улмаар ДНХ-ийн гэмтлийг үүсгэдэг, эсийн генийн мутацийг нэмэгдүүлдэг. Энэ замыг iNOS-ийн тусгай siRNA эсвэл iNOS ингибиторийн эмчилгээгээр зогсоож болно. Бидний судалгаанд HCV-ийн E1 уураг болон IFN γ -аар хам өдөөгдсөн макрофаг эсээс ялгарах азотын дан ислийн гарцанд 1400W iNOS өвөрмөц ингибиторийн нөлөөг судалж үзэхэд азотын дан ислийн гарц нь статистикийн үнэн магадлалтайгаар буурч байгааг илрүүлсэн. Энэ нь iNOS-ийг дарангуйлах нь HCV-ийн халдварын үед эдийн гэмтлийг бууруулах нэг боломж байж болохыг харуулж байна. Цаашилбал core, NS3 уураг нь дангаараа эдгээр дараалсан үйл явдлыг идэвхжүүлдэг. Тиймээс NS3, core уураг HCV-ийн эмгэг жам болон онкогенезд гол үүрэг гүйцэтгэдэг. E1 нь iNOS-ийн оролцоогүй механизмаар ДНХ-ийн гэмтлийг үүсгэдэг гэж дүгнэжээ.⁸⁰ Манай багийн судалгаагаар харин E1 нь IFN γ -ийн оролцоотойгоор IRF1 транскрипцийн факторын нийлэгжилтийг нэмэгдүүлсэн. Гэсэн хэдий ч HCV-ийн халдварын эмгэг жам ба онкогенез бусад уургуудаас хамааралтай байж болзошгүй.

Гепатит С вирус (HCV) нь дэлхий дахины эрүүл мэндийн аюул бөгөөд эмчилгээний сонголт хязгаарлагдмал байдаг. Интерферон нь вирусийн эсрэг үйл үйлдэлтэй үрэвслийн цитокин. Гэсэн хэдий ч HCV-ийн эсрэг халдварын үед IFN γ -ийн механизм тодорхойгүй хэвээр байна. Xin Wei, нарын үр дүнгээс харахад IFN γ нь HCV рецепторын тархалт болон CLDN1-ийн нийлэгжлийг зохицуулж HCV-ийн халдварыг дарангуйлдаг нь манай судалгааны ажлын үр дүнтэй дүйж байна.⁸³ Мөн бусад судалгаагаар HCV-ийн элэгний гэмтэлтэй холбоотой эмгэг жам нь вирусийн эсрэг дархлааны хариу үйлдэлтэй холбоотой гэж үздэг. IFN γ -аар өдөөгдсөн iNOS-ийг HCV-ийн архаг халдвартай өвчтөнүүдийн элэгний эдэд нэмэгддэг болохыг дурджээ.⁸⁴

Биед “дотоод” NO үүсэх нь L-аргинин NOS энзим исэлдсэний үр дүн гэдэг нь нэгэнт тодорхой учраас түүний хэт их үүсэхээс сэргийлэхийн тулд NOS-ийн саатуулагчийн загварыг боловсруулах, эмчилгээнд хэрэглэх нь чухал юм. Susana de Lucas нар HepG2 эсийн өсгөвөр дээр интерфероноор өдөөгдсөн вирусийн эсрэг генийн экспресст HCV-ийн Core уургийн нөлөөг судалсан.⁸⁵ HCV-ийн Core уураг нь ISGF3-г ISRE-тай холбох замаар IFN- α -аар өдөөгдсөн вирусийн эсрэг генийн хувирлыг дарангуйлдаг. Харин манай багийн судалгаагаар IFN γ -ийг ашигласан бөгөөд интерфероны төрлөөс хамааран ялгаатай үр дүн гарсан гэж үзэж байна.

Frese M, нар IFN γ нь уургийн нийлэгжилт, HCV-ийн PHX-ийн геномын болон субгеномын репликацийг дарангуйлдаг болохыг харуулсан.¹² Тэдний үр дүнгээр IFN γ 500 U/ml, 5000 U/ml-тунгаар HCV-ийн Core, NS3, NS5A, NS5B уургийг дарангуйлж байгаа нь IFN γ нь Core, NS5A-ийг дарангуйлж байгаа нь бидний судалгааны үр дүнтэй тохирч байлаа. Каназава нар IRF1 нь IRF-E/ISRE үйлдлээр HCV-ийн субгеномын түвшинд репликацийг хориглодог гэдгийг мэдээлсэн байна. Энэ нь вирусийн эсрэг дарангуйлагч ген байгаатай холбоотой юм. Үүний дотор тэд 2-5A синтетаза, PKR зэрэг вирусийн эсрэг үйл ажиллагаа явуулдаг ген, IL-12, IL-15 зэрэг иммуномодулятор цитокинууд мөн LMP2 антиген илчлэгч зэрэг чухал ач холбогдолтой ген илрүүлжээ.⁸⁶ Үүнээс харахад HCV-ийн репликацийн хүрээнд IRF1-ийг дарангуйлах нь шууд ба шууд бус механизмаар өргөн хүрээний бүтцийн дарааллыг бий болгодог. Гэсэн хэдий ч шинжилгээнд вирусийн PHX-ийн репликаци болон IRF1 хоёрын хооронд шууд хамаарал байхгүй гэж үзжээ.⁸⁶ Энэ нь бидний судалгааны үр дүнтэй дүйж байгаа юм.

HCV-ийн халдварт анх удаа өртсөн хүмүүст вирус өвөрмөц эсрэгбие үүсдэг. Үүссэн эсрэгбие хүний биеийг вирусээс бүрэн цэвэрлэж чадахгүй байгаа тохиолдол 70 орчим хувийг эзэлдэг нь халдвар авсан хүний дархлаа тогтолцоонд байна уу, халдварласан вирусийн хувьсах чадамжинд байна уу гэдгийг тайлбарлахад анагаах ухааны салбарын судалгаа чухал байсаар байна.⁸⁷ HCV-ийн генотип болон дэд хэвшинж бүр нь IFN-нд мэдрэг чанар нь өөр өөр байж болох ба зарим дэд хэвшинж нь сайтар судлагдаагүй хэвээр байгаагийн дээр HCV-ийн геномын тогтворгүй шинж чанараас үүдэн одоог хүртэл уг вирусийн эсрэг үр дүнтэй вакцин гараагүй байгаа билээ. Тиймээс макрофаг төст шугаман эсэд IRF1 транскрипцийн фактор, HCV-ийн зарим уургийн харилцан хамаарлыг судалсан нь эмчилгээний тактик боловсруулахад онолын мэдээлэл өгөх, вирусийн эсрэг шинэ эмийн бодис, вакцины суурь судалгаа болох боломж бүрдэж байгаа нь уг судалгааны давуу тал боллоо. Мөн сүүлийн жилүүдэд HCV-ийн эсрэг эмчилгээ амжилттай хийгдэж байгаа ч HCV-ийн геномын

гетероген чанар, эмийн тэсвэрт байдал нь ирээдүйд таамаглаагүй асуудлыг үүсгэж магадгүй учир суптип бүрийн геномын болон субгеномын цаашдын судалгаа шаардлагатай байна.

СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ДҮГНЭЛТ

1. HCV-ийн Core болон NS5A уургийн экспрессийг IFN γ дарангуйлсан нь IFN γ нь макрофаг эсэд вирусийн уургийн эсрэг үйлдэлтэйг харуулж байна. Харин HCV-ийн E1 уургийн экспрессийг IFN γ нэмэгдүүлсэн нь өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалыг эрчимжүүлж байна.
2. HCV-ийн E1 уураг нь дангаараа эзэн эсийн дархлааг (iNOS, NO) өдөөхийн зэрэгцээ IFN-аар идэвхжих дархлааны хариу урвалыг улам эрчимжүүлж байна. Харин NS5A уураг нь IRF1 транскрипцийн факторын идэвхжилийг өдөөсөн.
3. HCV-ийн Core, NS5A уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн дархлааны хариу урвалтай (iNOS) урвуу хамааралтай, харин E1 уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн дархлааны хариу урвалаар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжилтэй шууд хамааралтай байгаа нь вирусийн эсрэг өвөрмөц бус дархлааны механизмыг өдөөхөд илүү үүрэгтэй байна.
4. 1400W ингибитор нь IFN γ болон HCV-ийн E1 уургаар өдөөгдсөн азотын дан ислийн гарцыг макрофаг эсэд багасгаж улмаар HCV хамааралт эдийн гэмтлийг бууруулж байна.

HOM 3ҮЙ

1. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int.* Jan 2009;29 Suppl 1:74-81.
2. Baatarkhuu O, Kim DY, Ahn SH, et al. Prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus among apparently healthy individuals in Mongolia: a population-based nationwide study. *Liver Int.* Dec 2008;28(10):1389-1395.
3. Baatarkhuu O, Uugantsetseg G, Munkh-Orshikh D, et al. Viral Hepatitis and Liver Diseases in Mongolia. *Euroasian J Hepatogastroenterol.* Jan-Jun 2017;7(1):68-72.
4. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer.* Mar 1 2015;136(5):E359-386.
5. Horner SM, Gale M, Jr. Intracellular innate immune cascades and interferon defenses that control hepatitis C virus. *J Interferon Cytokine Res.* Sep 2009;29(9):489-498.
6. Soriano V, Peters MG, Zeuzem S. New therapies for hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis.* Feb 1 2009;48(3):313-320.
7. Bowen DG, Walker CM. Adaptive immune responses in acute and chronic hepatitis C virus infection. *Nature.* Aug 18 2005;436(7053):946-952.
8. Su AI, Pezacki JP, Wodicka L, et al. Genomic analysis of the host response to hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Nov 26 2002;99(24):15669-15674.
9. Rehmann B. Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cells and NK cells. *Nat Med.* Jul 2013;19(7):859-868.
10. Suthar MS, Ma DY, Thomas S, et al. IPS-1 is essential for the control of West Nile virus infection and immunity. *PLoS Pathog.* Feb 5 2010;6(2):e1000757.
11. Shoukry NH, Cawthon AG, Walker CM. Cell-mediated immunity and the outcome of hepatitis C virus infection. *Annu Rev Microbiol.* 2004;58:391-424.
12. Frese M, Schwarzle V, Barth K, et al. Interferon-gamma inhibits replication of subgenomic and genomic hepatitis C virus RNAs. *Hepatology (Baltimore, Md.).* Mar 2002;35(3):694-703.
13. Garcia JE, Puentes A, Suarez J, et al. Hepatitis C virus (HCV) E1 and E2 protein regions that specifically bind to HepG2 cells. *J Hepatol.* Feb 2002;36(2):254-262.
14. Schoggins JW, Wilson SJ, Panis M, et al. A diverse range of gene products are effectors of the type I interferon antiviral response. *Nature.* Apr 28 2011;472(7344):481-485.
15. Diesen DL, Kuo PC. Nitric oxide and redox regulation in the liver: Part I. General considerations and redox biology in hepatitis. *J Surg Res.* Jul 2010;162(1):95-109.
16. Atik E, Onlen Y, Savas L, Doran F. Inducible nitric oxide synthase and histopathological correlation in chronic viral hepatitis. *Int J Infect Dis.* Jan 2008;12(1):12-15.
17. Garcia-Monzon C, Majano PL, Zubia I, Sanz P, Apolinario A, Moreno-Otero R. Intrahepatic accumulation of nitrotyrosine in chronic viral hepatitis is associated with histological severity of liver disease. *J Hepatol.* Feb 2000;32(2):331-338.
18. Lake-Bakaar G, Sorbi D, Mazzocchi V. Nitric oxide and chronic HCV and HIV infections. *Dig Dis Sci.* May 2001;46(5):1072-1076.
19. Penin F, Dubuisson J, Rey FA, Moradpour D, Pawlotsky JM. Structural biology of hepatitis C virus. *Hepatology.* Jan 2004;39(1):5-19.
20. Romero-Brey I, Merz A, Chiramel A, et al. Three-dimensional architecture and biogenesis of membrane structures associated with hepatitis C virus replication. *PLoS Pathog.* 2012;8(12):e1003056.
21. Ma J, Chen T, Mandelin J, et al. Regulation of macrophage activation. *Cell Mol Life Sci.* Nov 2003;60(11):2334-2346.
22. Kolios G, Valatas V, Kouroumalis E. Role of Kupffer cells in the pathogenesis of liver disease. *World J Gastroenterol.* Dec 14 2006;12(46):7413-7420.
23. Taylor PR, Martinez-Pomares L, Stacey M, Lin HH, Brown GD, Gordon S. Macrophage receptors and immune recognition. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:901-944.
24. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol.* Jan 2003;3(1):23-35.
25. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol.* Jun 15 2000;164(12):6166-6173.
26. Blight K, Trowbridge R, Rowland R, Gowans E. Detection of hepatitis C virus RNA by in situ hybridization. *Liver.* Aug 1992;12(4 Pt 2):286-289.

27. Caussin-Schwemling C, Schmitt C, Stoll-Keller F. Study of the infection of human blood derived monocyte/macrophages with hepatitis C virus in vitro. *J Med Virol.* Sep 2001;65(1):14-22.
28. Falcon V, Acosta-Rivero N, Shibayama M, et al. HCV core protein localizes in the nuclei of nonparenchymal liver cells from chronically HCV-infected patients. *Biochem Biophys Res Commun.* Apr 22 2005;329(4):1320-1328.
29. Laskus T, Radkowski M, Adair DM, Wilkinson J, Scheck AC, Rakela J. Emerging evidence of hepatitis C virus neuroinvasion. *AIDS.* Oct 2005;19 Suppl 3:S140-144.
30. Revie D, Braich RS, Bayles D, et al. Transmission of human hepatitis C virus from patients in secondary cells for long term culture. *Virology.* Apr 19 2005;2:37.
31. Royer C, Steffan AM, Navas MC, Fuchs A, Jaeck D, Stoll-Keller F. A study of susceptibility of primary human Kupffer cells to hepatitis C virus. *J Hepatol.* Mar 2003;38(3):250-256.
32. Bartenschlager R, Penin F, Lohmann V, Andre P. Assembly of infectious hepatitis C virus particles. *Trends Microbiol.* Feb 2011;19(2):95-103.
33. Radkowski M, Bednarska A, Horban A, et al. Infection of primary human macrophages with hepatitis C virus in vitro: induction of tumour necrosis factor-alpha and interleukin 8. *J Gen Virol.* Jan 2004;85(Pt 1):47-59.
34. Fensterl V, Sen GC. Interferons and viral infections. *Biofactors.* Jan-Feb 2009;35(1):14-20.
35. Heim MH. Innate immunity and HCV. *J Hepatol.* Mar 2013;58(3):564-574.
36. Platanias LC. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nat Rev Immunol.* May 2005;5(5):375-386.
37. Paun A, Pitha PM. The IRF family, revisited. *Biochimie.* Jun-Jul 2007;89(6-7):744-753.
38. Jin D, Guo J, Wang D, et al. The antineoplastic drug metformin downregulates YAP by interfering with IRF-1 binding to the YAP promoter in NSCLC. *EBioMedicine.* Nov 2018;37:188-204.
39. Qiao JT, Cui C, Qing L, et al. Activation of the STING-IRF3 pathway promotes hepatocyte inflammation, apoptosis and induces metabolic disorders in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism: clinical and experimental.* Apr 2018;81:13-24.
40. Sun R, Ye L, Zhang M, et al. Prognostic significance of interferon regulating factor 4 in esophageal squamous cell carcinoma. *Biochemical and biophysical research communications.* Nov 30 2018;506(3):685-691.
41. Devaraju P, Mehra S, Gulati R, et al. The IRF5 rs2004640 (G/T) polymorphism is not a genetic risk factor for systemic lupus erythematosus in population from south India. *The Indian journal of medical research.* Jun 2018;147(6):560-566.
42. Rezaei R, Mahmoudi M. IRF7 gene expression profile and methylation of its promoter region in patients with systemic sclerosis. *Oct 2017;20(10):1551-1561.*
43. Carnero E, Barriocanal M, Segura V, et al. Type I Interferon Regulates the Expression of Long Non-Coding RNAs. *Frontiers in immunology.* 2014;5:548-548.
44. Hertzog P, Forster S, Samarajiwa S. Systems biology of interferon responses. *J Interferon Cytokine Res.* Jan 2011;31(1):5-11.
45. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J.* Sep 1992;6(12):3051-3064.
46. Jyoti A, Singh AK, Dubey M, et al. Interaction of inducible nitric oxide synthase with rac2 regulates reactive oxygen and nitrogen species generation in the human neutrophil phagosomes: implication in microbial killing. *Antioxid Redox Signal.* Jan 20 2014;20(3):417-431.
47. Thom SR, Bhopale VM, Milovanova TN, Yang M, Bogush M, Buerk DG. Nitric-oxide synthase-2 linkage to focal adhesion kinase in neutrophils influences enzyme activity and beta2 integrin function. *J Biol Chem.* Feb 15 2013;288(7):4810-4818.
48. Boissel JP, Ohly D, Bros M, Godtel-Armbrust U, Forstermann U, Frank S. The neuronal nitric oxide synthase is upregulated in mouse skin repair and in response to epidermal growth factor in human HaCaT keratinocytes. *J Invest Dermatol.* Jul 2004;123(1):132-139.
49. Dudzinski DM, Igarashi J, Greif D, Michel T. The regulation and pharmacology of endothelial nitric oxide synthase. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2006;46:235-276.
50. Chakrabarti S, Chan CK, Jiang Y, Davidge ST. Neuronal nitric oxide synthase regulates endothelial inflammation. *J Leukoc Biol.* Jun 2012;91(6):947-956.

51. Forstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. Apr 2012;33(7):829-837, 837a-837d.
52. Wahl SM, McCartney-Francis N, Chan J, Dionne R, Ta L, Orenstein JM. Nitric oxide in experimental joint inflammation. Benefit or detriment? *Cells Tissues Organs*. 2003;174(1-2):26-33.
53. Farlik M, Reutterer B, Schindler C, et al. Nonconventional initiation complex assembly by STAT and NF-kappaB transcription factors regulates nitric oxide synthase expression. *Immunity*. Jul 23 2010;33(1):25-34.
54. Wienerroither S, Rauch I, Rosebrock F, et al. Regulation of NO synthesis, local inflammation, and innate immunity to pathogens by BET family proteins. *Mol Cell Biol*. Feb 2014;34(3):415-427.
55. Chang KM, Thimme R, Melpolder JJ, et al. Differential CD4(+) and CD8(+) T-cell responsiveness in hepatitis C virus infection. *Hepatology*. Jan 2001;33(1):267-276.
56. Lechner F, Wong DK, Dunbar PR, et al. Analysis of successful immune responses in persons infected with hepatitis C virus. *J Exp Med*. May 1 2000;191(9):1499-1512.
57. Thimme R, Spangenberg HC, Von Weizsacker F, Blum HE. [T cell response to hepatitis B and C: from viral elimination to hepatocellular carcinoma]. *Dtsch Med Wochenschr*. Oct 25 2002;127(43):2277-2279.
58. Tambur AR, Ortegel JW, Ben-Ari Z, et al. Role of cytokine gene polymorphism in hepatitis C recurrence and allograft rejection among liver transplant recipients. *Transplantation*. May 27 2001;71(10):1475-1480.
59. Stark GR, Kerr IM, Williams BR, Silverman RH, Schreiber RD. How cells respond to interferons. *Annu Rev Biochem*. 1998;67:227-264.
60. Schena FP, Cerullo G, Torres DD, et al. Role of interferon-gamma gene polymorphisms in susceptibility to IgA nephropathy: a family-based association study. *Eur J Hum Genet*. Apr 2006;14(4):488-496.
61. Sun Y, Lu Y, Li T, et al. Interferon Gamma +874T/A Polymorphism Increases the Risk of Hepatitis Virus-Related Diseases: Evidence from a Meta-Analysis. *PLoS One*. 2015;10(5):e0121168.
62. Battegay M, Holdener M, Naef M, Wernli M. Human immunodeficiency and hepatitis C virus coinfection influenced by interferon-gamma. *Immunol Lett*. Mar 1 2000;71(3):141-142.
63. Zell R, Delwart E, Gorbalenya AE, et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Picornaviridae. *J Gen Virol*. Oct 2017;98(10):2421-2422.
64. Khaliq S, Latief N, Jahan S. Role of different regions of the hepatitis C virus genome in the therapeutic response to interferon-based treatment. *Arch Virol*. Jan 2014;159(1):1-15.
65. Tsukiyama-Kohara K, Kohara M. Hepatitis C Virus: Viral Quasispecies and Genotypes. *Int J Mol Sci*. Dec 22 2017;19(1).
66. Vahedi F, Lee AJ, Collins SE, et al. IL-15 and IFN-gamma signal through the ERK pathway to inhibit HCV replication, independent of type I IFN signaling. *Cytokine*. Jun 13 2018.
67. Karupiah G, Hunt NH, King NJ, Chaudhri G. NADPH oxidase, Nramp1 and nitric oxide synthase 2 in the host antimicrobial response. *Rev Immunogenet*. 2000;2(3):387-415.
68. Metz P, Dazert E, Ruggieri A, et al. Identification of type I and type II interferon-induced effectors controlling hepatitis C virus replication. *Hepatology*. Dec 2012;56(6):2082-2093.
69. Majano PL, Garcia-Monzon C. Does nitric oxide play a pathogenic role in hepatitis C virus infection? *Cell Death Differ*. Jan 2003;10 Suppl 1:S13-15.
70. Lee CH, Choi YH, Yang SH, Lee CW, Ha SJ, Sung YC. Hepatitis C virus core protein inhibits interleukin 12 and nitric oxide production from activated macrophages. *Virology*. Jan 5 2001;279(1):271-279.
71. Polakos NK, Cornejo JC, Murray DA, et al. Kupffer cell-dependent hepatitis occurs during influenza infection. *Am J Pathol*. Apr 2006;168(4):1169-1178; quiz 1404-1165.
72. Sene D, Levasseur F, Abel M, et al. Hepatitis C virus (HCV) evades NKG2D-dependent NK cell responses through NS5A-mediated imbalance of inflammatory cytokines. *PLoS Pathog*. Nov 11 2010;6(11):e1001184.
73. Zein NN. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13(2):223-235.

74. Shi ST, Lai MMC. HCV 5' and 3'UTR: When Translation Meets Replication. In: Tan SL, ed. *Hepatitis C Viruses: Genomes and Molecular Biology*. Norfolk UK: Horizon Bioscience.; 2006.
75. Kapoor A, Simmonds P, Gerold G, et al. Characterization of a canine homolog of hepatitis C virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(28):11608-11613.
76. Brandao R, Marcelino R. Characterization of NS5A and NS5B Resistance-Associated Substitutions from Genotype 1 Hepatitis C Virus Infected Patients in a Portuguese Cohort. *Apr 26 2018*;10(5).
77. Revie D, Salahuddin SZ. Role of macrophages and monocytes in hepatitis C virus infections. *World J Gastroenterol*. 2014;20(11):2777-2784.
78. Miller K, McArdle S, Gale MJ, Jr., et al. Effects of the hepatitis C virus core protein on innate cellular defense pathways. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*. Jul 2004;24(7):391-402.
79. Pflugheber J, Fredericksen B, Sumpter R, Jr., et al. Regulation of PKR and IRF-1 during hepatitis C virus RNA replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Apr 2 2002;99(7):4650-4655.
80. Machida K, Cheng KT, Sung VM, Lee KJ, Levine AM, Lai MM. Hepatitis C virus infection activates the immunologic (type II) isoform of nitric oxide synthase and thereby enhances DNA damage and mutations of cellular genes. *J Virol*. Aug 2004;78(16):8835-8843.
81. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*. Aug 1 2001;357(Pt 3):593-615.
82. Arzumanian V, Stankevicius E, Laukeviciene A, Kevelaitis E. *[Mechanisms of nitric oxide synthesis and action in cells]*: Medicina (Kaunas)2003.
83. Wei X, Jia ZS, Lian JQ, et al. Inhibition of hepatitis C virus infection by interferon-gamma through downregulating claudin-1. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*. Mar 2009;29(3):171-178.
84. Schweyer S, Mihm S, Radzun HJ, Hartmann H, Fayyazi A. Liver infiltrating T lymphocytes express interferon gamma and inducible nitric oxide synthase in chronic hepatitis C virus infection. *Gut*. Feb 2000;46(2):255-259.
85. de Lucas S, Bartolome J, Carreno V. Hepatitis C virus core protein down-regulates transcription of interferon-induced antiviral genes. *The Journal of infectious diseases*. Jan 1 2005;191(1):93-99.
86. Kanazawa N, Kurosaki M, Sakamoto N, et al. Regulation of hepatitis C virus replication by interferon regulatory factor 1. *Journal of virology*. Sep 2004;78(18):9713-9720.
87. Dustin LB. Innate and Adaptive Immune Responses in Chronic HCV Infection. *Curr Drug Targets*. 2017;18(7):826-843.
88. Richa Minhas, et al. Inducible nitric oxide synthase inhibitors: A comprehensive update. *Med Res Rev*. 2019;1–33.

ТАЛАРХАЛ

Монгол Улсын Боловсрол, Шинжлэх Ухааны Яам, Шинжлэх Ухаан Технологийн сангийн дэмжлэгээр “ Гепатитын С вирусийн халдварын шалтгаант элэгний эдийн гэмтэлд iNOS уургийн ингибиторийн нөлөөг тодорхойлох нь” сэдэвт суурь судалгааны төсөл (Гэрээний дугаар ШуСс-2018/39)-ийг хийж гүйцэтгэв. Судалгааг хийхэд гүн туслалцаа үзүүлсэн АШУҮИС-ийн ШУТГ, Био-Анагаахын сургуулийн Дархлаа судлалын тэнхим, Бичил амь судлал, Халдварын сэргийлэлт, хяналтын тэнхим, Био-анагаахын хүрээлэнгийн хамт олонд талархал илэрхийлье.

Хавсралт 1

БАТЛАВ.
БСШУСЯ-ны ТӨРИЙН НАРИЙН БИЧГИЙН
ДАРГЫН АЛБАН ҮҮРГИЙГ ТҮР ОРЛОН ГҮЙЦЭТГЭГЧ

Л.ЦЭДЭВСҮРЭН

СУУРЬ СУДАЛГААНЫ ТӨСӨЛ ХЭРЭГЖҮҮЛЭХ,
САНХҮҮЖҮҮЛЭХ ГЭРЭЭ

20¹⁸ оны 05 дугаар
сарын 15 ны өдөр

Дугаар... ШУС-2018/39

Улаанбаатар хот

Захиалагч: Боловсрол, Соёл, Шинжлэх ухаан, Спортын яамны ШУТБГ-ын дарга Д.Одгэрэл

Санхүүжүүлэгч: Шинжлэх Ухаан, Технологийн Сангийн захирал Д.Энхсаргал

Гүйцэтгэгч: АШУУИС-ийн ЭШХБ эрхэлсэн дэд захирал Б.Мөнхбат

/цаашид "талууд" гэх/, "Шинжлэх ухаан технологийн тухай" хууль, "Шинжлэх ухаан, технологийн төсөл хэрэгжүүлэх журам" /цаашид "журам" гэх/, БСШУС-ын сайдын 2018 оны 03 сарын 26-ны өдрийн А/136 тоот тушаалыг үндэс болгон "Гепатитийн С вирусийн халдварын шалтгаант элэгний эдийн гэмтэлд iNOS уургийн ингибиторийн нөлөөг тодорхойлох нь" нэртэй Л.Энхсайхан удирдагчтай суурь судалгааны төсөл /цаашид "төсөл" гэх/ хэрэгжүүлэх талаар харилцан тохиролцож энэхүү гэрээг байгуулав.

Нэг. Ерөнхий зүйл

- 1.1. Төслийг 2018 оны 05 дугаар сараас 2020 оны 12 дугаар сард багтааж гүйцэтгэнэ. (32сар)
- 1.2. Төслийн нийт эрдэм шинжилгээний зардал **40,000.0** мянган төгрөг.
- 1.3. Төслийн хүрээнд гүйцэтгэх ажлын дараалал, төслөөр гарах үр дүнгийн даалгаврыг 1 дүгээр, төслөөр гүйцэтгэх ажлын календарчилсан төлөвлөгөөг 2 дугаар, төслийн өртөг, зардал тохиролцсон тухай протоколыг 3 дугаар, төслийн картыг 4 дүгээр, эрдэм шинжилгээний зардлын задаргааны маягтыг 5 дугаар хавсралтын дагуу тус тус үйлдэж гэрээнд хавсаргав. Эдгээр хавсралт нь гэрээний нэг бүрдэл хэсэг болж гэрээний нэгэн адил хүчин төгөлдөр байна.
- 1.4. Шинэ бүтээлийн патент, бүтээгдэхүүний загвар, ашигтай загварын гэрчилгээ авсан, зохиогчийн эрхэд хамаарах бусад бүтээл бий болгосон тохиолдолд тухайн бүтээлийг ашиглах онцгой эрх болон зохиогчийн эрхтэй холбогдон үүссэн харилцааг Патентын тухай хууль, Зохиогчийн эрх болон түүнд хамаарах эрхийн тухай хууль, Иргэний хууль, Улсын төсвийн санхүүжилтээр гүйцэтгэсэн эрдэм шинжилгээ, туршилт, зохион бүтээх ажлын үр дүнд бий болсон оюуны өмчийг өмчлүүлэх эзэмшүүлэх журам ба энэхүү гэрээнд дурдсаны дагуу зохицуулах зарчим баримтална. Өөрөөр зохицуулах шаардлага гарвал талуудын хооронд нэмэлт гэрээ, хэлцэл байгуулж болно.
- 1.5. Төслийн санхүүжилтийн нийт зардалд төслийн хүрээнд хэрэгжүүлэх судалгаа, сорилт, туршилтын ажлын болон гүйцэтгэгчдийн цалин хөлс, томилолтын зардлыг хамруулна.
- 1.6. Төсөл хэрэгжүүлэх явцад түүний санхүүжилтийн хэмжээ, хугацаанд өөрчлөлт оруулах зайлшгүй шаардлага гарвал талуудын хооронд нэмэгдэл гэрээ хэлцэл байгуулна.
- 1.7. Төслийн журмын 6.4 -ийн 1-д заасан хэлбэрээр санхүүжүүлнэ.
- 1.8. Төслийн зардлаар бий болсон хөрөнгө /багаж, төхөөрөмж, техник хэрэгсэл, компьютер гэх мэт/-ийг төсөл дууссанаас хойш АШУУИС-ийн өмчид бүртгэж ашиглана.

Хоёр. Талуудын үүрэг

2. Үүрэг
 - 2.1. Захиалагч дор дурдсан үүрэг хүлээнэ:
 - 2.1.1. төслийн гүйцэтгэл, санхүүжилтийн байдалд байнгын хяналт тавьж, илэрсэн зөрчлийг арилгах арга хэмжээ авч хэрэгжүүлэх;
 - 2.1.2. төслийн гүйцэтгэгчийн үйл ажиллагаанд зохих дэмжлэг туслалцаа үзүүлэх;
 - 2.1.3. төслийн явцтай хагас жил тутам танилцаж байх;
 - 2.1.4. төслийн хэрэгжилтийн явцыг үндэслэн санхүүжилт олгох /зогсоох/ тухай албан ёсны саналыг хагас жил тутам санхүүжүүлэгчид ирүүлж байх;
 - 2.1.5. төслийн үр дүнг үнэлж, баталгаажуулах;

2.1.6. төслийн үр дүнг хүлээн авч түүнийг үйлдвэрлэл, үйлчилгээнд ашиглах арга хэмжээг шинжлэх ухаан, технологийн тухай хуулийн 17.5-д заасан хугацаанд авч хэрэгжүүлэх;

2.2. Санхүүжүүлэгч дор дурдсан үүрэг хүлээнэ:

- 2.2.1. төслийн гэрээнд заасан төсөвт зардлыг бүрэн олгох;
- 2.2.2. гэрээнд заасан хуваарийн дагуу төслийг хугацаанд нь санхүүжүүлэх;
- 2.2.3. төслийг санхүүжүүлэхдээ түүний хүрээнд гүйцэтгэх судалгаа шинжилгээ, сорилт туршилтын зардал болон судлаачдын цалин хөлсийг бүрэн тооцож байх;
- 2.2.4. төслийн хөрөнгө зардлын зарцуулалт, ашиглалтын байдалд санхүүжүүлэгчийн зүгээс хяналт тавьж, гарсан дутагдал, зөрчлийг тухай бүр арилгах арга хэмжээ авах;
- 2.2.5. төслийг хэрэгжүүлж дууссаны дараа санхүүгийн өр авлагын тооцоог бүрэн гүйцэд хийж барагдуулах;
- 2.2.6. хуульд заасан бусад үүргийг тодруулж заах.

2.3. Гүйцэтгэгч дор дурдсан үүрэг хүлээнэ:

- 2.3.1. төслийг хугацаанд нь багтааж бүрэн гүйцэтгэх, үр дүнг тоо, чанарын хувьд захиалсан түвшингээс нь бууруулахгүйгээр бүтээж бий болгох;
- 2.3.2. санхүүжилтийг зориулалтын дагуу үр ашигтай зарцуулах;
- 2.3.3. гүйцэтгэж буй төслийн үр дүнг сурталчилж байх, түүнийг нэвтрүүлэх буюу ашиглах аж ахуйн нэгж, байгууллагыг олох;
- 2.3.4. төслийн явцыг хагас жил тутам захиалагч, санхүүжүүлэгчид танилцуулж байх;
- 2.3.5. төслийн хөрөнгийн ашиглалтын талаар санхүүжүүлэгчийн шаардсан мэдээ, материалыг цаг тухайд нь гаргаж өгөх;
- 2.3.6. дууссан төслийн эрдэм шинжилгээний тайланг журмын 8.4.2-т заасны дагуу холбогдох байгууллагад цаг хугацаанд нь тайлагнаж хүлээлгэн өгөх;
- 2.3.7. төслийг хэрэгжүүлж дууссаны дараа санхүүгийн өр авлагын тооцоог журмын 9.1-д заасны дагуу бүрэн гүйцэд хийж барагдуулах.

Гурав. Талуудын эрх

3. Эрх

3.1. Захиалагч дор дурдсан эрх эдэлнэ:

- 3.1.1. төслийн гүйцэтгэл, үр дүн, түүний баталгаажуулалт, санхүүжилт, санхүүгийн үйл ажиллагаа зэрэг асуудлын талаар гүйцэтгэгчээс тухай бүр мэдээ, тайлан гаргуулж авах, гэрээний үүргийг биелүүлэх, зөрчил дутагдлыг арилгах талаар түүнд анхааруулах, шаардлага тавих;
- 3.1.2. гэрээний шаардлагыг хангаагүй үр дүнг хүлээж авахгүй байх, уг ажлыг дахин гүйцэтгүүлэх, эсвэл олгосон хөрөнгийг нөхөн төлүүлэх арга хэмжээ авах;
- 3.1.3. төслийн эрдэм шинжилгээний тайланг өмчлөх, бусдад ашиглуулах асуудлыг шийдвэрлэх;
- 3.1.4. захиалсан үр дүнд холбогдолгүй ажлыг төслийн хүрээнд гүйцэтгэж буй тохиолдолд уг ажлыг зогсоох тухай асуудлыг зохих журмын дагуу тавьж шийдвэрлүүлэх;
- 3.1.5. төслийн үр дүн нь хэрэгцээ шаардлагыг хангаахааргүй төлөвтэй байгаа тохиолдолд төслийн санхүүжилтийг зогсоох буюу шинэчлэх, гэрээг цуцлах асуудлыг зохих тавьж шийдвэрлүүлэх;
- 3.1.6. төсөл хэрэгжүүлэх явцад түүний санхүүжилтийн хэмжээг нэмэгдүүлэх /хорогдуулах/ зайлшгүй шаардлага гарвал уг асуудлыг санхүүжүүлэгчтэй хамтран боловсруулж, шинжлэх ухаан, технологийн асуудал хариуцсан төрийн захиргааны төв байгууллагад тавьж шийдвэрлүүлэх.

3.2. Санхүүжүүлэгч дор дурдсан эрх эдэлнэ:

- 3.2.1. төслийн гүйцэтгэл, үр дүн, түүний баталгаажуулалт, хөрөнгө зардлын зарцуулалт, ашиглалт зэрэг асуудлаар захиалагч /гүйцэтгэгч/-аас мэдээ, тайлан гаргуулж авах, гэрээний үүргийг биелүүлэх, зөрчил дутагдлыг арилгах талаар түүнд анхааруулах, шаардлага тавих, зохих дээд шатны байгууллагад мэдээлэх, асуудал боловсруулж шийдвэрлүүлэх;
- 3.2.2. санхүүгийн мэдээ, тайланг хожимдуулах, санхүүгийн үйл ажиллагааг буруу явуулах, хөрөнгө мөнгийг зориулалтын бус зүйлд зарцуулах, санхүүжилтийн бус шалтгаанаар төслийн хэрэгжилтийн явц удаашрах, төлөвлөсөн үр дүнд хүрээгүй тохиолдолд төслийн санхүүжилтийг шаардлагатай гэж үзвэл зогсоох санал тавих зэрэг арга хэмжээг авч зохих шатны байгууллагад мэдээлэх;
- 3.2.3. захиалагч төслийн үр дүнг хүлээн аваагүй тохиолдолд хохирлыг нөхөн төлүүлэх арга хэмжээ авах;

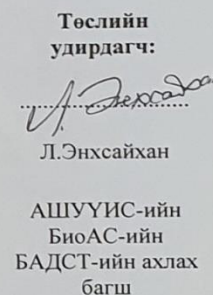
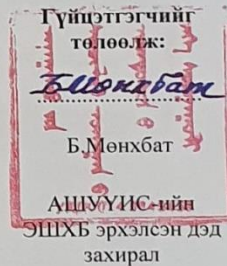
- 3.2.4. төслийн үр дүнгийн борлуулалт, нэвтрүүлэлтээс олсон орлого, ашгаас санд зохих хэмжээний шимтгэл авах замаар сангийн хөрөнгийг арвижуулах, өгөөж сайтай үр дүнг урамшуулах;
- 3.3. Гүйцэтгэгч дор дурдсан эрх эдэлнэ:
- 3.3.1. төслийн үйл ажиллагааны хүрээнд захиалагч, санхүүжүүлэгчээс удирдлага, зохион байгуулалтын хувьд зохих хэмжээний дэмжлэг туслалцаа авах;
- 3.3.2. төслийг гүйцэтгэх нөхцөл бололцоогоор бүрэн хангахыг шаардах;
- 3.3.3. захиалгаар бий болгосон үр дүн нь шинэ бүтээлийн патент авсан нөхцөлд захиалагчтай лицензийн гэрээ байгуулах үндсэн дээр тухайн үр дүнг ашиглах, эсхүл патент эзэмших эрхийг захиалагчаас зохих журмын дагуу шилжүүлж авах;
- 3.3.4. төслийн үр дүнгийн даалгаварт нэр заагдаагүй боловч төслөөр зайлшгүй хийгдэх ажлын хүрээнд бий болгосон бүтээл нь зохиогчийн эрхэд хамаарах тохиолдолд зохиогч этгээд тухайн бүтээлийнхээ хувьд эд хөрөнгийн бус амины болон түүнийг ашиглах онцгой /эд хөрөнгийн/ эрх эдлэх;
- 3.3.5. төслийн үр дүнг үйлдвэрлэл, хэрэглээнд ашиглах явцад зохиогчийн хяналт тавих;

Доров. Талуудын хүлээх хариуцлага

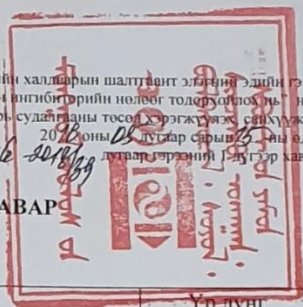
- 4.1. Гүйцэтгэгч, төслийн удирдагч нар гэрээний үүргээ биелүүлээгүй тохиолдолд захиалагч, санхүүжүүлэгч байгууллага нь энэхүү гэрээний 3.1.2, 3.1.4, 3.2.2, 3.2.3 заалтуудыг үндэслэж, хариуцлага тооцно.
- 4.2. Төсөл хэрэгжүүлж буй бүс нутагт ган, зуд болон байгалийн гэнэтийн аюул тохиолдсон, малын гоц халдварт өвчин гарсан зэрэг байгалийн болон биологийн эрсдэлийн улмаас төслийн явц удааширсан, хүрэх түвшин буурсан зэрэг хүндэтгэх шалтгааныг харгалзана.
- 4.3. Захиалагч, Санхүүжүүлэгч, Гүйцэтгэгч нар гэрээгээр хүлээсэн үүргээ биелүүлээгүй тохиолдолд Засгийн газрын 2014 оны 301 дүгээр тогтоолоор баталсан “Шинжлэх ухаан, технологийн төсөл хэрэгжүүлэх журам”-д заасны дагуу болон энэ гэрээний заалтуудын дагуу хариуцлага хүлээнэ.

Тав. Бусад зүйл

- 5.1. Төсөл хэрэгжүүлэх, санхүүжүүлэх, түүний үр дүнг баталгаажуулах, үнэлэх, хүлээлгэн өгөх, үр дүнг үйлдвэрлэл, хэрэглээнд шилжүүлэх, ашиглах, урамшуулах ажлыг холбогдох хууль тогтоомж болон шинжлэх ухаан, технологийн төсөл хэрэгжүүлэх журам, түүнд нийцүүлж гаргасан бусад дүрэм, журам, заавар, аргачиллын хүрээнд хийж гүйцэтгэнэ.
- 5.2. Энэхүү гэрээний эхийг 4 хувь үйлдэж гэрээлэгч талууд ба шинжлэх ухаан, технологийн асуудал эрхэлсэн төрийн захиргааны төв байгууллагад тус бүр нэг хувийг хадгалав.



"Гепатитийн С вирусийн халдварын шалтгаант элэгний эдийн гэмтэлд iNOS уургийн ингибиторийн нөлөөг тодорхойлох нь" гэгцтэй суурь судалгааны төсөл эзэмжүүлэх санхүүжүүлэх 2020 оны 05 дугаар сарын 05-ны өдрийн дугаар гэрээний 1-дүгээр хавсралт



ТӨСЛИЙН ҮР ДҮНГИЙН ДААЛГАВАР

/Техникийн даалгавар/

№	Төслөөр бий болох үр дүн	Тоо хэмжээ	Үр дүнгийн үзүүлэлт	Үр дүнг хүлээлгэн өгөх хугацаа (он, сар)
1	Эсийн өсгөвөрийн загварт гепатитийн С вирусийн халдвартай ийлдэс нь бүтцийн уургийн нийлэгжилд нөлөөлөх нөлөөг тодорхойлсон дүн (Эсийн амьдрах чадвар тодорхойлох шинжилгээ)	1	Эрдэм шинжилгээний илтгэл хэлэлцүүлэх	2018.12
2	Интерфороноор өдөөгдөх STAT1/iNOS /ISGs дохио дамжилтанд гепатитийн С вирусийн бүтцийн уургийн нөлөөг тодорхойлсон дүн (Азотын ислийн бүтээгдэхүүн тодорхойлох шинжилгээ)	1	Эрдэм шинжилгээний хуралд илтгэл хэлэлцүүлэх	2019.11
3	Гепатитийн С вирусийн бүтцийн уураг болон интерфероны харилцан үйлчлэлд iNOS ингибитор 1400W-ийн нөлөөг тодорхойлсон дүн (Иммуноблотийн шинжилгээ)	1	Эрдэм шинжилгээний өгүүлэл хэвлүүлэх (peer reveiwed олон улсын сэтгүүлд)	2020.11
4	Эсийн өсгөвөрт гепатитийн С вирусийн загвар үүсгэх (Эсийн өсгөвөрийн шинжилгээ)	1	Ашигтай загварын гэрчилгээ	2020.12
5	Эцсийн тайлан боловсруулж, үр дүнг хүлээлгэн өгөх	1	Эцсийн тайлан	2020.12 сард багтаана

Захлалачийг төлөөлж:

 Д.Одгэрэл
 БСШУСЯ-ны ШУТБГ-ын дарга
 УХА0148
 1116126429 9116621

Санхүүжүүлэгчийг төлөөлж:

 Д.Энхжаргал
 ШУТСангийн Захирал

Гүйцэтгэгчийг төлөөлж:

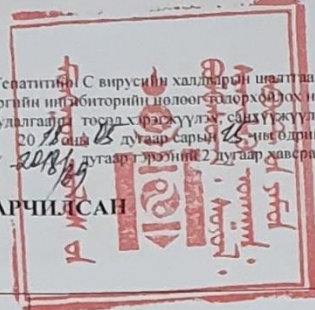
 Б.Мөнхбат
 АНШУУИС-ийн ЭШХБ эрхэлсэн дэд захирал

Төслийн удирдагч:

 Л.Энхсайхан
 АШУУИС-ийн БиоАС-ийн БАДСТ-ийн ахлах багш

"Генетикийн С вирусийн халдварын шалтгаанг эцсийн эдийн гэмтэлд iNOS уургийн шугамын нөлөөг судалж, тусгай суурь судалгааг төсөл хэрэгжүүлэх, санхүүжүүлэх зэрэгт 2019 оны 6 дугаар сарын 22-ний өдрийн дугаар эрхийн 2 дугаар хавсралт

**ТӨСЛӨӨР ГҮЙЦЭТГЭХ АЖЛЫН КАЛЕНДАРЧИЛСАН
ТӨЛӨВЛӨГӨӨ**
/Ажлын программ/



Дд	Төслийн хүрээнд гүйцэтгэх тодорхой үе шатны ажлын нэр	Эхлэх дуусах хугацаа (Он, сар)	Гүйцэтгэгчдийн овог, нэр, мэргэжил	Тухайн шатны үр дүн
2018 он				
1	Судалгааны ёс зүйн зөвшөөрөл авах	2018.05-06	Л.Энхсайхан	Судалгааг эхлүүлэх ёс зүйн зөвшөөрөл гарна
2	Мэдээллийн хайлт, боловсруулалт	2018.05-07	М.Батхишиг С.Долгорсүрэн	Өмнө нь хийгдсэн судалгааны тойм гаргана
3	Дархлааны хариу урвалын бүтээгдэхүүн (NO) үзэх	2018.07-09	М.Батхишиг С.Долгорсүрэн	ХСВ-ын уураг IFN (NO) -д нөлөөлөх үр дүнг тооцно
4	Трансформаци	2018.11-12	Ц.Билэгтсайхан М.Батхишиг	ХСВ-ын уургийг бактерийн өсгөвөр ашиглан олшруулна
5	Явцын тайлан бичих	2018.10-12	М.Батхишиг	Илтгэл хэлэлцүүлнэ, явцын тайлан хургуулна
2019 он				
1	Трансформаци	2019.01-02	Ц.Билэгтсайхан М.Батхишиг	ХСВ-ын уургийг бактерийн өсгөвөр ашиглан олшруулна
2	Трансфекци	2019.01-04	Ц.Билэгтсайхан М.Батхишиг	Трансфекци хийж, эсийг бэлдэнэ
3	Дохио дамжуулах механизмд оролцох уургуудийг (iNOS, Stat1) тодорхойлох	2019.04-06	Л.Энхсайхан Ц.Билэгтсайхан М.Батхишиг С.Долгорсүрэн	Интерфероны дохио дамжилтанд ХСВ-ын уургуудийн нөлөөг тодорхойлно
4	Явцын тайлан	2019.07-12	С.Долгорсүрэн	Илтгэл хэлэлцүүлнэ, явцын тайлан хургуулна.
2020 он				
1	1400W уургийг шинжлэх	2020.01-10	М.Батхишиг	Ашигтай загварын гэрчилгээ мэдүүлэг өгөх
2	Үр дүнгийн боловсруулалт	2020.10-12	Ц.Билэгтсайхан М.Батхишиг	Үр дүнг нэгтгэж 1 өгүүллэл хэвлүүлнэ (peer reveiwed олон улсын сэтгүүлд)
3	Эцсийн тайлан бичиж, үр дүнг хүлээлгэн өгөх	2020.11-12 сард багтаана	Л.Энхсайхан	Эцсийн тайлан

Захиалагчийг төлөөлж:
[Signature]
Д.Одгэрэл
БСШУСЯ-ны ШУТБГ-ын УХА0142 дарга 9116621

Санхүүжүүлэгчийг төлөөлж:
[Signature]
Д.Энхжаргал
ШУТСангийн Захирал

Гүйцэтгэгчийг төлөөлж:
[Signature]
Б.Мөнхбат
УХД0074 954459
АШУУИС-ийн ЭШХБ эрхэлсэн дэд захирал

Төслийн удирдагч:
[Signature]
Л.Энхсайхан
АШУУИС-ийн БиоАС-ийн БАДСТ-ийн ахлах багш

"Генитийн С вирусийн задаргааг илрүүлэхэд нийт гэмтэлд иNOS уургийн шилбэрийг тооцож тодорхойлох нь" нэртэй судалгааны төсөв хэрэгжүүлэх санхүүжүүлэх 2018 оны 12 дугаар сарын 28-ны өдрийн хуваарь гэрээний 3 дугаар хавсралт



ТӨСЛИЙН ӨРТӨГ, ЗАРДАЛ ТОХИРОЛЦСОН ТУХАЙ ПРОТОКОЛ

Төслийн өртөг, зардал, санхүүжилтийг дараах хэмжээ, хуваарь, нөхцөлтэйгээр харилцан тохиролцож энэхүү протоколыг 20... оны ... –р сарын ... –ны өдөр үйлдэв.

- Төслийн нийт эрдэм шинжилгээний зардал **40,000.0** мянган төгрөг.
 Үүнээс: Гэрээт ажилтнуудын ажлын хөлс **4,000.0** мянган төгрөг.
 Томилолтын зардал **3,600.0** мянган төгрөг.
 Эрдэм шинжилгээний зардал **32,000.0** мянган төгрөг
 Хяналтын зардал **400.0** мянган төг
 /Эрдэм шинжилгээний зардлыг нэмэлт маягтаар бөглөж хавсаргана/

Огноо	Санхүүжилтийн задаргаа /мян.төгрөг/				Нийт дүн /мян.төг/
	Гэрээт ажилтнуудын ажлын хөлс	Эрдэм шинжилгээний зардал	Томилолт	Хяналтын зардал /1%/	
2018	1,000.0	5,435.0	-	65.0	6,500.0
2019	1,600.0	17,200.0	1,000.0	200.0	20,000.0
2020	1,400.0	9,365.0	2,600.0	135.0	13,500.0
Дүн	4,000.0	32,000.0	3,600.0	400.0	40,000.0

2. Шинжлэх ухаан, технологийн сангийн хөрөнгийн батлагдсан хэмжээ, жилийн төсөв, төлөвлөгөө, төслийн явцын байдал, үр дүнгийн хэрэгжилттэй уялдуулан санхүүжилтийн хуваарьт жил бүр өөрчлөлт, тодотгол хийж болно.

Огноо	Нийт эрдэм шинжилгээний зардал /мян.төг/	Шинжлэх ухаан, технологийн сан /гүйцэтгэл хөтлөх/	Тайлбар
2018	6,500.0		
2019	20,000.0		
2020	13,500.0		
Дүн	40,000.0		

3. Тухайн төслийн үр дүнг гаргахад шаардагдах тоног төхөөрөмжийн жагсаалт, үнийн судалгааг зах зээлийн үнийг үндэслэн 3-н жилээр төлөвлөж протоколд хавсаргана.

4. Тухайн жилийн төсвийг зохиоходоо оны хуваарьт дурдсан зардлыг хавсралт 3-ын дагуу зардлын нэрээр ангилж, нарийвчлан тооцох ба төсвийн батлагдсан тооцоог тухай бүр энэхүү протоколд хавсаргана.

5. Төслийг санхүүжүүлэхдээ түүний хүрээнд гүйцэтгэх ажлын чиглэл, явц байдал, гарах үр дүнгийн онцлог зэргийг харгалзан ажлын тодорхой үе шатуудад санхүүжилтийн хэлбэрийг ялгавартайгаар сонгон тогтоож болох ба энэ тохиолдолд талууд тухай бүр харилцан тохиролцож нэмэлт тэмдэглэл үйлдэж энэхүү протоколд хавсаргана.

6. Энэ протокол ба түүнд хийсэн албан ёсны тодотгол, тооцоо нь төслийн эцэст санхүүгийн өр, авлагыг тооцоход баримтлах эрхийн үндэслэл болно.

Захиалагчийг
 төлөөлж:

 Д.Одгэрэл
 БСНУСЯ-ны
 ШУТБГ-ын ХА0148
 111612642 дарга 9116621

Санхүүжүүлэгчийг
 төлөөлж:

 Д.Энхжаргал
 ШУТСангийн
 Захирал

Гүйцэтгэгчийг
 төлөөлж:

 Б.Мөнхбат
 АШУУИС-ийн
 ЭШХБ эрхэлсэн дэд
 захирал

Төслийн
 удирдагч:

 Л.Энхсайхан
 АШУУИС-ийн
 БиоАС-ийн
 БАДСТ-ийн ахлах
 багш

"Гепатитийн С вирусийн халдварын шалтгаант элэгний эдийн гэмтэлд iNOS уургийн ингибиторийн нөлөөг тодорхойлох нь" нэртэй суурь судалгааны төсөл хэрэгжүүлэх санхүүжүүлэх 2018 оны 03 дугаар сарын 26-ны өдрийн Урьдчилсан гэрээний 3 дүгээр хавсралт



Төслийн карт

Төслийг баталсан тушаал, огноо: БСШУС-ын Сайдын 2018 оны 03 дугаар сарын 26-ны өдрийн А/136

Төслийн нэр: Гепатитийн С вирусийн халдварын шалтгаант элэгний эдийн гэмтэлд iNOS уургийн ингибиторийн нөлөөг тодорхойлох нь

Захиалагч байгууллага: БСШУСЯ
Гүйцэтгэгч байгууллага: АШУУИС
Хэрэгжүүлэх хугацаа: 2018-2020 он
Батлагдсан санхүүжилт : 40,000.0 мянган төгрөг

Гүйцэтгэгч байгууллагын:

- Нэр: АШУУИС
- Регистрийн дугаар : 5845459
- Дансны дугаар: 5107026874
- Банкны нэр: Хаан банк
- Хаяг: АШУУИС, С.Зоригийн гудамж, Ш/Х-48/111 Улаанбаатар хот 14210, Монгол Улс
- Вэб хуудас, И-мэйл хаяг: info@mnums.edu.mn, <http://mnums.edu.mn/>

Төслийн удирдагчийн:

- Нэр: Л.Энхсайхан
- Регистрийн дугаар: ЧР80022307
- Дансны дугаар: 5030004333
- Банкны нэр: Хаан банк
- Холбоо барих утасны дугаар: 89981001
- o Ажлын: факс :
- o Гар: 89981001
- И-мэйл хаяг: Enkhsaikhan@mnums.edu.mn

Гэрээний дугаар :

Урьдчилсан гэрээний 3 дүгээр хавсралт

Төслийн санхүүжүүлэгч :

ШУТСан

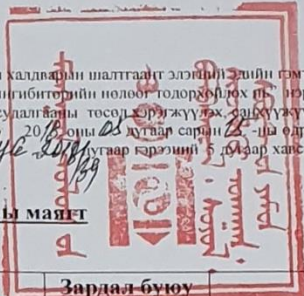
СБА-ын код:

18AA06CC301

Анхааруулга:

1. Санхүүжилтийг байгууллагын /удирдагчийн/ дансаар авах нөхцөлд суурь судалгааны төслийн удирдагчийн /гүйцэтгэгч байгууллагын/ данс, банкны нэрийг бичих шаардлагагүй.
2. Төслийн картанд регистрийн дугаар, дансны дугаар, банкны нэрийг зөв бичнэ үү. Буруу бичсэн тохиолдолд үүсэх хариуцлагыг бид хүлээхгүй болно.

"Гепатитийн С вирусийн халдварын шалтгаалт элэгний эсийн гэмтэлд iNOS уургийн ингибиторийн нөлөөг тодорхойлох нь" нэртэй суурь судалгааны төсөлд оржжүүлэх, зарцуулжүүлэх 2018 оны 05 дугаар сарын 25 -нд өдрийн хурлаар гэрээний 6 дугаар хансралт



Эрдэм шинжилгээний зардлын задаргааны маягт

Д/д	Эрдэм шинжилгээний зардлын задаргаа	Зардал буюу	
		төлөвлөлт /мян.төг/	Гүйцэтгэл
1	Гэрээт ажилтнуудын ажлын хөлс	4,000.0	
2	Гадны байгууллагаар хийж гүйцэтгүүлсэн ажил, үйлчилгээний төлбөр		
3	Мэдээлэл худалдан авах зардал		
4	Эрдэм шинжилгээний хурал, семинар, үзэсгэлэн зохион байгуулах зардал /эмхтгэл хэвлүүлэх, хурлын заалны түрээс, бичиг хэргийн зардал г.м/		
5	Гадаадын эрдэмтэн судлаачдыг Монголд байх хугацааны үйлчилгээний зардал		
6	Орчуулгын зардал		
7	Ном, бүтээлийн хэвлэлийн эх бэлтгэл		
8	Судалгааны ажлын тайлан бичихтэй холбогдсон зардал /бичиг хэрэг, хэвлүүлэх г.м/	300.0	
9	Социологийн болон хээрийн судалгааны зардал		
10	Дээж авчрах, шинжлүүлэх зардал		
11	Урвалж бодис худалдан авах зардал	30,000.0	
12	Туршилтын мал амьтан худалдан авах, устгаж аюулгүй болгох зардал		
13	Патентийн төлбөр/ тухайн судалгааны ажилтай холбогдох/		
14	Сэлбэг хэрэгсэл, лабораторийн хэрэгсэл худалдан авах зардал	200.0	
15	Ургамлын үр сорт худалдан авах зардал		
16	Микроорганизм, өсгөвөр худалдан авах зардал	1,500.0	
17	Гадаад, дотоодын томилолтын зардал	3,600.0	
18	Судалгааны тоног төхөөрөмжийн хэмжилт, суурилуулалт, засвар үйлчилгээний зардал		
19	Компьютерийн программ хангамж зохиох, худалдан авах, засвар үйлчилгээ хийлгэх зардал		
20	Олон улсын хурлын төлбөр /тухайн судалгааны ажилтай холбогдох/		
21	Хөдөлмөр хамгааллын зардал		
22	Гишүүнчлэлийн төлбөр		
23	Төслийн явц, үр дүнд хяналт шинжилгээ хийх зардал /1%/	400.0	
24	Туршилтын цех, үйлдвэрийн тоног төхөөрөмжийг худалдан авах зардал /өрийн өмчийн хорооны шийдвэр/		
	Дүн	40,000.0	

Захирал

Нягтлан бодогч

Төслийн удирдагч

Б.Мөнхбат

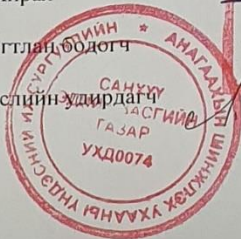
С.Ариунаа

Л.Энхсайхан

/ Б.Мөнхбат /

/ С.Ариунаа /

/ Л.Энхсайхан /



АНАГААХ УХААНЫ ЁС ЗҮЙН ХЯНАЛТЫН ХОРООНЫ ТОГТООЛ

2018 оны 10 дугаар сарын 05-ны өдөр

№80

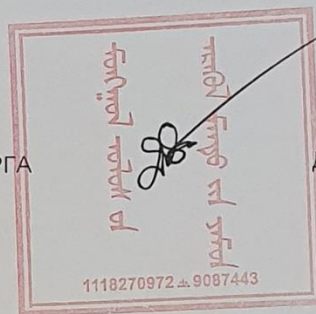
210648 Улаанбаатар хот
Сүхбаатар дүүрэг,
Олимпийн гудамж-2,
Засгийн газрын VIII байр,
Эрүүл мэндийн яам
Утас: 261845, Факс:323541

Анагаах ухааны ёс зүйн хяналтын хорооны 2018 оны 10 дугаар сарын 05-ны өдрийн 09 дүгээр хурлын тэмдэглэлийг үндэслэн ТОГТООХ нь:

1. "Гепатитийн С вирусийн халдварын шалтгаант элэгний гэмтэлд INO уургийн ингибаторын нөлөөг тодорхойлох нь" сэдэвт судалгааны ажлыг судлаач АУ-ны доктор Л.Энхсайхан нарын удирдлаган дор 2018-2020 онд багтаан хэрэгжүүлэхийг зөвшөөрсүгэй.
2. Судалгааны явцад тодорхой шалтгааны улмаас арга аргачлалд өөрчлөгдөх, гадаад орон луу сорьц тээвэрлэх, Хельсинкийн тунхаглалд туссан ёс зүйн асуудал хөндөгдсөн тохиолдолд анагаах ухааны ёс зүйн хяналтын хороонд мэдэгдэж, дахин хэлэлцүүлэхийг судалгааны багийнханд үүрэг болгосугай.
3. Судалгааны явцын болон төгсгөлийн тайланг эрдмийн зөвлөлөөр хэлэлцүүлэн анагаах ухааны ёс зүйн хяналтын хороонд ирүүлэхийг төслийн удирдагчид үүрэг болгосугай.
4. Судалгааны төгсгөлийн тайланг судалгаа дууссан хугацаанаас хойш 2 сарын дотор багтаан анагаах ухааны ёс зүйн хяналтын хороонд ирүүлэхийг төслийн удирдагчид үүрэг болгосугай.

ДАРГА

Д.ОЮУНЧИМЭГ





ЭРҮҮЛ МЭНДИЙН ЯАМНЫ
АНАГААХ УХААНЫ ЁС ЗҮЙН ХЯНАЛТЫН ХОРООНЫ
ТОГТООЛ

2023 оны 01 сарын 18 өдөр

Дугаар 23/006

Улаанбаатар хот

Судалгааг хаах дүгнэлт гаргах тухай

Анагаах ухааны ёс зүйн хяналтын хорооны 2023 оны 01 дүгээр сарын 18-ний өдрийн 23/02 дугаар хурлын протоколыг үндэслэн ТОГТООХ НЬ:

1. "Гепатитын С вирусийн халдварын шалтгаант элэгний эдийн гэмтэлд iNOS уургийн ингибиторын нөлөөг тодорхойлох нь" Шинжлэх ухаан технологийн суурь судалгааны төсөлт ажлыг судлаач, Анагаах ухааны доктор, дэд профессор Л.Энхсайханы удирдлаган дор 2018-2020 онд багтаан хийж гүйцэтгэсэн ба уг судалгааны ажил нь био анагаахын ёс зүйн удирдамжуудыг баримтлан ажилласан тул хаахыг зөвшөөрсүгэй.

ДАРГА

Д.ЦЭРЭНДАГВА

1118270372-9087443



АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛИЙН
ЭРДМИЙН ЗӨВЛӨЛИЙН ХУРЛЫН ТЭМДЭГЛЭЛ

2018 оны 06
сарын 28 өдөр

Дугаар 18/12

Улаанбаатар хот

Хурлыг 13.00-15.00-д Эрдмийн зөвлөлийн өргөөнд хийв.

Хурлын ирц:

Зөвлөлийн дарга АУ-ны доктор, профессор Г.Батбаатар
Зөвлөлийн орлогч дарга АШУ-ны доктор, профессор Б.Мөнхбат
Зөвлөлийн нарийн бичгийн дарга АУ-ны доктор, профессор О.Чимэдсүрэн
АШУ-ны доктор, профессор Д.Амгаланбаатар
АУ-ны доктор, профессор Г.Цагаанхүү
АУ-ны доктор, профессор Д.Малчинхүү
АУ-ны доктор, профессор Ж.Баасанхүү
БУ-ны доктор, профессор И. Пүрэвдорж
АУ-ны доктор, профессор Н. Сүмбэрзул
Академич, АШУ-ны доктор, профессор Ц.Лхагвасүрэн
Академич, ЭЗШУ-ны доктор, профессор Д.Дүнгэрдорж-ирээгүй
АШУ-ны доктор, профессор Т.Эрхэмбаатар
АШУ-ны доктор, профессор О.Сэргэлэн
АШУ-ны доктор, профессор Г.Отгон
АУ-ны доктор, профессор Х.Гэлэгжамц
АУ-ны доктор, профессор Л.Галцог
АУ-ны доктор, профессор Н.Пүрэвжав
АУ-ны доктор, профессор С.Цогтсайхан
АУ-ны доктор, профессор Н.Бира
АУ-ны доктор, профессор Д.Цэрэндагва
АУ-ны доктор, профессор Б.Хандсүрэн

Хурлын ирц: 95,4%.

Хурлыг АУ-ны доктор, профессор Г.Батбаатар нээж ирц, хэлэлцэх асуудал, хурлын дэгийг танилцуулан батлуулж хурлыг удирдав.

Хэлэлцсэн асуудал :

ОУ-ын хамтарсан болон БСШУСЯ-ы суурь судалгааны төслүүдийн аргачлалын хэлэлцүүлэг

СОНССОН НЬ:

Судалгааны төслүүдийн аргачлалыг удирдагч нар тус бүр 5 минутад багтаан танилцууллаа. Үүнд:

ОУ-ын хамтарсан төслүүдийн аргачлалыг танилцуулах 5 минут

- 1) "Вируст хепатит ба эдийн тохирооны их бүрдлийн 1-р ангийн генийн полиморфизмын хамаарлыг тогтоох нь", Удирдагч: АУ-ны доктор, дэд профессор Ч.Баттогтох
- 2) "Монгол оронд тархсан *H.pylori*-ийн хэв шинж, хэв шинж өвөрмөц уураг тодорхойлох судалгаа" Удирдагч: АУ-ны доктор, дэд профессор Ч.Баттогтох, АУ-ны доктор А.Аварзэд
- 3) "Тархи, элэг, уушгины бэтгийг молекул биологи болон серологийн шинжилгээгээр ялган оношлох судалгаа" Удирдагч: АУ-ны доктор Л.Энхсайхан

БСШУСЯ-ы суурь судалгааны төслүүдийн аргачлалыг танилцуулах 5 минут

- 4) "Гепатитийн С вирусийн халдварын шалтгаант элэгний эдийн гэмтэлд iNOS уургийн ингибиторын нөлөөг тодорхойлох нь" Удирдагч: АУ-ны доктор Л.Энхсайхан
- 5) "Хөөмийн эгшиг авиа үүсэхэд оролцох бүтэц, үйл зүйн судалгаа" Удирдагч: АУ-ны доктор Д.Нямдорж

Эрдмийн Зөвлөлийн гишүүд танилцуулсан материалтай холбоотой асуулт асууж хариулт авав.

Эрдмийн Зөвлөлийн гишүүд судалгааны ажилтай холбоотойгоор санал, дүгнэлтээ хэлэв (танилцуулсан асуудалтай холбоотой асуулт, хариулт, санал дүгнэлтийг хавсралтад хавсаргав).

Судалгааны төслүүдийн аргачлалыг дэмжиж дараагийн шатны хуралд хэлэлцүүлэхийг зөвшөөрөх томъёоллоор санал хураалт явуулахад гишүүдийн 100 хувийн саналаар дэмжив.

ШИЙДВЭРЛЭСЭН НЬ:

ОУ-ын хамтарсан болон БСШУСЯ-ы суурь судалгааны төслүүдийн аргачлал, судалгааны ажлын удирдагчдийг бүрэлдхүүн сургуулийн Эрдэмтэдийн зөвлөлийн хурлын шийдвэрийг үндэслэн батлахаар шийдвэрлэв.

Үүнд:

- 1) "Вируст хепатит ба эдийн тохирооны их бүрдлийн 1-р ангийн генийн полиморфизмын хамаарлыг тогтоох нь", Удирдагч: АУ-ны доктор, дэд профессор Ч.Баттогтох
- 2) "Монгол оронд тархсан *H.pylori*-ийн хэв шинж, хэв шинж өвөрмөц уураг тодорхойлох судалгаа" Удирдагч: АУ-ны доктор, дэд профессор Ч.Баттогтох, АУ-ны доктор А.Аварзэд
- 3) "Тархи, элэг, уушгины бэтгийг молекул биологи болон серологийн шинжилгээгээр ялган оношлох судалгаа" Удирдагч: АУ-ны доктор Л.Энхсайхан
- 4) "Гепатитийн С вирусийн халдварын шалтгаант элэгний эдийн гэмтэлд iNOS уургийн ингибиторын нөлөөг тодорхойлох нь" Удирдагч: АУ-ны доктор Л.Энхсайхан
- 5) "Хөөмийн эгшиг авиа үүсэхэд оролцох бүтэц, үйл зүйн судалгаа" Удирдагч: АУ-ны доктор Д.Нямдорж

ЭРДМИЙН ЗӨВЛӨЛИЙН ДАРГА
АНАГААХ УХААНЫ ДОКТОР, ПРОФЕССОР



Ч.БАТБААТАР

ЭРДЭМТЭН НАРИЙН БИЧГИЙН ДАРГА
АНАГААХ УХААНЫ ДОКТОР, ПРОФЕССОР

A handwritten signature in black ink, likely belonging to O. Chimedsuren.

О.ЧИМЭДСҮРЭН



АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛИЙН ЭРДМИЙН ЗӨВЛӨЛИЙН ХУРАЛДААНЫ ТЭМДЭГЛЭЛ

2022 оны 12 сарын 22 өдөр

Дугаар 05

Улаанбаатар хот

Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их Сургууль (цаашид АШУУИС гэх)-ийн Эрдмийн зөвлөлийн хуралдаан 2022 оны 12 дугаар сарын 22-ны өдрийн 14⁰⁰ цагт АШУУИС-ийн “Эрдмийн Өргөө” 220 тоот танхимд эхлэв.

Хуралдаанд ирвэл зохих 27 гишүүнээс эрдмийн зөвлөлийн гишүүн Академич, ЭЗШУ-ны доктор, профессор Д.Дүнгэрдорж хүндэтгэх шалтгааны улмаас, АУ-ны доктор, дэд профессор Ч.Баттогтох албан томилолтоор гадаадад ажиллаж байгаа тул тус тус чөлөө авч хураалдаанд 25 гишүүн оролцов. Хурлын ирц 92.6% байв. (Ирцийн хуудсыг хавсаргав)

Хуралдааныг АШУУИС-ийн Эрдмийн зөвлөлийн дарга АУ-ны доктор, профессор Н.Хүрэлбаатар нээж хэлэлцэх асуудал, хурлын дэгийг танилцуулан хуралдааныг удирдав.

ХЭЛЭЛЦСЭН АСУУДАЛ

БШУЯ-ны Шинжлэх Ухаан Технологийн сангийн болон АШУУИС-ийн дотоод санхүүжилтээр хэрэгжүүлсэн төслүүдийн үр дүнгийн тайланг хэлэлцэв.

СОНССОН НЬ

БШУЯ-ны Шинжлэх Ухаан Технологийн сангийн болон АШУУИС-ийн дотоод санхүүжилтээр хэрэгжүүлсэн дөрвөн төслийн үр дүнгийн тайлангийн хөндлөнгийн үнэлгээг ШУТГ-ын дарга Анагаах Ухааны доктор, профессор Д.Отгонбаяр 5 минутад багтаан танилцуулав.

Төслийн удирдагч тус бүр 5 минутад багтаан төслийн тайланг танилцуулав. Үүнд:

1. "БУЛЧИН ЧАНГАРЛЫН ҮЕИЙН БОТУЛИН ТОКСИН-А ТАРИЛГА ЭМЧИЛГЭЭНИЙ ҮР ДҮН, ЭМНЭЛЗҮЙН ТУРШИЛТ СУДАЛГАА" захиалгат төслийн тайланг удирдагч АУ-ны доктор, дэд профессор А.Балжинням
2. "ХЕПАТИТИЙН С ВИРУСИЙН ХАЛДВАРЫН ШАЛТГААНТ ЭЛЭГНИЙ ЭДИЙН ГЭМТЭЛД INOS УУРГИЙН ИНГИБИТОРЫН НӨЛӨӨГ ТОДОРХОЙЛСОН ДҮН" суурь судалгааны төслийн тайланг удирдагч АУ-ны доктор, дэд профессор Л.Энхсайхан
3. "Н.PYLORI-ИЙН ӨВӨРМӨЦ ЭСРЭГ БИЕ ИЛРҮҮЛЭХ ФЕРМЕНТ ХОЛБООТ ЭСРЭГ БИЕИЙН УРВАЛЫН ЦОМОГ ҮЙЛДВЭРЛЭХ ТЕХНОЛОГИ" төслийн тайланг удирдагч АУ-ны доктор, дэд профессор А.Аварзэд

4. “БАМБАЙН ШАЛТГААНТ НҮДНИЙ ЭМГЭГИЙГ ОНОВЧТОЙ ОНОШЛОХ МАРКЕРИЙГ ТОДОРХОЙЛОХ” төслийн тайланг удирдагч АУ-ны доктор, профессор Ж.Сарантуяа

ХЭЛЭЛЦСЭН НЬ

II. СЭДЭВ: “ХЕПАТИТИЙН С ВИРУСИЙН ХАЛДВАРЫН ШАЛТГААНТ ЭЛЭГНИЙ ЭДИЙН ГЭМТЭЛД iNOS УУРГИЙН ИНГИБИТОРЫН НӨЛӨӨГ ТОДОРХОЙЛСОН ДҮН”

АСУУЛТ, ХАРИУЛТ:

1. Асуулт: Анагаахын Шинжлэх Ухааны доктор, профессор Д.Цэрэндагва:

1. Танай багийнхан HCV уургийн нөлөөг тодорхойлох эсийн өсгөвөрийн судалгааны энэ ажлыг Монголд хийсэн үү?

2. АШУҮИС-ийн Био-Анагаах, молекул биологийн лабораторит хийж гүйцэтгэсэн үү? Хэрэв АШУҮИС-ийн Био-Анагаах, молекул биологийн лабораторийг түшиглэн хийсэн бол манай эрдэмтэн судлаачид маш их ахиж байгаа юм байна даа. Танай судалгааны багийнхан лабораторит хийж байгаа олон төсөлт ажлынхаа үр дүнг ашиглан цаашдаа эмийн бэлдмэл, шинэ бүтээгдэхүүн гаргах бололцоо бий юү?

Хариулт: Төслийн удирдагч Анагаах Ухааны доктор, дэд профессор Л.Энхсайхан:

1. Эдгээр эсийн өсгөвөрийн судалгааны ажлыг бүгдийг Монголд хийсэн. АШУҮИС-ийн Цөм лабораторийг түшиглэн хийсэн.

2. Одоо хэрэгжиж байгаа төсөлт ажлуудын эсийн өсгөвөр, амьтны туршилт судалгааг АШУҮИС-ийн Био-анагаахын хүрээлэнг түшиглэн хийж гүйцэтгэж байна. Энэ судалгаанд бакалавр, магистрын олон оюутан оролцож эсийн өсгөвөрийн загварыг ашигласан ажил АШУҮИС-д нутагшихад хувь нэмэр оруулсан. Манай судалгааны багийнхан лабораторит хийж гүйцэтгэж байгаа бусад төсөлт ажлынхаа үр дүнг ашиглан цаашдаа шинэ бүтээгдэхүүн, бэлдмэл, био-анагаах, био-информатикийн орон зайн бүтэц шинээр гаргах, оюуны өмч гаргах бүрэн бололцоотой.

2. Асуулт: Анагаах Ухааны доктор, профессор О.Баатархүү:

1. Танай судалгааны багийн хэвлүүлсэн өгүүлэлийн импакт фактор хэд вэ?

2. Гепатитийн С вирусийн халдварын тархалт манайд хэдэн хувь байна вэ?

Мөн 1b гепотип манай улсад хэдэн хувийг эзэлж байна вэ?

Хариулт: Төслийн удирдагч Анагаах Ухааны доктор, дэд профессор Л.Энхсайхан:

1. Манай судалгааны баг ажлын үр дүнг “Hepatitis C virus E1 protein enhances macrophage iNOS expression *in vitro*” сэдэвт өгүүллийг “BioRxiv” препринт байдлаар хэвлүүлээд, doi дугаар авсан. Импакт факторгүй сэтгүүл юм.

2. Гепатитийн С вирусийн халдварын тархалт манай улсад 11 хувь байна. Мөн 1b гепотипын тархалтын хувийг судлах нь манай судалгааны зорилго биш байсан учраас судлаагүй.

САНАЛ, ШҮҮМЖ:

1. Анагаах Ухааны доктор, профессор Г.Батбаатар:

Л.Энхсайхан, Ч.Гансүх нарын залуу судлаачид АШУҮИС-д эсийн өсгөвөр, амьтны туршилт судалгаа, био-информатикийг ашиглан суурь судалгааны ажлууд хийж байна. Эсийн өсгөврийн судалгааг АШУҮИС-д нутагшуулж байгаад залуучууддаа баяр хүргэе. Гадаад дотоодод хамгаалаад ирсэн залуу багш нар судалгааны ажлаа хийхэд санхүүгийн бэрхшээл үүсдэг, энэ талаар бид бүхэн дэмжин ажиллах нь зүйтэй. Энэ судалгааны төслийг хүлээн авахыг дэмжиж байна. Цаашдаа олон сайхан судалгааны ажлууд хийхийг хүсье, Амжилт хүсье залуучууддаа.

2. Анагаах ухааны доктор, профессор С.Цогтсайхан:

Энэ судалгаа нь гепатитийн С вирусийн тархалт, 1b гепотипийн тархалтыг тодорхойлж үзэх зорилт тавиагүй, харин эсийн өсгөвөрт гепатитийн С вирусийн уургийн нөлөөгөөр эсийн дохио дамжилт, iNOS зэрэг уургийн экспресс хэрхэн өөрчлөгдөж байгааг судалсан байна. RAW246.7 эсэд трансфекци, трансформаци хийгээд энэ ажлыг нутагшуулсан байна, дараа дараагийн ажлыг үргэлжлүүлэхэд суурь судалгаа болжээ. Судалгааны төслийг хүлээн авахыг дэмжиж байна.

3. Анагаах ухааны доктор, профессор Ж.Сарантуяа:

Энэ судалгааны үр дүнг бүрэн хүлээн зөвшөөрч байна. Био-анагаахын судалгаа их өвөрмөц байдаг. Нэг урвалж бодис захиалахад их удаж ирдэг, судалгааг хийхэд цаг хугацаа ордог. Био-анагаахын Эрдмийн зөвлөлөөр энэ төсөлт ажлын үр дүнгээр хамгаалсан бакалавр, магистр оюутны ажлыг олон удаа сонссон. Тиймээс судалгааны төслийг хүлээж авахыг дэмжиж байна. Амжилт хүсье.

4. АУ-ны доктор, профессор О.Баатархүү:

Судалгааны төслийг хүлээж авахыг дэмжиж байна. Суурь судалгааны ажлыг эмнэлзүйн судалгаатай холбон цаашид хамтарсан судалгааг хийх боломж гарч байна гэж үзэж байна. Судалгааны багт амжилт хүсье. Баярлалаа.

ШИЙДВЭРЛЭСЭН НЬ:

АШУУИС-ийн Эрдмийн Зөвлөлөөс гарах тогтоолын төслийг Эрдэмтэн нарийн бичгийн дарга, Анагаах Ухааны доктор, дэд профессор Б.Журамт танилцуулж /Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их Сургуулийн Эрдмийн зөвлөлийн үйл ажиллгааны журмын 3.2.2, Эрдмийн зөвлөлийн гишүүдийн ил санал хураалтын дүнг үндэслэн **“Хепатитийн С вирусийн халдварын шалтгаант элэгний эдийн гэмтэлд INOS уургийн ингибиторын нөлөөг тодорхойлсон дүн”** судалгааны төсөлт ажлыг биелүүлсэнд тооцож төслийн эцсийн тайланг хүлээлгэн өгөхийг төслийн удирдагч Анагаах Ухааны доктор, дэд профессор Л.Энхсайханд даалгасугай/ Эрдмийн зөвлөлийн гишүүдийн 100%-ийн саналаар батлав.

Хуралдаан 17 цаг 27 минутад дуусав.

ЭРДМИЙН ЗӨВЛӨЛИЙН ДАРГА
АУ-НЫ ДОКТОР, ПРОФЕССОР

Н.ХҮРЭЛБААТАР

ЭРДЭМТЭН НАРИЙН БИЧГИЙН ДАРГА
АУ-НЫ ДОКТОР, ДЭД ПРОФЕССОР

Б.ЖУРАМТ



**АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛИЙН ЭРДМИЙН
ЗӨВЛӨЛИЙН ГИШҮҮДИЙН ХУРАЛДААНЫ ИРЦ**

2022 оны 12 сарын 22-ны өдөр

Улаанбаатар хот

№	Албан тушаал, Цол зэрэг, Нэр	ИРЦ				
		Ирсэн	Өвчтэй	Чөлөө авсан	Хоцорсон	Тасалсан
Эрдмийн зөвлөлийн тэргүүлэгч гишүүд						
1	Эрдмийн зөвлөлийн дарга: АУ-ны доктор, профессор Н.Хүрэлбаатар	И				
2	Эрдмийн зөвлөлийн орлогч дарга: АУ-ны доктор, дэд профессор Б.Дамдиндорж	И				
3	Эрдмийн зөвлөлийн тэргүүлэгч гишүүн: АУ-ны доктор, дэд профессор Б.Журамт	И				
4	Эрдмийн зөвлөлийн тэргүүлэгч гишүүн: Академич, АШУ-ны доктор, профессор Ц.Лхагвасүрэн	И				
5	Эрдмийн зөвлөлийн тэргүүлэгч гишүүн: АУ-ны доктор, профессор Г.Цагаанхүү	И				
6	Эрдмийн зөвлөлийн тэргүүлэгч гишүүн: АУ-ны доктор, профессор Г.Батбаатар	И				
7	Эрдмийн зөвлөлийн тэргүүлэгч гишүүн: АШУ-ны доктор, профессор Д.Цэрэндагва	И				
8	Эрдмийн зөвлөлийн тэргүүлэгч гишүүн: АУ-ны доктор, профессор Х.Алтайсайхан	И				
9	Эрдмийн зөвлөлийн тэргүүлэгч гишүүн: АУ-ны доктор, профессор Я.Энхтөр	И				
Эрдмийн зөвлөлийн гишүүд						
10	Академич, ЭЗШУ-ны доктор, профессор Д.Дүнгэрдорж			Ч		
11	АШУ-ны доктор, профессор О.Сэргэлэн	И				
12	АУ-ны доктор, профессор С.Цогтсайхан	И				
13	АУ-ны доктор, профессор Л.Ганболд	И				
14	АУ-ны доктор, профессор Н.Сүмбэрзүл	И				
15	АУ-ны доктор, профессор Б.Амарсайхан	И				
16	АУ-ны доктор, профессор Э.Баярмаа	И				
17	АУ-ны доктор, профессор Г.Эрдэнэтуяа	И				
18	АУ-ны доктор, профессор Ж.Сарантуяа	И				
19	АУ-ны доктор, профессор О.Баатархүү	И				
20	АУ-ны доктор, профессор Д.Даваалхам	И				
21	АУ-ны доктор, профессор Ж.Энхцэцэг	И				
22	АУ-ны доктор, профессор Д.Цэнд-Аюуш	И				
23	АУ-ны доктор, профессор Л.Тулгаа	И				
24	АУ-ны доктор, профессор Д.Отгонбаяр	И				
25	АУ-ны доктор, дэд профессор Д.Мөнхбаатар	И				
26	АУ-ны доктор, дэд профессор А.Шийрэвнямба	И				
27	АУ-ны доктор, дэд профессор Ч.Баттогтох			Ч		



МОНГОЛЫН АНАГААХ УХААНЫ АКАДЕМИ

210620 Улаанбаатар хот, Сүхбаатар дүүрэг
Ерөнхий сайд А.Амарын гудамж-1
Утас: 976-11-265916, Факс: 976-11-450267
Электрон шуудан: info@nams.mn
Вэб хуудас: www.nams.mn

2023.03.31 № 003/23

танай _____-ны № _____-т

МОНГОЛЫН АНАГААХ УХААНЫ АКАДЕМИЙН ЧУУЛГАНЫ ХУРАЛДААНЫ ПРОТОКОЛ

ШУА-ийн төрөлжсөн академи Монголын Анагаах ухааны Академийн ээлжит чуулган энэ оны 3 дугаар сарын 31-ний өдөр болж, хуралдаанд тэргүүн дэд ерөнхийлөгч, академич Л.Лхагва, Н.Баасанжав, Д.Дүнгэрдорж, Б.Бурмаажав, Ч.Чимэдрагчаа, эрдэмтэн нарийн бичгийн дарга Д.Энх-Амгалан, МАУА-ийн гишүүн, анагаахын шинжлэх ухааны доктор, профессор Б.Дагданбазар, Г.Отгон, Н.Сайжаа, Р.Сандуйжав, Д.Цэрэндагва, профессор О.Баатархүү, Г.Батбаатар, Х.Гэлэгжамц, Б.Дагвацэрэн Р.Сандуйжав, Г.Цагаанхүү, Ч.Цолмон, Л.Цэрэндулам, О.Чимэдсүрэн, Т.Эрхэмбаатар, дэд профессор Ж.Оюунбилэг, эм зүйн ухааны доктор Д.Туяа нар оролцож, профессор Д.Баасанжав, Д.Бат-Очир, Д.Сэржээ, Л.Хүрэлбаатар нар өвчтэй, академич Ш.Болд, Р.Шагдарсүрэн, профессор С.Цэцэгмаа, анагаах ухааны доктор Ц.Содномпил нар гадаад томилолттой, академич Ц.Лхагвасүрэн, профессор А.Нота орон нутагт томилолтоор ажилласан, академич П.Нямдаваа, профессор Д.Амгаланбаатар, Ц.Бадамсэд, Б.Оргил, И.Пүрэвдорж, С.Сонин нар хурал давхацсан тул чөлөө хүссэн, профессор Х.Алтайсайхан, Н.Сүмбэрзул, Ц.Энхжаргал, Л.Эрдэнэбаяр нар зар хүргэсэн боловч хуралдаанд хүрэлцэн ирээгүй, ирвэл зохих гишүүдийн 83.4 хувийн ирцтэйгээр хуралдав.

Чуулганы хуралдаанд суурь судалгааны төслийн удирдагчид, судалгааны багийн гишүүд, дууссан суурь судалгааны төслийн тайланд хөндлөнгийн шинжээчээр ажилласан эрдэмтэд байлцав.

Хуралдааныг МАУА-ийн тэргүүн дэд ерөнхийлөгч, академич Л.Лхагва даргалав. Чуулганы хэлэлцэх асуудлын төлөвлөгөө, дэгийг танилцуулж батлуулав.

ХЭЛЭЛЦСЭН АСУУДАЛ:

1. Суурь судалгааны төслийн гүйцэтгэл, үр дүнгийн тайлан
2. Бусад асуудал

ХЭЛЭЛЦСЭН НЬ:

Нэгдүгээр асуудал: “Нярай, хөхүүл хүүхдийн дүлийрэл, сонсгол бууралтын эрт үеийн скрининг оношилгоо, эмчилгээ, хяналт, тандалтын тогтолцоо бий болгох нь” суурь судалгааны төслийн үр дүнг төслийн багийн судлаач Ч.Саруул танилцуулан хэлэлцүүлэв.

Суурь судалгааны төслийн тайлангийн хөндлөнгийн шинжээчээр АШУҮИС-ийн Анагаах ухааны сургуулийн чих, хамар хоолой судлалын тэнхимийн багш, анагаах ухааны доктор, дэд профессор Э.Жаргалхүү, АШУҮИС-ийн тус тэнхимийн багш, анагаах ухааны доктор П.Ганчимэг нар ажиллаж, шинжээчийн дүгнэлтийг танилцуулав.

АСУУЛТ, ХАРИУЛТ:

Доктор (Sc.D), дэд профессор Ж. Оюунбилэг,

Сонирхолтой сайхан судалгааны ажил байна. Дараах хэдэн асуулт байна.

1. Судлаач удамшлын өгүүлэмжтэй болон төрөлхийн шалтгаантай сонсгол бууралттай 5 хүүхдэд оношлогдсон гэж ярилаа. Энэ хоёр ямар ялгаатай вэ, хэрхэн оношилсон бэ?
2. Төслийн багийн судалгаагаар төрөлхийн сонсгол бууралт 0,23 хувьд илэрсэн байна. Гадаадад энэ үзүүлэлт 1000-д 2,3 байна. Тэгэхээр энэ үзүүлэлт Монголд бага байна гэсэн үг үү? Энэ талд дээр шинжээч ямар байр суурьтай байна бэ?

Хариулт: Төслийн багийн судлаач Ч.Саруул,

- Бидний судалгаа хийсэн хугацаа нь цар тахлын хатуу хөл хорионы үетэй давхцсан нь онош батлах шинжилгээнд хамрагдах хувьд нөлөөлсөн, энэ хувь 50 хувь байсан. 2021-2022 онд үзлэгт ирэх ёстой хүүхдүүд оношилгоонд хамрагдсан нь уг үзүүлэлтийг нэмэгдүүлнэ. Түүнчлэн судалгаанд микрооти буюу гадна, дунд чихний хөгжлийг хамруулаагүй нь бас нөлөөлсөн гэж хариулав.
- Бид сонсгол бууралтын шалтгааныг тодруулахдаа нярайн сонсгол судлалын нэгдсэн холбооноос зөвлөмж болгосон өндөр эрсдэлт хүчин зүйлсийг мөрдсөн ба үүнд удамшлын болон төрөлхийн гажгууд багтдаг. Судалгаанд оролцогчдод судалгааны карт бөглөсөн ба удамшлын өгүүлэмжийг авсан. Сонсголын генийн мутацийн шинжилгээ эмнэлзүйн салбарт нэвтрээгүйгээс удамшлын шалтгааныг эцэг, эхийн өгүүлэмжид тулгуурлан оношилсон. Түүнчлэн Э.Жаргалхүү докторын Тайваны үндэсний их сургуультай хамтран гүйцэтгэж буй генийн мутацийн судалгааны хүрээнд сонсгол бууралт илэрсэн хүүхэд бүрийг генийн мутаци илрүүлэх шинжилгээнд илгээсэн. Генийн шинжилгээ удаан хугацаанд хийгддэгээс зарим хүүхдийн хариу ирээгүй, хариу ирсэн дийлэнх хүүхдэд генийн мутаци илрээгүй. Төрөлхийн дүлий бусад төрөлх гажгуудтай хавсран тохиолдох нь элбэг байсан. Бидний тохиолдолд Дауны хам шинж, зүрхний болон уруул тагнайн төрөлхийн гажиг хавсран тохиолдож байсан.

Хариулт: Э.Жаргалхүү, доктор (Ph.D), дэд профессор,

2,3 гэдэг нь нэлээн нэмэгдэх магадлалтай гэж шинжээчийн хувьд харсан. Яг энэ удаагийн суурь судалгааны төслийн цуглуулсан өгөгдлөөс гарах боломжгүй учраас цаашид үргэжлүүлэн судлах нь зүйтэй юм. Батлах шинжилгээнд нийт хамрагдсан 70 мянган хүүхдээс 50 хувь нь хамрагдаж, 2 ба 3 дах шатны батлах шинжилгээнд ороогүй байгаа нь энэ тоо бага гарахад нөлөөлсөн гэж үзэж байна.

Г.Цагаанхүү, доктор (Ph.D), профессор

Судалгааны ажил нь том хүрээг хамарсан судалгааны ажил байна. 3 асуулт байна.

1. Нэр нь тохирч байгаа юм уу? Судалгаанд 12 сар хүртэлх хүүхдийг хамруулж судалсан гэж ярилаа, нярай хүүхдийн гэж нэрлээд байна, үүнийг тодруулна уу?
2. Нейросенсор дүлийрэлт юм, үүнийг мэдрэл мэдрэхүйн дүлийрэлт гэхээр монгол хэлнээ нэг л ойлгомжгүй болоод байна. Үүнийг оновчтой нэрлэх боломжийг эрэлхийлсэн үү?

3. Төрөлхийн болон удамшлын гаралтай дүлийрэлтэй тохиолдолд та нарын сонгосон эмчилгээний үр дүн ямар байсан бэ?

Хариулт: Төслийн багийн судлаач Ч.Саруул,

- Нэрийн хувьд бид хөхүүл хүүхдийн гэж нэмсэн. Учир нь нярай үед скрининг шинжилгээгээр илрүүлж оношлоод, цаашид дагаж судлан онош батлагдаж, эмчилгээнд хамрагдах тул нярай, хөхүүл хүүхдийн сонсгол бууралт, дүлийрэл гэж нэрлэсэн. Скрининг хийж буй тул нярай гэдэг нэрийг оруулсан болно.
- Бид тухайн нэршлийг сурах бичих, хэл томъёоны толиос авсан. Өөрөөр нэрлэх тал дээр судлаачийн зүгээс оролдлого хийгээгүй.
- Төрөлхийн болон удамшлын гаралтай дүлийрэлтэй буюу эцэг эх нь сонсдоггүй хүүхдүүдийн ихэнх нь дүлий, өөрөөр хэлбэл сонсголын үлдэцгүй байсан. Эдгээр хүүхдүүдэд сонсгол оруулах дунгийн суулгацын мэс засал заалттай байдаг. Хүндэвтэр зэргийн сонсголын бууралттай хүүхэдтэй харьцуулахад гарах үр харьцангуй бага, удаан хугацаанд гардаг.

Доктор (Ph.D), профессор Г.Цагаанхүү,
Яваандаа сайжирна гэсэн үг үү?

Хариулт: Төслийн багийн судлаач Ч.Саруул,

Сонсож сурах, авиаг ялгахад илүү урт хугацаа шаардагддаг. Эдгээр хүүхдүүдэд чамархай ясны компьютер томографт дотор чихний дунгийн бүтцийн гажгууд илэрсэн. Дотор чихний дунгийн бүтцийн гажигтай үед мэс заслын үр дүн гажиггүй тохиолдлоос муу байдаг.

Академич Д. Дүнгэрдорж,

Надад 5 асуулт байна:

1. Дэлгэрмаа, Ариунтуяа, Энхтуяа гэж судлаачид байна, хаана ажилладаг вэ?
2. Анагаахын шинжлэх ухааны доктор, профессор Б.Эрдэнэчулуун болон Б.Энхтуяа нарын судалгааны ажлаас ашигласан уу, ижил төстэй зүйл байсан уу?
3. Э.Жаргалхүү маш сайн эскперт хийсэн байна. Төслийн баг шүүмжийг урьдчилан уншиж судалсан уу? юуг нь авч хэрэгжүүлмээр санагдсан бэ?
4. Судалгааны ажлын өртөг хэд вэ?
5. Төсөвлөсөн санхүүжилт дутсан уу?

Хариулт: Төслийн багийн судлаач Ч.Саруул,

- Б.Дэлгэрмаа, ЭХЭМҮТ-ийн ЧХХМЗТ-ийн эрхлэгч, зөвлөх зэрэгтэй, хүүхдийн чих хамар хоолойн мэс заслын эмч ба судалгааг эмнэлзүйн талаас ахлаж ажилласан. Д.Ариунтуяа, ЭХЭМҮТ-ийн ХЗП-ийн сонсгол заслын их эмч, тэргүүлэх зэрэгтэй, уг судалгаанд судлаачаар ажилласан. Б.Энхтуяа эмч ЭМЖЖ эмнэлгийн чих хамар хоолой, сонсгол судлалын эмчээр ажилладаг.
- Профессор, Б.Эрдэнэчулуун багшийн гадна, дунд чихний хөгжлийн гажгийг судалсан Шинжлэх ухааны докторын ажлаас судалгааны арга зүйн талаас ашигласан. Тус ажилд нярайн сонсголын скрининг тусгагдаагүй, хамрагдсан хүүхдийн нас хөхүүл хүүхдээр хязгаарлагдаагүй байсан тул арга зүйд илүүтэй ашигласан. Б.Энхтуяа эмчийн судалгаа нь 0-5 насны Монгол хүүхдэд сонсголын дуудлагат потенциалын хэвийн үзүүлэлтийг тодорхойлсон ажил байсан бидний хувьд маш чухал байсан. Судалгааны онош батлах шатанд сонсголын дуудлагат потенциалын шинжилгээг үнэлэхдээ дээрх судалгаанаас гарсан үзүүлэлтүүдэд үндэслэсэн.
- Бид Э.Жаргалхүү багшийн шүүмжийг бүрэн уншиж танилцсан. Скрининг гэдэг нь шинж тэмдэггүй өвчнийг илрүүлэх арга учраас бид судалгаанаас чихний хөгжлийн гажиг буюу микротийг судалгаанд авах шалгуураас хассан байсан. Багшийн шүүмж,

саналыг хүлээн авч, цаашид микротийг хамруулан өргөжүүлэн судлахаар анхааралдаа авсан.

- Суурь судалгааны нийт төсөв 42 сая 200 мянган төгрөг.
- Төсвийг бүрэн зарцуулсан бөгөөд ерөнхийдөө төсөвт багтааж судалгааг гүйцэтгэсэн. Төсвийн дийлэнх хувь судалгааны материал бүрдүүлэхэд зарцуулагдсан байна.

Академич Б.Бурмаажав,

1. Судалгааны багаас та бүхний судалгаа суурь судалгаа мөн үү?
2. Хөндлөнгийн шинжээч, дэд профессор Э.Жаргалхүү тодруулж өгнө үү. Судалгааны үр дүнгийн дундаж хазайлт хэт их гарсан байна. Дүгнэлтдээ техникийн шинж чанартай гарсан тул судалгааны үр дүнд нөлөөлөхгүй засварууд байна гэжээ. Энэ хоёр хоорондоо хэр уялдаатай юм бол?
3. П.Ганчимэг доктороос асууя. Эмнэлзүйн кохорт болон тохиолдол хяналтын судалгаагаар суурь судалгааны ямар үр дүн гаргаж авах боломжтой вэ?

Хариулт: Төслийн багийн судлаач Ч.Саруул, Суурь судалгаа гэдэг нь онолын болон практикийн ач холбогдолтой шинжлэх ухааны шинэ мэдлэг бүтээдэг судалгааг хэлдэг. Судлаачдын багийн хувьд бидний хийсэн судалгаа практикийн ач холбогдолтой, дараагийн эмнэл зүйн судалгаануудын суурь болох тул суурь судалгаа гэж үзэж байна.

Хариулт: Доктор (Ph.D), дэд профессор, Э.Жаргалхүү,

- Олонлог хэт ойр хол байгаа нь зарим нэг асуумжийн хүснэгтүүдийн нэгжүүд жишээлбэл, дутуу төрсөн, удамшлын өгүүлэмжтэй зэрэг нь зайтай харагдаж байсан. Гагцхүү сонсгол бууралтыг судлах скринингийн AABR гол шинжилгээний хүснэгтэд олонлогийн зай ойрхон байсан тул техникийн чанартай гэж үзсэн.

Хариулт: доктор (Ph.D) П. Ганчимэг,

- Дүгнэлт гаргасан хүний хувьд энэ судалгааны ажлыг эмнэлзүйн ач холбогдолтой гэж дүгнэсэн. Бага насны хүүхдүүдийг хамруулсан судалгаа бидэнд байгаагүй. Чих хамар хоолойн салбарт хийгдсэн чихний, отологийн судалгаанууд дандаа эмгэгтэй холбогдсон, эмнэлзүйн судалгаанууд байсан. Энэ судалгаа нь дагаж судалснаар илэрч, оношлогдсон хүүхдүүдийг цаашид эрт үед нь эмчлэх боломжийг олгож байна. Түүнчлэн маш бага насны хүүхдүүдийн дундах сонсгол бууралт, дүлийрэлтийн тархалтыг тодорхойлсон ач холбогдолтой хэмээн үзсэн.

Өөр асуулт гараагүй тул гишүүд санал хэлэв.

САНАЛ, ШҮҮМЖ:

Академич Д. Дүнгэрдорж,

Дүлий, сонсохгүй байна гэдэг нь төвөгтэй асуудал юм. Тэднийг эмчилж, эдгэрүүлнэ гэдэг нь чухал, эрдэм шинжилгээний хийх ёстой, чухал ажил байна. Төсөв, санхүүгийн хувьд дөчин хоёр сая төгрөгийн санхүүжилтээр хийжээ. Э.Жаргалхүү доктор экспертийг сайн хийсэн байна. Төслийн багт баяр хүргэе, дэмжиж байна.

Доктор (Ph.D), профессор Г.Цагаанхүү,

Сонсголын талын асуудал хөндөх ёстой асуудал юм. Олон хүүхдийг хамруулж, тодорхой аргачлалаар, тодорхой үр дүн гаргасан судалгаа болжээ. Өмнө асуусан асуултын дагуу санал хэлье.

1. Төслийн сэдвийн хувьд залруулсан юм байна. Нярай, хөхүүл насанд гэх нь зөв гэж бодож байна.

2. Мэдрэл мэдрэхүйн дүлийрэл гээд байх юм, үүнийг мэдрэлийн гаралтай дүлийрэл гэвэл зохимжтой болно. Нейросенсорная тугоухость гэж ярьдаг, үүнийг мэдрэлийн гаралтай дүлийрэл гэж хэлэх нь зөв болно гэж үзэж байна.
3. Үр дүнгийн хувьд өвчлөлийн, төрөлхийн, олдмол гаралтай гэж ялгаж, үр дүнг гаргах нь цаашид судалгааг үргэлжлүүлэхэд хэрэгтэй гэж үзэж байна. Судлаач Ч.Саруул судалгааны үр дүнг ойлгомжтой танилцуулж байна. Судалгаа өргөн хүрээтэй, асуудлыг нэлээн шийдсэн чухал судалгаа болсон байна. Энэ судалгааны үр дүнгээр докторын ажил хийх бүрэн боломжтой судалгаа болжээ. Монголд практикийн хувьд ач холбогдолтой, онолын талаасаа ч чухал асуудлыг авч үзжээ. Төслийн тайланг хүлээж авах нь зүйтэй гэж үзээд, дэмжиж байна.

Доктор (Sc.D), дэд профессор Ж. Оюунбилэг,

Шинжээч зорилго, зорилтоо биелүүлсэн гэж дүгнэжээ. Судлаач асуултанд сайн хариулж байна. Б.Бурмаажав академичийн хэлж байгаа нь үндэслэлтэй. Төслийн баг цаашид суурь судалгааг хийх байх гэж бодож байна. Ямар мутаци нь 1,2 үедээ удамшиж цааш явж байгааг ч гэдэг юм уу. Бидний үзэж байгаагаар үнэмшилтэй гарч байна. Нэмэгдээд ч 15 хувиас хэтрэхгүй юм байна. Гадаадад энэ үзүүлэлт өндөр байна. Дандаа өөрсдийн зүйлийг муу гэж бодож болохгүй. Манай ард түмний мэдлэг агуу. Удамших аюулаас сэргийлдэг арга нь хүртэл мунадаг. Э.Жаргалхүү шинжээч өөрөө удамшлын судалгаа хийж байгаа, тэр судалгаагаар нэлээн баталгаатай үр дүн гарна гэж бодож байна. Төслийн багт амжилт хүсье. Суурь судалгааны төслийн тайланг хүлээж авах саналтай байна.

Академич Б.Бурмаажав,

Би 3 асуулт асуусан. Түүнийхээ дагуу ганцхан санал хэлье. Асуултын хариулт оновчтой байж чадсангүй. Төслийн баг, түүнчлэн хоёр хөндлөнгийн шинжээчийн хариулт хангалтгүй байна. Асуусан асуултыг та бүхэн багаараа сайтар бодож, дүгнэлт хийж ажиллаарай гэж хэлэх байна.

Хоёрдугаар асуудал: “Ургамлын цэцгийн тоосны харшлаар өвчлөх гадаад, дотоод хүчин зүйл, эмгэг жам, дархлаажих үзэгдэл зүй механизм, молекул биологийн үндэс, оношилгоо эмчилгээний онол, аргазүйн судалгаа” суурь судалгааны төслийн үр дүнг төслийн удирдагч, анагаахын шинжлэх ухааны доктор, профессор Б.Сангидорж танилцуулж хэлэлцүүлэв.

МАУА-ийн гишүүн, анагаахын шинжлэх ухааны доктор, профессор Н.Сайжаа, хөндлөнгийн шинжээчийн дүгнэлтийг танилцуулав. АШУУИС-ийн багш дэд профессор Логийн Наранцэцэг орон нутагт томилолтоор ажиллах болсон тул МАУА-ийн эрдэмтэн нарийн бичгийн дарга Д.Энх-Амгалан хөндлөнгийн шинжээчийн дүгнэлтийг танилцууллаа.

Суурь судалгааны төслийн удирдагч доктор, профессор Б.Сангидорж танилцуулж, төслийн хүрээнд технологийн заавар 4-ийг, 25 нэрийн бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэх Монгол Улсын стандарт 18-ыг батлуулж, 15 нэрийн бүтээгдэхүүний загвар гаргаж, 10 нэрийн оношлуурыг Монгол Улсын оношлуурын улсын бүртгэлд, харшлаас сэргийлэх шүршлэг аллерген, вакциныг Монгол улсын эмийн бүртгэлд бүртгүүлж, эмнэлгийн практикт нэвтрүүлсэн туршилт шинжилгээний ажлын үр дүнг тайлагнаж, гадаадад хэвлүүлсэн илтгэл 4, өгүүлэл 6, дотоодод хэвлүүлсэн илтгэл 4, хэвлэлд бэлтгэсэн гарын авлага 1, нугалбар танилцуулга 2, зурагт хуудас 2, аргачилсан зөвлөмж 2-ыг тус тус боловсруулсныг дэлгэрэнгүй танилцуулж хэлэлцүүлэв.

АСУУЛТ, ХАРИУЛТ

Академич Б.Бурмаажав,

1. Та анагаахын шинжлэх ухааны доктор уу, биологийн шинжлэх ухааны доктор уу? Эмнэл зүй, дархлаажих механизмын судалгаануудыг хэрхэн яаж хийсэн бэ?
2. Олон нэрийн бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэх технологи боловсруулж, стандарт батлуулсан байна, шинжилгээг яаж хийдэг вэ?

Хариулт төслийн удирдагч, профессор Б.Сангидорж,

- Би биологийн шинжлэх ухааны доктор юм. Төслийн багт мэргэжлийн олон эмч судлаачид ажилладгаас гадна ОХУ-ын Москва хотын Ард түмний найрамдлын их сургуулийн эрдэмтэд, профессорууд хамтран оролцож эмнэл зүйн судалгааг хийсэн.
- Төслийн баг оношилгоо, эмчилгээний өвөрмөц аллергенийг технологи стандартын дагуу бэлтгэж, өөрийн лабораторид шинжилдгээс гадна Монгол улсын хүнсний аюулгүй байдлын лавлагаа лаборатори, НЭМҮТ-ийн лабораториудаар хөндлөнгийн дүгнэлт гаргуулж ажилладаг.

Академич Л.Лхагва,

1. Улаанбаатар хотод шарилж хадах аян гэж явагдаж байна. Энэ хэр үр дүнтэй ажил вэ? Үүнийг хаанаас зохион байгуулж байна?

Хариулт төслийн удирдагч, профессор Б.Сангидорж,

Энэ ажлыг бид санаачлан хийлгэж, зөвлөн ажиллаж байна. Үр дүн сайтай харшил төрүүлэгч тоост шарилж, луулийн төрлийн ургамлыг цэцэглэж тоосоо гөвөхөөс нь өмнө 5-8см өндөртэй тодорхой үе шатаар хадаж, зүлэгт талбайн хэмжээнд байлгах арчилгааны энэ арга нь агаар дахь ургамлын тоосжилтыг багасгах, эрүүл ногоон орчин бий болгох, өвчлөлийг бууруулах, шимт хөрс бүрдүүлэх зэрэг ач холбогдолтой, үр дүнтэй ажил юм. Хотын төвийн зүлэгт талбай шарилжгүй болсон, гэр хорооллын хашаа, зарим аж ахуйн нэгжийн орчинд шарилж их байна.

Анагаах ухааны доктор, профессор Х.Гэлэгжамц,

- Ургамлын тоосны харшил ихсэж буйн шалтгаан хүнд байна уу, ургамалд байна уу?

Хариулт төслийн удирдагч, профессор Б.Сангидорж,

Өвчлөл жилээс жилд ихсэж залуужиж байна, хөрсний эвдрэл, бохирдлоос шалтгаалж шарилж болон бусад харшил төрүүлэгч тоост хөл газрын ургамал хүрээгээ тэлж, агаар орчны ургамлын тоосжилтын бохирдол болон бусад эрсдэл, олон хүчин зүйлийн нөлөөнд хэт мэдрэгших хүний тоо олширч, өвчлөл ихсэж байгаагийн шалтгаан ургамал ба хүн хоёрын аль алинтай нь холбоотой байна. Өөр асуулт гараагүй тул гишүүд санал хэлэв.

САНАЛ, ШҮҮМЖ:

Академич Д.Дүнгэрдорж,

Онол, практикийн ач холбогдолтой том ажил болжээ. Миний хувьд тайланг хүлээж авахыг 100% дэмжиж байна.

Академич Б. Бурмаажав,

Төслийн баг харшил, дархлал судлалын сайн эмч нартай юм байна. Тайланг хүлээж авахыг дэмжиж байна.

Доктор (ScD) профессор Т.Эрхэмбаатар,

Төслийн удирдагч Б.Сангидоржийн багийн олон жилийн судалгааны үр дүн юм байна. Төслийн зорилго, зорилтоо биелүүлсэн онол, практикийн ач холбогдол бүхий төслийн тайлан болсон байна, суурь судалгааны тайланг дэмжиж, хүлээн авах саналтай байна.

“Ургамлын цэцгийн тоосны харшлаар өвчлөх гадаад, дотоод хүчин зүйл, эмгэг жам, дархлаажих үзэгдэл зүй механизм, оношилгоо эмчилгээний онол, арга зүйн судалгаа” суурь судалгааны төслийн үр дүнг хүлээн авах талаар ил санал хураахад гишүүд санал нэгтэй дэмжив.

Гуравдугаар асуудал: “Гепатитын С вирусийн халдварын шалтгаант элэгний эдийн гэмтэлд iNOS уургийн ингибиторын нөлөөг тодорхойлсон дүн” суурь судалгааны төслийн үр дүнг төслийн удирдагч, анагаах ухааны доктор, дэд профессор Л.Энхсайхан танилцуулан хэлэлцүүлэв.

Суурь судалгааны төслийн тайлангийн хөндлөнгийн шинжээчээр НЭМҮТ-ийн зөвлөх, биологийн шинжлэх ухааны доктор, дэд профессор Ж.Оюунбилэг, Анагаах Ухааны хүрээлэнгийн эрдэмтэн нарийн бичгийн дарга, анагаах ухааны доктор Б.Батболд нар ажиллаж, шинжээчийн дүгнэлтийг танилцуулав.

Хурлын дарга, академич Л.Лхагва,

Төслийн шинжээч, дэд профессор Ж.Оюунбилэг хүлээж авах боломжгүй байна гэж үзэж байна уу?

Биологийн шинжлэх ухааны доктор, дэд профессор Ж.Оюунбилэг,

Би хоёр үндэслэлээр хэлж байна. Гепатитын С вирусийн халдварын шалтгаант элэгний эдийн гэмтэл гэж байгаа тул макрофаг эсийг бид элэгний эс гэж тооцох уу, тооцохгүй юм уу? Үүнийг академийн гишүүд өөрсдөө ярилцаж, шийдэх байх гэж бодож байна. Элэгний эс нь гепатоцит эс баймаар юм. Энэ төсөл нь жинхэнэ суурь судалгааны шинж чанартай судалгааны ажил мөн. Гэхдээ макрофаг эс дээр хийсэн нь учир дутагдалтай юм. Түүнчлэн 1400W саатлуур гэдэг нь гэнэтхэн гараад ирсэн хэвлэлийн тоймд ч байхгүй аргазүйд ч байхгүй хаанаас ямар саатлуур гараад ирсэн нь ойлгомжгүй байна.

Академич Л.Лхагва,

Дахин тодруулж асууя. Үүнийг тодруул гэсэн үг үү?

Биологийн шинжлэх ухааны доктор, дэд профессор Ж.Оюунбилэг

Тодруулж байж л энэ ажлыг ярих ёстой. Аль ч вирусийн халдварын үед өвөрмөц бус дархлаа нь өвөрмөц дархлаанд шилждэг учраас энэ сэдвийн хүрээнд хамааралтай биш гэж үзэж байна. Вирусийн кодлогч ген бүтцийн болон бүтцийн бус уургууд нь генотип болгонд өөр байна. Уг судалгаанд гепатитын С вирусийн уургийн 1b биш 1a генотипийг ашигласан бол илүү ач холбогдолтой байсан болов уу гэж үзэж байна. Хамгийн чухал нь нэр болон агуулгад зөрүү байна, дүгнэлт хэсэгт iNOS ингибиторын тухай дүгнэлт байхгүй байна. Харин 1400W ингибиторын тухай ганц 2 өгүүлбэр байна. Үр дүнгийн даалгаварт 1400W нөлөөг тодорхойлсон дүн дутуу байгааг дүйцүүлэх шаардлагатай, зарим нэр томъёог засаж сайжруулах шаардлагатай байна.

Академич Л.Лхагва,

Дэд профессор Ж.Оюунбилэг макрофаг эсийн тухайд энэ асуудлыг гишүүд шийднэ биз гэж хэллээ. Бид ийм асуудлыг шийдэхгүй. Тийм учраас хоёр шинжээч үндсэндээ татгалзсан хариу өглөө. Гэхдээ энэ ажлыг шүүмжийн дагуу засвар хийгээд дахиж хэлэлцэж болох юм гэсэн ерөнхий санал гарлаа, гишүүд ямар саналтай байна, саналаа хэлнэ үү.

Академич Д.Дүнгэрдорж,

Дэд профессор Л. Энхсайхан удирдаж, залуу судлаачдын баг судалгаа хийсэн байна. Төслийн үр дүнгийн тайланг хүлээж авахыг дэмжиж байна гэсэн санал хэлэв. Суурь судалгааны төслийг АШУҮИС-ийн цөм лабораторид хийж гүйцэтгэсэн судалгааны ажил юм, хүлээж авах хэрэгтэй.

Академич Л.Лхагва,

Д.Дүнгэрдорж багш хүлээж авах саналтай байна. Өөр ямар санал байна. Энэ төсөл нь суурь судалгааны амьсгал орсон ажил байна. Бид шинжлэх ухааны технологийн төсөл, инновацийн төсөл, суурь судалгааны төсөл, гарнт төсөл гэх хэдэн ангиллаар судалгаа хийж байна. БШУЯ аль хэр ялгаж таньдаг юм бол гэсэн бодол төрж байна. Манай шинжлэх ухааны төслүүдийг суурь судалгааны төсөл болгоод баталчихсан тэр мэргэдүүд шийддэг учраас бидэнд буруу байхгүй. Суурь судалгааны ажил нь молекулын түвшинд хийж, онолын шинэ мэдлэг бий болгодог ажил юм. Харин энэ төсөл суурь судалгааны шинжтэй төсөл байна. Иймд уг төслийн тайланг хүлээж авах нь зүйтэй юм гэсэн санал би өөрөө гаргаж байна. Ил санал хураахад дийлэнх нь дэмжив.

Академич Б.Бурмаажав ,

Зарчмын санал байна. Төслийн хөндлөнгийн шинжээчийн хэлсэн дагуу засварыг хийж сайжруулаад хэлэлцэх саналтай байна.

Эрдэмтэн нарийн бичгийн дарга Д.Энх-Амгалан,

Суурь судалгааны төслийн баг хөндлөнгийн шинжээчдийн дүгнэлт саналын дагуу засвар хийж чамбай сайжруулан дахин хэлэлцүүлэх саналтай байна.

Анагаах ухааны доктор, профессор Г.Цагаанхүү,

Зарчмын санал байна. Бага зэргийн л засвар байна. Энэ бага зэргийн засварыг хийж, эрдэмтэн нарийн бичгийн дарга хянаж, төслийн тайланг академийн чуулганаар дахин хэлэлцүүлэхгүйгээр хүлээж авах санал гаргаж байна.

Академич Л.Лхагва,

Сайхан санал байна, хоёр хөндлөнгийн шинжээчийн саналын дагуу засвар хийж, эрдэмтэн нарийн бичгийн дарга хянаж, хөндлөнгийн шинжээчид сайтар хянаж ажиллан, дахин чуулганаар хэлэлцэхгүйгээр төслийн тайланг хүлээж авахаар санал хураав. Гишүүдийн дийлэнх нь дэмжиж суурь судалгааны төслийн тайланг хүлээн авахаар тогтов.

Чуулганы хуралдааныг 17:10 цагт дуусгаж, хуралдааныг хаав.

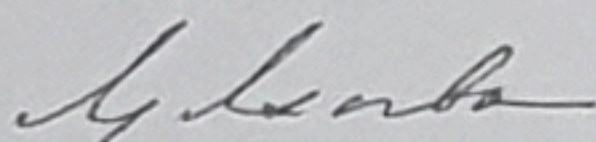
ШИЙДВЭРЛЭСЭН НЬ :

1. Анагаах ухааны доктор М.Баялагийн удирдаж, ЭХЭМҮТ-д хэрэгжүүлсэн “Нярай, хөхүүл хүүхдийн дүлийрэл, сонсгол бууралтын эрт үеийн скрининг оношилгоо, эмчилгээ, хяналт, тандалтын тогтолцоо бий болгох нь” сэдэвт суурь судалгааны дууссан ажлын тайланг МАУА-ийн гишүүдийн 100 хувийн саналаар хүлээн авахаар тогтов.
2. Анагаахын шинжлэх ухааны доктор, профессор Б.Сангидоржийн удирдсан “Ургамлын цэцгийн тоосны харшлаар өвчлөх гадаад, дотоод хүчин зүйл, эмгэг жам, дархлаажих үзэгдэл зүй механизм, молекул биологийн үндэс, оношилгоо эмчилгээний онол, аргагүйн судалгаа” суурь судалгааны дууссан ажлын тайланг

МАУА-ийн гишүүдийн 100%-ийн саналаар хүлээн авах боломжтой хэмээн үзэж дэмжив.

3. Анагаах ухааны доктор, дэд профессор Л.Энхсайханы удирдсан "Гепатитын С вирусийн халдварын шалтгаант элэгний эдийн гэмтэлд INOS уургийн ингибиторын нөлөөг тодорхойлсон дүн" сэдэвт суурь судалгааны дууссан ажлын тайланг хэлэлцэж, төслийн хөндлөнгийн шинжээчдийн дүгнэлт саналыг сайтар харгалзан тайланд тусгаж сайжруулан хөндлөнгийн шинжээчдэд тайланг дахин хянаж ажиллах боломж бүрдүүлж ажиллахыг хуралдааны протоколд тэмдэглэж, тайлангийн стандарт бичлэгийг сайжруулж, гишүүдийн гаргасан санал, дүгнэлтийг тусган засвар хийж хүргүүлэхийг дэмжив.
4. Суурь судалгааны тайлан тус бүрд гишүүдийн саналын дагуу зохих засвар оруулан боловсруулж, ШУТС-д хүлээлгэн өгөхийг төслийн удирдагчдад даалгав.

ТАНИЛЦСАН:
ТЭРГҮҮН ДЭД ЕРӨНХИЙЛӨГЧ,



АКАДЕМИЧ

Л.ЛХАГВА

ХУРАЛДААНЫ ТЭМДЭГЛЭЛ ХӨТӨЛСӨН:
ЭРДЭМТЭН НАРИЙН БИЧГИЙН
ДАРГА



Д.ЭНХ-АМГАЛАН

Хавсралт 2

Vol.14, №2, (47) 2018
ISBN 99929-81-31-8



АШУҮИС
Ази-Төвийн Шинжлэх Ухааны Холбоо
1942

ЭРҮҮЛ МЭНДИЙН ШИНЖЛЭХ УХААН

“DISCOVERING FUTURE TOGETHER”

XY Congress of the Asian Society of Clinical
Pathology and Laboratory Medicine

ABSTRACT BOOK

NATIONAL SEMINAR OF MALM:
BASIC AND APPLIED SCIENCES 1-5

The Determination Study to Regulating Action of Hepatitis C Virus *In Vitro* Infection on Type II Interferon-Induced Interferon Stimulating Genes

Batkhisig Munkhjargal¹, Dolgorsuren Sandagdorj¹, Baasansuren Enkhjargal¹, Baljinnyam Tuvderjamts¹, Budjav Jadamba¹, Uranbileg Ulziisaikhan¹, Batchimeg Sambuu¹, Khulan Unurbuyan¹, Bilegtsaikhan Tsolmon², Enkhsaikhan Lkhagvasuren¹

¹*Department of Microbiology and Immunology, School of Biomedicine, Mongolian National University of Medical Sciences*

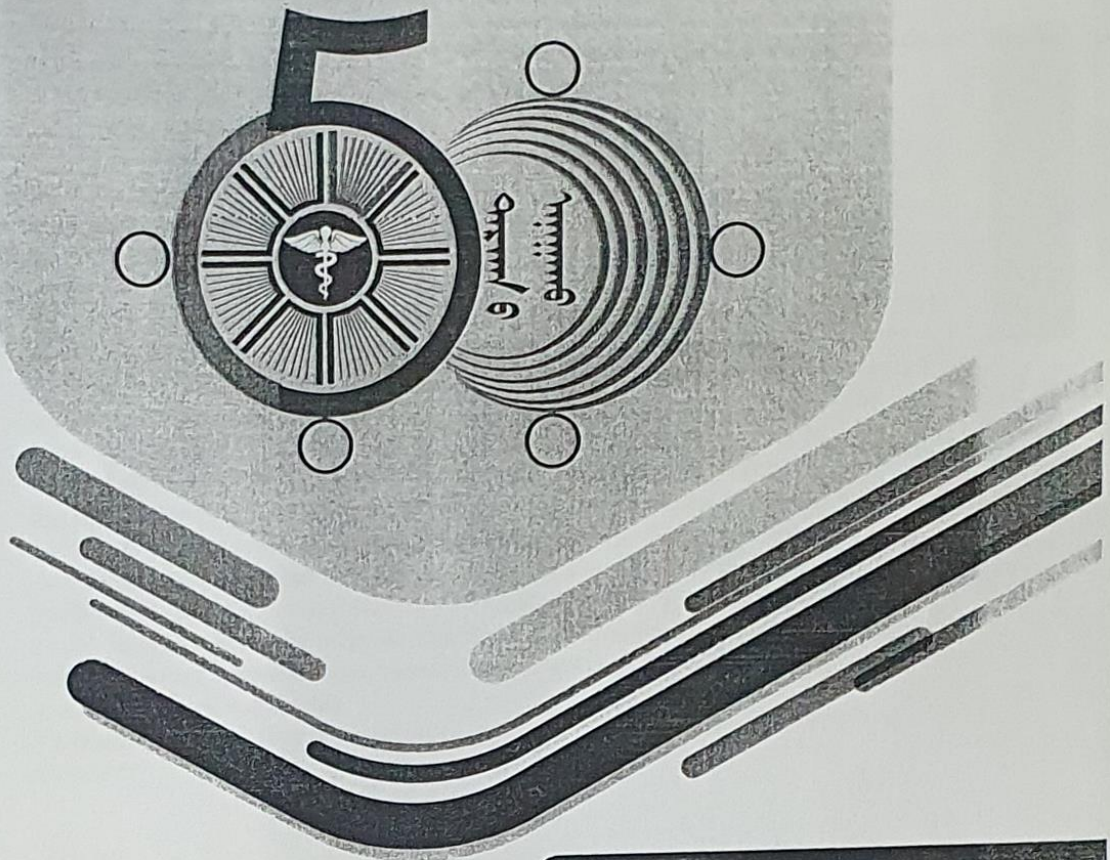
²*Core Laboratory, Science Technology Center, Mongolian National University of Medical Sciences*

Objectives: To determine the regulating effect of *in vitro* in hepatitis C virus (HCV) infection on interferon stimulating genes (ISGs) stimulated by IFN- γ and TLR7 ligand.


Methods: Murine RAW 264.7 cells, endothelial cell line ENDD and human hepatocyte cell line Huh7 were maintained in Dulbecco's modified Eagle's medium or RPMI medium containing 10% inactivated fetal calf serum and antibiotic cocktail (penicillin G, streptomycin) were cultured at 37°C in 5% CO₂. Cells were infected by HCV serum from Mongolian patients with HCV1b genotype, and stimulated with IFN- γ and TLR7 ligand. ISGs such as iNOS and phosphorylated STAT1 and its production nitric oxide were studied in the levels of final production, gene, and protein expression by Griess Reagent Assay, RT-PCR, and IB, respectively.

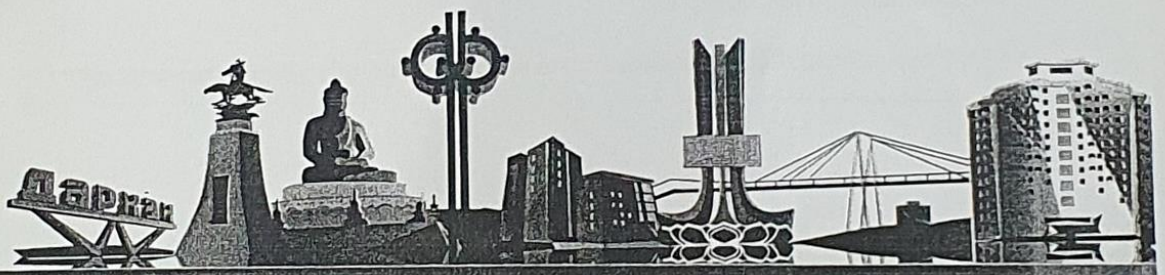
Results: In order to measure intracellular virus RNA, we used RT-PCR method. The virus RNA detected in the RAW264.7 cell on day 4 which is showing heterogenic property of HCV. On the other hand, the virus RNA detected in HUH.7 cell line on day 2 that is presenting species-specific property of the virus. HCV positive serum treatment with PEG8000 were performed on the RAW264.7 and HUH.7 cell line. Our results showed that HCV infected serum significantly reduced IFN- γ induced ISGs (iNOS mRNA, iNOS protein, s727-STAT1, tyr729-STAT1) and its final production (NO).

Conclusion: These results indicate that *in vitro* hepatitis C virus infection could be involve in the regulation of type II IFN induced ISGs in the levels of gene and protein expression of iNOS and STAT1 transcription factors.



ABSTRACT BOOK

 **4** INTERNATIONAL CONFERENCE
OF HEALTH SCIENCES



МЭРГЭЖЛИЙН ЁС ЗҮЙГ ТӨЛӨВШҮҮЛЭХ ЗАРИМ АСУУДАЛД

Г.Намжилмаа¹, Ц.Болормаа¹, Б.Хонгорзул¹, Д.Одбаяр¹
¹Дархан-Уул аймаг дахь АУС, АШУУИС

Үндэслэл: Монгол улсын хэмжээнд эмнэлгийн мэргэжилтний ёс зүйн асуудал сүүлийн жилүүдэд ихээр яригдах болсон нь энэ чиглэлийн мэргэжилтэн бэлтгэдэг анагаахын сургуулиудын сургалтанд ёс зүйг төлөвшүүлэх сургалт хэрхэн явагдаж байгааг судлах зайлшгүй шаарлага тулгарч байна.

Зорилго: Дархан-Уул аймаг дахь АУС-ийн хэмжээнд сувилагч мэргэжилтэнд мэргэжлийн ёс зүйг төлөвшүүлэх үйл явцыг цогцоор нь судлах

Материал, арга зүй: Судалгаанд хамрагдсан оюутан, хэвтэн эмчлүүлэгсэд, сувилагч мэргэжилтнүүдээс сувилагч мэргэжилтэнд зайлшгүй төлөвшүүлэх зан чанар, сувилагч мэргэжилтний эрхэмлэх чанар, сувилагч мэргэжлийн ёс зүй, мэргэжилтний үнэт зүйлийн төлөвшил болон эрүүл мэндийн салбарын байгууллагуудын сувилагч мэргэжилтний нийгмийн хэрэгцээг тодорхойлох судалгааг хийсэн.

Үр дүн: Байгууллагууд сувилагч нарыг ажилд авахдаа шалгуур үзүүлэлтүүд улам нарийсаж байгаа ба мэргэжлийн ёс зүйн асуудлуудыг нэн тэргүүнд хондож, байгаа нь харагдаж байна. Сайн сувилагч брэнд мэргэжилтэн гаргахад тусламж үйлчилгээ үзүүлэгч байгууллагын хэрэгцээ, шаардлага, эмчлүүлэгч үйлчлүүлэгсдийн сувилагчаас хүсэж буй хүлээлт, сургуулийн сувилагч мэргэжилтэн бэлтгэж буй байдал гурав салшгүй холбоотой байна.

Дүгнэлт: Эрүүл мэндийн салбарын сувилагч мэргэжилтний нийгмийн хэрэгцээ, шаардлага цаг үеэ даган өөрчлөгдөж байна. Сувилагч бэлтгэх сургалтын чиг хандлагын өөрчлөлтөнд эрүүл мэндийн байгууллагуудын шаардлага, эмчлүүлэгсэд, үйлчлүүлэгчдийн хэрэгцээ, шаардлага, хүсэлтийг тусгах шаардлагатай ба мэргэжлийн ёс зүйг төлөвшүүлэхэд багшийн үүргийг тодорхойлоход академик биш, чадвар хандлагын сургалтын хэв маяг руу шилжих шаардлагатай нь харагдлаа.

Түлхүүр үг: мэргэжилтэн, сувилахуй, тусламж үйлчилгээ, ёс зүйн төлөвшил, хандлага

OP-08

HCV EFFECTS ON IFN GAMMA INDUCED NITRIC OXIDE PRODUCTION

Batkhisig M.¹, Baljinnyam T.¹, Baasansuren E.¹, Bilegtsaikhan T.²,
 Badmaarag B.¹, Enkhsaikhan B.¹

¹School of Bio-Medicine, MNUMS

² Core Laboratory, Science Technology Center, MNUMS
batkhisigmunkhjargal@gmail.com

Background: Shortly after HCV infection in the human body, IFN gamma is released

by activated macrophage and other cells to induce the expression of ISG (Interferon stimulating genes). One of the well-known example of ISG is NOS2 (Nitric oxide synthetase which produces nitric oxide) gene. Nitric oxide produced by NOS2 has an antiviral action but high level of expression can lead to DNA mutation and apoptosis.

Purpose: To evaluate an effect of HCV on IFN gamma's signal transduction

Materials and methods: HCV positive serum treatment with PEG8000 were performed on RAW264.7 and HUH.7 cell line. We choose HUH.7 cell to compare HCV infection in RAW264.7 cell line. In order to measure intracellular virus RNA we used RT-PCR method. The virus RNA detected in RAW264.7 cell on day 4 which is showing heterogen property of HCV. On the other hand the virus RNA detected in HUH.7 cell line on day 2 that is presenting species specific property of the virus. Nitric oxide production of these HCV infected RAW264.7 cell line measured from 12 hour after IFN-gamma treatment untill 48 hours. After this we transfected macrophage with HCV-CORE and NS5A plasmid. When cells stably expressing HCV-CORE protein and NS5A protein, we performed an immunoblotting to evaluate posttransfection effect and treat the cells with IFN gamma for 24 hours to determine expression of iNOS that synthesizes NO and Griess reaction to determine which protein is responsible for NO production.

Results: HCV infected group's interferon induced nitric oxide production were lower to compared with the only IFN treated group which is fortifying hypohthesis that HCV interferes IFN signalling pathway and HCV-CORE protein was responsible for NO production.

Conclusion: HCV interferes IFN gamma's signaling pathway

Key words: HCV, Nitric oxide, IFN gamma

ИНТЕРФЕРОН ГАММАГААР ӨДӨӨГДӨХ АЗОТЫН ИСЛИЙН ГАРЦАД HCV НӨЛӨӨЛӨХ НЬ

*М.Батхилиг¹, Т.Балжинням¹, Э.Баасансүрэн¹, Ц.Билэгтсайхан²,
Б.Бадмаараг¹, Л.Энхсайхан¹
¹АШУУИС
²Цөм лаборатори, АШУУИС*

Үндэслэл: HCV-ийн халдварын дараагаар идэвхжсэн макрофаг, бусад эсээс IFN (Interferon) гамма ялгарч богино хугацаанд ISG (Interferon stimulating gene)-ийн экспресс идэвхжин вирусын эсрэг үйлдэл үзүүлдэг ч хэт идэвхжил нь ДНХ мутаци үүсгэх, апоптоз зэрэг эмгэг өөрчлөлтүүдэд хүргэдэг. Эдгээр ISG генүүдийн нэг төлөөлөл нь азотын дан ислийг үүсгэдэг NOS2 (Nitric oxide synthase) ген юм.

Зорилго: ХЦВ-ын интерферон гаммагийн дохио дамжилтанд үзүүлэх нөлөөг судлах

Арга аргачлал: RAW264.7 болон HUH.7 шугаман эсүүдийг HCV халдвар бүхий ийлдсээр PEG8000 хамт үйлчлэв. HUH.7 эсийг RAW264.7 эсийн халдварын зэрэгтэй харьцуулахын тулд сонгон авав. Эсийн доторх вирусын РНХ-г RT-PCR аргаар тодорхойлсон болно. RAW264.7 эсэд вирусын РНХ 4 дэх өдрөөс

эхлэн илэрсэн нь уг вирусын гетероген чанарыг харуулж байна. Харин HUII.7 эсэд 2 дахь өдрөөс эхлэн илэрсэн нь зүйл өвөрмөц чанартай нь холбоотой юм. HCV халдвар бүхий RAW264.7 эсийг ИФН-гаммагаар өдөөж, 12, 24, 36 болон 48 цагуудад азотын ислийн гарцыг үнэлэв. Үүний дараагаар RAW264.7 эсэд HCV-CORE болон NS5A уургийг агуулсан плазмидыг трансфекци хийн, трансфекцийн үр дүнг баталгаажуулсны дараа, 24 цаг ИФН гаммагаар өдоон iNOS уургийн экспрессийг үнэлэв.

Үр дүн: Халдвар бүхий эсийн бүлэг дэх интерфероноор өдөөгдөх азотын ислийн гарц нь дан ИФН гаммагаар өдөөсөн бүлэгтэй харьцуулахад бага байгаа нь HCV-ын ИФН-ий дохио дамжилтыг саатуулдаг байж болохыг харуулж байна. Азотын ислийн гарцад CORE уураг статистик ач холбогдол бүхий нөлөөтэй байв.

Дүгнэлт: HCV нь интерферон гаммагийн дохио дамжилтыг саатуулах нөлөөтэй
Түлхүүр үг: HCV, Азотын исэл, ИФН-гамма

OP-09

KNOWLEDGE, ATTITUDE AND PRACTICE OF HEPATITIS B VACCINATION AMONG PRIVATE HOSPITALS' HEALTH WORKERS AT THE DARKHAN-UUL PROVINCE, MONGOLIA

Tsendmaa G.¹, Davaa G.²

¹*Darkhan-Uul Medical School, MNUMS*

²*School of Public Health, MNUMS*

tsendmaa@mnum.s.edu.mn

Background: Hepatitis B virus infection is a priority job related disease that has both serious public and private health implications. Hepatitis B vaccine is the first anticancer vaccine that has outstanding record of safety and effectiveness and 95% effective in preventing children and adults from developing chronic infection.

Materials and methods: The study design was a cross-sectional descriptive study. All the 50 private hospitals' health workers at the Darkhan-Uul province, Mongolia who gave their consent to participate in the study were enrolled. Pre-tested, structured, self-administered questionnaire was used for data collection.

Results: Majority (70.2%) had good knowledge of hepatitis B infection and vaccination and the mean knowledge score (%) was 61.2 ± 20.7 . Majority (90.4%) knew that hepatitis B virus can be acquired through a needle stick injury. Majority (67.9%) were aware of the existence of an effective vaccine against hepatitis B infection; however, only 45.1% knew correctly that a post hepatitis B vaccination test is necessary to confirm protection. Majority (86.9%) knew that a complete dose of hepatitis B vaccine is 95% effective; however, only 49.4% knew for how long the vaccine protects. Only 36.9% knew correctly that hepatitis B virus is 100 times more infectious than HIV. Attitude towards hepatitis B vaccination was good among all of the respondents and the mean attitude score (%) was 92.9 ± 14.3 . Majority (84.5%) had poor practice of hepatitis B vaccination and the mean practice score (%) was 24.2 ± 25.0 . Among those who did not receive the vaccine, majority (67.6%) gave non-

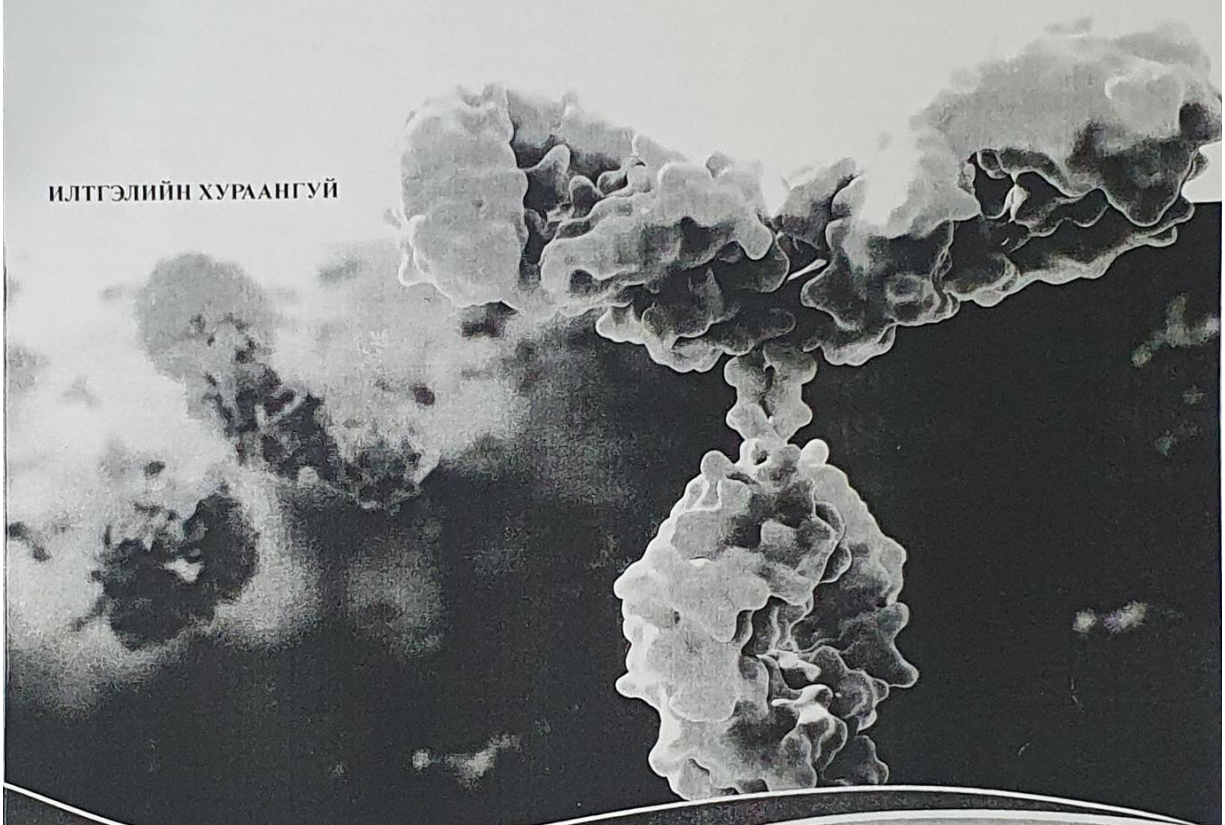
ORAL
PRESENTATIONS

Монгол Улсын Төрийн шагналт,
Шинжлэх ухааны гавьяат зүтгэлтэн, биологийн ухааны доктор, профессор
Доржийн ДАНДИЙН 90 насны ойд зориулсан

ЭРДЭМ СУДЛАЛ-ӨВ УЛАМЖЛАЛ

ЭРДЭМ ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ХУРААНГУЙ

ИЛТГЭЛИЙН ХУРААНГУЙ



2018 оны 11 сарын 20
Улаанбаатар хот

ИНТЕРФЕРОН ГАММАГААР ӨДӨӨГДӨХ АЗОТЫН ИСЛИЙН ГАРЦАД HCV НӨЛӨӨЛӨХ НЬ

*М.Батхшиг¹, О.Уранбилэг¹, Т.Балжинням¹, Э.Баасансүрэн¹,
Ц.Билэгтсайхан², П.Эгхсайхан¹*

*¹Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их Сургууль, Био-АСь Бичил амь,
Дархлаа судлалын тэнхим*

²АШУУИС-Цөм лаборатори

И-майл: Batkhishigmunkhjargal@gmail.com 80200999

Үндэслэл: Монгол Улсад хийсэн судалгаагаар хепатитийн С вирусийн РНХ нийт хүн амын 11 %-д илрэн, HCV (Hepatitis C virus)-ийн 1b генотип хэвшинж эдгээр тохиолдолын ихэнх хувийг эзэлж байна. Мөн элэгний хорт хавдартай өвчтнүүдийн 90-с дээш хувьд нь HCV эсвэл HBV-ын халдвар илэрсэн бол элэгний хатууралтай өвчтнүүдийн 39%-д HCV илэрсэн байна. HCV-ийн халдварын дараагаар идэвхижсэн макрофаг, бусад эсээс IFN (interferon) гамма ялгарч богино хугацаанд ISG (Interferon stimulating gene) -ийн экспресс идэвхжин вирусын эсрэг үйлдэл үзүүлдэг ч хэт идэвхжил нь эмгэг өөрчлөлтүүдэд хүргэдэг. ISG генүүдийн нэг төлөөлөл нь NOS2 (Nitric oxide synthase) ген юм.

Зорилго: IFNγ-ийн дохио дамжилтан Core, NS5A болон E1 уургийн нөлөөг тодорхойлох

Зорилт:

1. HCV-ийн уургийн генийг агуулсан плазмидыг XL1-blue эсэд трансформаци хийн олшруулах

2. HCV-ийн уургийн генийг агуулсан плазмидыг бактерийн эсээс ялган авах

3. HCV-ийн уургийн генийг агуулсан плазмидаар шугаман эсийг үйлчилэн интерфероноор өдөөгдөх (iNOS)-ийн идэвхжилийг тодорхойлох

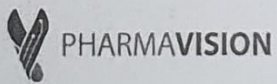
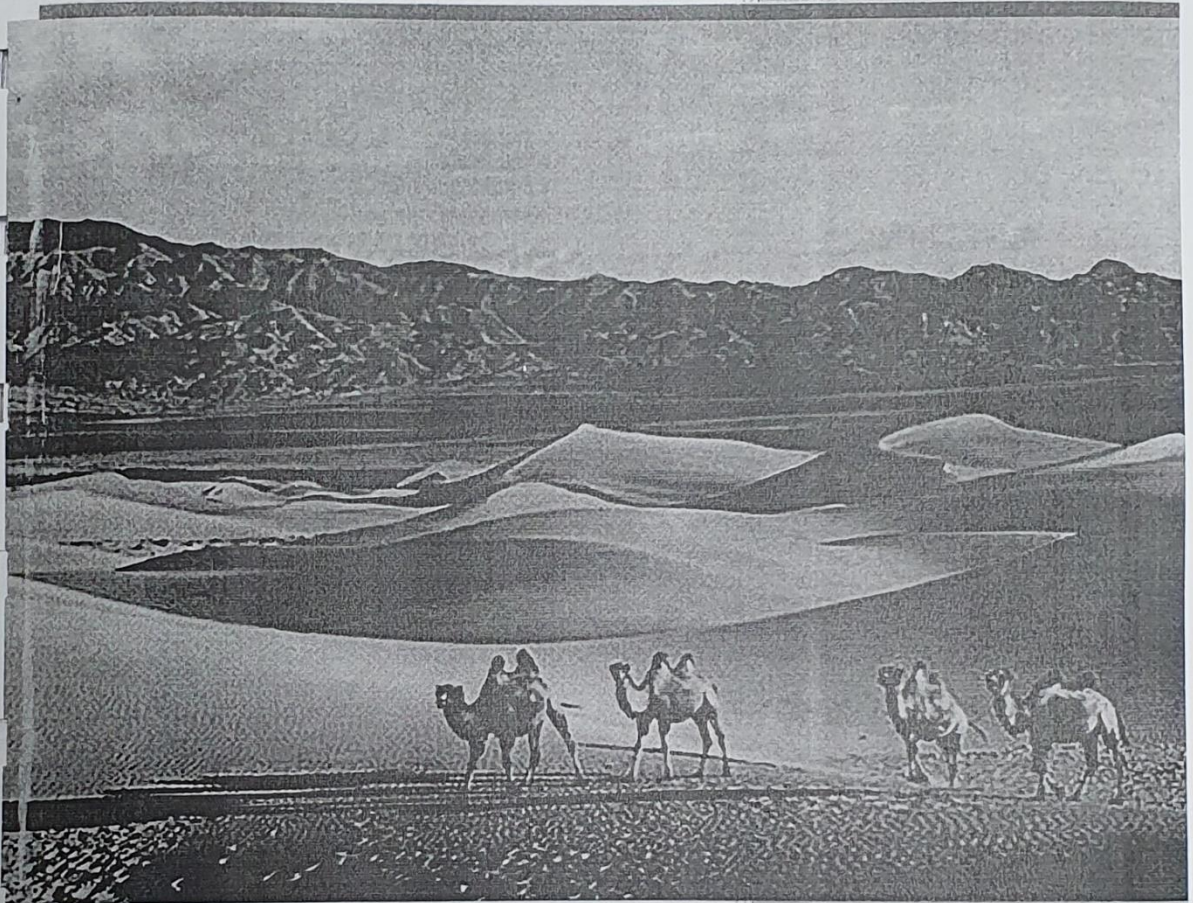
Материал, арга зүй. HCV-CORE, E1 болон NS5A уургийг агуулсан плазмидыг (Sinobiological Inc) XL1-blue бактерийн омогт дулааны шокын аргаар трансформаци хийн олшруулж, (Expres™ plasmid, Geneall Biotechnology, Co.,LTD) цомог ашиглан ялгаж авав. Ялган авсан плазмидуудыг RAW264.7 эсэд Липофектамин (Lipofectamine 3000, Thermo fisher Scientific) урвалжаар трансфекци хийн, трансфекцийн үр дүнг CORE, NS5A, E1 уургийн эсрэг биеүүдийг (Absample) ашиглан баталгаажуулсны дараа, 24 цаг ИФН гаммагаар (Peprotech Inc) өдөөн iNOS уургийн экспрессийг иммуноблоттинг аргаар үнэлэв. Эсийн өсгөврийн шингэнд азотын дан ислийн гарцыг Гриесс урвалаар (Promega) тодорхойллоо.

Үр дүн: Азотийн ислийн гарцад Core уураг статистик ач холбогдол бүхий нөлөөтэй ихэсгэсэн ба иммуноблоттинг аргаар үнэлэхэд iNOS уургийн экспресс Core уургийн генийг трансфекци хийсэн бүлэгт илүү байв.

Дүгнэлт. Макрофаг эсэд ХЦВ-ын Core уураг азотын дан ислийн ялгаралтанд нөлөөтэй байна.

CAMI 2018

Sixth International Conference



14-16 June, 2018
Ulaanbaatar, Mongolia



THE STUDY TO REGULATING EFFECT OF *IN VITRO* IN HEPATITIS C VIRUS INFECTION ON INTERFERON STIMULATING GENES

Enkhsaikhan Lkhagvasuren¹

Department of Microbiology and Immunology, School of Biomedicine, Mongolian National University of Medical Sciences

Murine RAW 264.7 cells, endothelial cell line ENDD and human hepatocyte cell line Huh7 were maintained in Dulbecco's modified Eagle's medium or RPMI medium containing 10% inactivated fetal calf serum and antibiotic cocktail (penicillin G, streptomycin) were cultured at 37°C in 5% CO₂. Cells were infected by HCV serum from Mongolian patients with HCV1b genotype, and stimulated with IFN- γ and TLR7 ligand. ISGs such as iNOS and phosphorylated STAT1 and its production nitric oxide were studied in the levels of final production, gene, and protein expression by Griess Reagent Assay, RT-PCR, and IB, respectively. In order to measure intracellular virus RNA, we used RT-PCR method. The virus RNA detected in the RAW264.7 cell on day 4 which is showing heterogenic property of HCV. On the other hand, the virus RNA detected in HUH.7 cell line on day 2 that is presenting species-specific property of the virus. HCV positive serum treatment with PEG8000 were performed on the RAW264.7 and HUH.7 cell line. Our results showed that HCV infected serum significantly reduced IFN- γ induced ISGs (iNOS mRNA, iNOS protein, s727-STAT1, tyr729-STAT1) and its final production (NO). These results indicate that *in vitro* hepatitis C virus infection could be involve in the regulation of type II IFN induced ISGs in the levels of gene and protein expression of iNOS and STAT1 transcription factors.

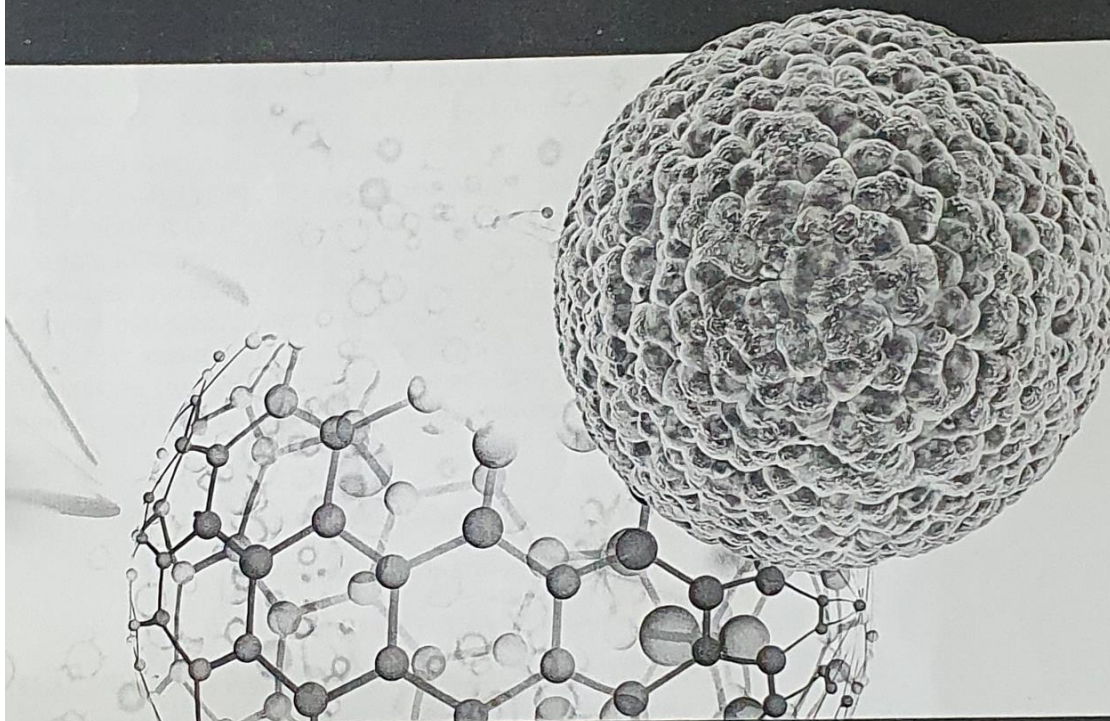
Хавсралт 3



МУ-ЫН ГАВЪЯАТ БАГШ, ПРОФЕССОР
И.ПҮРЭВДОРЖИЙН НЭРЭМЖИТ

АЛХАМ УРАГШ 2018

МАГИСТРАНТ, ДОКТОРАНТ НАРТ ЗОРИУЛСАН
ЭРДЭМ ШИНЖИЛГЭЭНИЙ БАГА ХУРАЛ



Ивээн тэтгэгч:



Улаанбаатар
2018 он

ИНТЕРФЕРОН ГАММАГИЙН ДОХИО ДАМЖИЛТАНД ГЕПАТИТИЙН С ВИРУСЫН УУРГИЙН НӨЛӨӨГ ТОДОРХОЙЛОХ НЬ

М.Батхиг¹, Ө.Уранбилэг¹, Э.Баасансүрэн¹, Т.Балжинням¹, Ө.Хулан,
Ц.Билэгтсайхан², Л.Энхсайхан¹.

¹Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их Сургууль

²АШУУИС-Цөм Лаборатори

Email: Batkhisigmunkhjargal@gmail.com Утас: 80200999

Үндэслэл: HCV вирусын халдварын эсрэг эхэн үеийн хамгаалах тогтолцоонд гепатоцит эсүүд вирусыг таньж, халдварлагдсан эсүүдэд буюу эдэд хэсэг газрын вирусын эсрэг хамгаалах тогтолцоог өдөөж, өвөрмөц дархлаа тогтолцооны эсүүдийг дайчлах үүргийг гүйцэтгэнэ. Тиймээс элэгний өөрийн өвөрмөц бус хамгаалах тогтолцоо нь вирусын халдварыг хянахад чухал үүрэгтэй. Гэвч халдварлагдсан эсүүдийн ихэнх нь халдварыг устгах үр дүнтэй дархлааны хариу урвалыг өдөөж чаддаггүй ба үүний гол шалтгаан нь HCV вирусын дархлааны хариу урвалыг зохицуулах, түүнээс зайлсхийх хэд хэдэн механизмтай холбоото⁴.

Өвөрмөц болон өвөрмөц бус дархлааны бүрэлдэхүүн хэсэгүүд хамтдаа өвчтний халдварыг устгах чадварыг нөхцөлдүүлдэг гэвч дархлааны хамгаалах урвалаас үл хамааран цочмог халдварын 70-80% нь архаг халдварт шилждэг. Энэ нь HCV-ын эсрэг эсийн доторх өвөрмөц бус дархлааны урвалыг эзэний болон вирусын хүчин зүйлүүд хавсаран зохицуулдагаас шалтгаалдаг. Мөн эсийн доторх өвөрмөц бус дархлааны хариу урвал идэвхгүйжсэнээр өвөрмөц дархлааны хариу урвал үр дүнтэй өрнөдөггүй байх магадлалтай юм.

HCV-ийн халдварын дараагаар идэвхижсэн макрофаг, бусад эсээс IFN (interferon) гамма ялгарч богино хугацаанд ISG (Interferon stimulating gene) -ийн экспресс идэвхиждэг байна¹⁰. Сармагчны элгэнд дархлааны эффектор эсээс ялгарах IFN гамма нь хепатитийн С вирусийг бие махбодиос зайлуулах үйлд чухал үүрэгтэй болох нь батлагджээ. Эдгээр генүүдийн үйлдлийн механизмууд бүрэн тайлагдаагүй ч вирусын эсрэг шууд идэвхи нь HCV-ын репликацииг хянахад чухал үүрэгтэй ба халдварыг бүрэн хязгаарлахад нэмэлтээр өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалын зохицуулга шаардлагатай. HCV-аар халдварлагдсан гепатоцит эсэд вирусын CORE зэрэг уургууд нь Jak/Stat (Janus kinase/Signal transducer and activator of transcription) замаар явагдах интерфероны дохио дамжилтийг саатуулах эсвэл өөр өөр замаар HCV-ын халдварыг хязгаарладаг өвөрмөц ISG генүүдийг дарангуйлдаг байж болох юм. Эдгээр генийн нэг төлөөлөл нь iNOS (inducible nitric oxide synthetase) юм. Архаг вируст хепатитийн эмгэгжамд iNOS-р нийлэгжих NO-ийн үүрэг бүрэн тодорхой болоогүй бсповч NO-ийн хэт их нийлэгжил нь үрэвслийн үеийн эмгэг өөрчлөлттэй холбоотой хэмээн үздэг. Элэгний үрэвсэл, өөхлөлт, фиброз зэрэг нь HCV-ийн халдварын шууд,

харин үрэвсэл ба исэлдүүлэх стрессийн шууд бус гэмтлийн үр дагавар юм. Маш олон судалгаанд вирусийн халдварын дараа элгэнд iNOS-ын экспресс ихэсдэгийг харуулжээ. Нөхцөл байдлаас хамааран NO нь элэг хамгаалаа ба эс хордуулах нөлөөтэй боловч их хэмжээгээр нийлэгжих нь фиброзын үйлийг дэмжих, үрэвслийн урвалыг нөхцөлдүүлж болох юм. Өвөрмөц бус дархлаа, IFN-оор өдөөгдөх вирусийн эсрэг зам, өвөрмөц дархлааны урвалын хоорондын холбоо хамаарал бүрэн гүйцэд тайлагдаагүй ба эдгээр холбоосийг тайлах цаашдын судалгаа шаардлагатай байна.

Зорилго: IFN γ -аар өдөөгдөх азотын ислийн гарцад Core, NS5A болон E1 уургийн нөлөөг тодорхойлох

Зорилт

1. HCV-ийн уургийн генийг агуулсан плазмидыг RAW264.7 эсэд трансфекци хийн оруулах
2. Трансфекци хийсэн эс дэх HCV-ийн уургийн экспресст IFN- γ -ийн нөлөөг тодорхойлох
3. Трансфекци хийсэн эсэд IFN- γ -аар өдөөгдөх (iNOS)-ийн идэвхжилийг тодорхойлох

Материал, арга зүй

Эсийн өсгөвөр: Хулганы макрофаг (RAW 264.7) эсийн өсгөврийг идэвхгүйжүүлсэн 10%-ийн тугалын хээлийн ийлдэс (FCS-fetal calf serum), антибиотикийн холимог (пенициллин G, стрептомицин) агуулсан орчинд (DMEM, RPMI 1640 medium) 5% CO $_2$ -ийн чийгшилтэй 37°C хэмд өсгөвөрлөв.

Трансформаци ба плазмид ДНХ-г ялгах: HCV-CORE, E1 болон NS5A уургийн ген агуулсан плазмидыг (Sinobiological Inc) XL1-blue бактерийн омогт дулааны шокын аргаар трансформаци хийн олшруулж, (ExpresTM plasmid, Geneall Biotechnology, Co.,LTD) цомог ашиглан ялгаж авав.

Трансфекци: Ялган авсан плазмидыг RAW264.7 эсэд Липофектамин (Lipofectamine 3000, Thermo fisher Scientific) урвалжаар трансфекци хийн, 24 цаг ИФН гамма 25 нг/мл тунгаар (Peprotech Inc) өдөөв.

Уургийн нийлэгжилт тодорхойлох иммуноблотингийн арга: Эсээс уургийг ялгахдаа протеаза болон фосфатаза ингибитор агуулсан задлагч уусмал хэрэглэн, ялган авсан уургийн концентрацийг Pierce BCA protein assay kit ашиглан тодорхойлов.

CORE, NS5A, E1 болон iNOS уурагт өвөрмөц анхдагч эсрэг биеүүдийг (Abcamplc) ашиглан будаж, үүссэн дархан бүрдэл дээр тунхуугийн пероксидаза зүүсэн хоёрдогч эсрэг биеээр будаж, үүний дараа хемилюминесценци бүхий бодис нэмснээр BioRad ChemDoc багажийг ашиглан тодруулж харлаа.

Азотын ислийн гарцыг тодорхойлох: Эсийн дээд шингэн дэх азотын ислийн бүтээгдэхүүн буюу нитрит (NO $_2^-$)-ийн концентрацийг тодорхойлохдоо

Гриессийн урвалжийн системийг ашиглав. Урвалын дүнг ELISA reader-ийн 492нм долгионы уртад гэрлийн шингээлтийг хэмжсэн.

Үр дүн: HCV-CORE, E1 болон NS5A уургийн экспрессийг иммуноблоттинг аргаар амжилттай тодорхойлов. IFN γ нь CORE болон NS5A уургийн экспрессийг бууруулж байсан бол E1 уургийн экспресс нэмэгдэв. CORE болон E1 нь дангаар iNOS-ийн экспрессийг өдөөсөн ба IFN γ -аар нэмж үйлчлэхэд iNOS уургийн илрэл нэмэгдсэн.

Үр дүнгээс харахад HCV-ын Core, NS5A уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалтай (IFN γ -аар өдөөгдөх iNOS идэвхжилтэй) урвуу хамааралтай бол HCV-ын E1 уургийн идэвхжил нь өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалыг (IFN γ -аар өдөөгдөх iNOS идэвхжилтэй) нэмэгдүүлж хүчжүүлж байна.

E1 бүлэгт азотын ислийн гарц 38 μ M хүртэл ихэссэн бол IFN γ -аар үйлчлэхэд 27 μ M болж буурав. NS5A уураг азотын ислийн гарцыг өдөөгөөгүй боловч IFN γ -аар үйлчлэхэд азотын ислийн гарц 17.5 μ M нэмэгдэв. Core уураг дангаараа азотын ислийн гарцыг нэмэгдүүлж, IFN γ -аар үйлчлэхэд азотын ислийн гарц ихэссэн боловч статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдаагүй болно.

Дүгнэлт: Дээрхи үр дүнгүүдээс харахад IFN γ нь NS5A болон Core уургийн эсрэг нөлөө үзүүлж уургийн илрэлийг нь бууруулсан харин эсрэгээрээ IFN γ бүхий бүлэгт E1 уургийн экспресс нэмэгдэж азотын ислийн гарц буурсан нь уг уураг IFN γ -ийн дохио дамжилтанд саатуулах нөлөө үзүүлж байж болох юм.

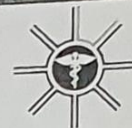
ИХ СУРГУУЛИЙН ХАМТЫН АЖИЛЛАГАА БАГШИЙН ХӨГЖИЛД НӨЛӨӨЛӨХ НЬ

П.Билэгсайхан¹, Д.Мягмарцэрэн¹, Б. Оюунгоо¹, О.Болормаа¹

¹АШУУИС

Email: билэгсайхан.п@mnum.edu.mn, Утас: 99788601

Үндэслэл: Орчин үед анагаахын шинжлэх ухааны хөгжил хурдацтай явагдаж буйтай уялдан дэлхий нийтэд анагаах ухааны боловсрол олгодог сургуулиудын эрдэмтэн, багшид тавигдах шаардлага жил ирэх тусам нэмэгдэж байгаа бөгөөд эрдэмтэн, багш нарт тасралтгүй бие даан хөгжих шаардлага урган гарч байна. Ионсей их сургууль нь АШУУИС-тай 25 жилийн турш тогтвортой хамтын ажиллагааны хөтөлбөрүүдийг тасралтгүй зохион байгуулсан бөгөөд олон багш, эмч, судлаачдыг мэргэжлээрээ хөгжиж салбартаа манлайлагч байх боломжийг олгосон байна. Энэхүү судалгаагаар хоёр сургуулийн хамтын ажиллагааны гэрээний хүрээнд Ионсейн их сургуульд мэргэжил дээшлүүлэх сургалтад хамрагдсан багш нарын мэргэжлийн хөгжилд хэрхэн нөлөөлж буйг тодорхойлон үр дүн гаргах гэсэн билээ.

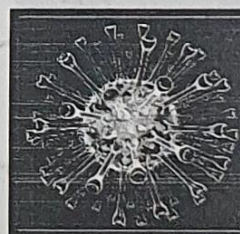


АШУУИС

БИОАНАГААХЫН
СУРГУУЛЬ

БИО-АНАГААХЫН САЛБАРЫН ЭРДМИЙН ЧУУЛГАН

61



2019 он

ОР—62 Макрофаг төст RAW 264.7 эсэд HCV вирусийн уургийн нөлөөг тодорхойлсон дүн

Уранбилэг.Ө¹, Б.Батхишиг¹, Э.Баасансүрэн¹, Т.Балжинням^{1,2},
С.Цогтсайхан¹, Ц.Билэгтсайхан³, Л.Энхсайхан¹

¹АШУУИС, Био-Анагаахын сургууль, Бичил амь-Дархлаа Судлалын Тэнхим,
²АУХ, Эрдэм Шинжилгээний Төв Лаборатори,
³АШУУИС, Цөм Лаборатори

Үндэслэл: Хепатитийн С вирусийн шалтгаант элэгний хатуурал, анхдагч өмөн нь дэлхийд төдийгүй манай улсын хүн амын эрүүл мэнд, нийгэм, эдийн засагт ихээхэн хохирол учруулсаар байна. Хепатоцит эс халдварын үндсэн бай боловч макрофаг эс халдварт өртдөг талаарх олон судалгаа бий. HCV-ийн халдварын үед гепатитын С вирус IFN болон эзэн эсийн дархлаа тогтолцооноос яаж зайлсхийдэг нь тодорхойгүй байна. **Зорилго:** Макрофаг эсийн шугамыг ашиглан HCV-ийн Core, NS5A, E1 уургаар үйлчлэн, эсийн дохио дамжилт, уураг молекулын экспрессийг тайван үеийнхтэй харьцуулан судлах зорилго тавьлаа.

Материал, арга, аргачлал: HCV-CORE, E1, NS5A уургийг агуулсан плазмидыг (Sinobiological Inc) XL1-blue бактерийн омогт дулааны шокын аргаар трансформаци хийн олшруулж, (ExprepTM plasmid, Geneall Biotechnology, Co.,LTD) цомог ашиглан ялгав. Ялган авсан плазмидуудыг макрофаг төст RAW264.7 эсэд Липофектамин (Lipofectamine 3000, Thermo fisher Scientific) урвалжаар трансфекци хийн, трансфекцийн үр дүнг CORE, NS5A, E1 уургийн эсрэгбиеийг (Abcamplc) ашиглан баталгаажуулав. ИФН гаммагаар (Peprotech Inc) 24 цаг өдөөн iNOS уургийн экспрессийг иммуноблоттинг аргаар үнэлэв. Эсийн

өсгөврийн шингэнд азотын дан ислийн гарцыг Гриесс урвалаар (Promega) тодорхойллоо.

Үр дүн: Хяналтын бүлэгт iNOS уургийн экспресс илрээгүй ба E1 уургийн ген бүхий плазмидаар трансфекци хийсэн бүлэгт iNOS уургийн экспресс нэмэгдсэн. Харин Core болон NS5A уураг нь дангаараа iNOS уургийг идэвжүүлж чадаагүй. Сонирхолтой нь Core+IFN-γ, E1+IFN-γ, NS5a+IFN-γ бүлэгт IFN-γ хамааралт iNOS уургийн идэвхжил улам нэмэгдсэн. Вирусийн Core, NS5A уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалаар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжилтэй урвуу хамааралтай байна.

Дүгнэлт: HCV-ийн E1 уураг нь дангаараа эзэн эсийн дархлааг (iNOS, NO) өдөөхийн зэрэгцээ IFN-аар идэвхжих дархлааны хариу урвалыг улам эрчимжүүлж байна. HCV-ийн Core, NS5A уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн дархлааны хариу урвалтай (iNOS) урвуу хамааралтай, харин E1 уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн дархлааны хариу урвалаар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжилтэй шууд хамааралтай байгаа нь вирусийн эсрэг дархлааны механизмийг өдөөхөд илүү үүрэгтэй байна.

Түлхүүр үгс: Эсийн өсгөвөр, Core, E1, NS5A плазмид, азотын исэл, TLR



MNUMS

Mongolian National University of Medical Sciences

DORNOGGBI
MEDICAL SCHOOL



MNUMS

Mongolian National University of Medical Sciences

GOBI-ALTAI
MEDICAL SCHOOL



MNUMS

Mongolian National University of Medical Sciences

DARKHAN-UUL
MEDICAL SCHOOL

MEDICAL SCIENCE

IV INTERNATIONAL CONFERENCE

ABSTRACT BOOK

Gobi-Altai
2019

RAW 264.7 ЭСЭД ГЕПАТИТИЙН С ВИРУСИЙН УУРГИЙН ПОЛООГ ТОДОРХОЙЛСОН ДҮН

Өлзийсайханы Ураибилэг¹, Мөнхжаргалын Батхшиг¹, Энхжаргалын Баасандорж¹,
Тувдэнжамцын Балжинням², Эрдэнэчулууны Хишигдэлгэр¹, Сандагын Цогтсайхан¹,
Цолмонгийн Билэгтсайхан¹, Лхагвасүрэнгийн Энхсайхан¹

¹Бичигт амь-Дархлаа Судлалын Тэнхим, БиоАнагаахын Сургууль, АИШУИИС

²Эрдэм Шинжилгээний Төв Лаборатори, Анагаах Ухааны Хурээгэн

³Цөм Лаборатори, АИШУИИС
enkhsaikhan@mnus.edu.mn

ТОВЧ ХУРААНГУЙ

Түлхүүр үгс: Эсийн өсгөвөр, Core, E1, NS5A плазмид, азотын исэл, TLR

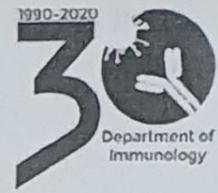
Үндэслэл: Хепатитийн С вирусийн шалтгаант элэгний хатуурал, анхдагч өмөн нь дэлхийд төдийгүй манай улсын хүн амын эрүүл мэнд, нийгэм, эдийн засагт ихээхэн хохирол учруулсаар байна. Хепатоцит эс халдварын үндсэн бай боловч макрофаг эс халдварт өртдөг талаарх олон судалгаа бий. HCV-ийн халдварын үед гепатитын С вирус IFN болон эзэн эсийн дархлаа тогтолцооноос яаж зайлсхийдэг нь тодорхойгүй байна.

Зорилго: Макрофаг эсийн шугамыг ашиглан HCV-ийн Core, NS5A, E1 уургаар үйлчлэн, эсийн дохио дамжилт, уураг молекулын экспрессийг тайван үеийнхтэй харьцуулан судлах зорилго тавьлаа.

Арга, аргачлал: HCV-CORE, E1, NS5A уургийг угуулсан плазмидыг (Sinobiological Inc) XLI-blue бактерийн омогт дулааны шокын аргаар трансформацийн олшруулж, (Exprep™ plasmid, Geneall Biotechnology, Co., LTD) цомог ашиглан ялгав. Ялган авсан плазмидуудыг макрофаг төст RAW264.7 эсэд Липофектамин (Lipofectamine 3000, Thermo fisher Scientific) урвалжаар трансфекци хийн, трансфекцийн үр дүнг CORE, NS5A, E1 уургийн эсрэгбиеийг (Ab-scruple) ашиглан баталгаажуулав. ИФН гаммагаар (Peprotech Inc) 24 цаг өдөөн iNOS уургийн экспрессийг иммуоблоттинг аргаар үнэлэв. Эсийн өсгөврийн өмнөнд азотын дан ислийн гарцыг Гривесс урвалаар (Pronega) тодорхойллоо.

Үр дүн: Хяналтын бүлэгт iNOS уургийн экспресс илрээгүй ба E1 уургийн ген бүхий плазмидар трансфекци хийсэн бүлэгт iNOS уургийн экспресс нэмэгдсэн. Харин Core болон NS5A уураг нь дангаараа iNOS уургийг идэвжүүлж чадаагүй. Сонирхолтой нь Core+IFN-γ, E1+IFN-γ, NS5A+IFN-γ бүлэгт IFN-γ хамааралт iNOS уургийн идэвхжил улам нэмэгдсэн. Вирусийн Core, NS5A уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалаар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжилтэй урвуу хамааралтай байна.

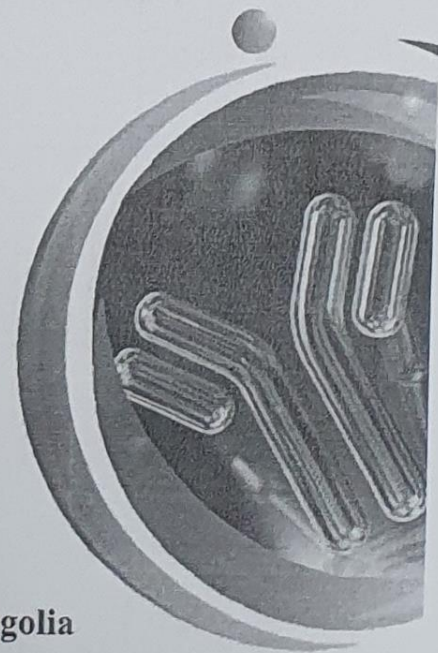
Дүгнэлт: HCV-ийн E1 уураг нь дангаараа эзэн эсийн дархлааг (iNOS, NO) өдөөхийн зэрэгцээ IFN-аар идэвхжих дархлааны хариу урвалыг улам эрчимжүүлж байна. HCV-ийн Core, NS5A уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн дархлааны хариуурвалтай (iNOS) урвуу хамааралтай, харин E1 уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн дархлааны хариуурвалаар өдөөгдөх iNOS уургийн идэвхжилтэй шууд хамааралтай байгаа нь вирусийн эсрэг дархлааны механизмийг өдөөхөд илүү үүрэгтэй байна.



Recent Advances in Immunology 2020 International Online Conference Abstract Book

October 16, 2020

Ulaanbaatar, Mongolia



International Online Conference

Recent Advances in Immunology 2020

Abstract book

Dedicated to the 30th anniversary of the Department of Immunology,
School of Biomedicine, MNUMS (1990-2020)

ISBN: 978-9919-9608-4-1

Editor-in-Chief: Tsogtsaikhan Sandag

Editors: Gansukh Chojjilsuren

Ariunzaya Bat-Erdene

October 16, 2020

Ulaanbaatar, Mongolia

DEHYDROCOSTUS LACTONE SUPPRESSES THE EXPRESSION OF INDUCIBLE SLFN4
IN LPS-ACTIVATED MICROGLIA

Zhao Fuquan^{1,2,3}, Shiirevnyamba.A*, Bilegtsaikhan.Ts^{4,5,6,7},
Tovuudorj.A⁸, Seesregdorj.S⁷

¹Department of Urology, School of Medicine, MNUMS

²International School of Mongolian Medicine, MNUMS

³Hospital of Inner Mongolian University for the Nationalities

⁴Central Scientific Research Laboratory, IMS

⁵Core Laboratory, Science and Technology Center, MNUMS

⁶Department of Biochemistry, School of Biomedical Sciences, MNUMS

⁷Second State Central Hospital, Mongolia

⁸Department of Neurology, School of Medicine, MNUMS

*Email: shiirevnyamba@mmums.edu.mn

Background. Microglia is macrophages-like immune cell, its activation can cause the loss of neuronal cell after brain ischemia and trauma. Dehydrocostus Lactone (DDL) is a natural product, extracted from the root of *Saussurea lappa*, have various biological activities such as anti-inflammatory effects in some neurodegenerative disorders in Mongolian traditional medicine. However, no research has been done regarding mechanism of DDL on microglial cells in the brain.

Methods. The anti-inflammatory effects of DDL were studied using lipopolysaccharide (LPS) stimulated murine BV2 microglia. BV2 were cultured in DMEM then 4 μ M DDL were added in the medium for 30 minutes. Then BV2 was treated with 1 ng/ml LPS for 24 hours to stimulate. DDL anti-inflammation group (BV2+DDL+LPS), LPS-activated group (BV2+LPS) and control group (only BV2) were compared. Transcriptome Profiling assays was used the microarray platform of Clariom S mouse Assay. The gene expressions were processed with the transcriptome analysis console software.

Results. According to the criterion of a ≥ 1.5 fold change in expression, compared with control cells, LPS activated BV2 cells up-regulated 84 transcripts and down-regulated 66 transcripts. While compared with LPS only, DDL anti-inflammatory groups up-regulated 215 transcripts and down-regulated 150 transcripts. Venn analysis indicated that 21 transcripts overlapping in the up-regulated genes of LPS versus control and down-regulated genes of LPS plus DDL versus LPS only. Most of the 21 transcripts were involved in the inflammatory response such as IL1 α , IL1 β , IL6, CXCL10, Irf7, Isg15, Gvin1, Slfn4, and Xaf1.

Conclusion. These results showed that DDL inhibits the expression of transcripts related with inflammation, activated by LPS in the microglia cells.

Хавсралт 4



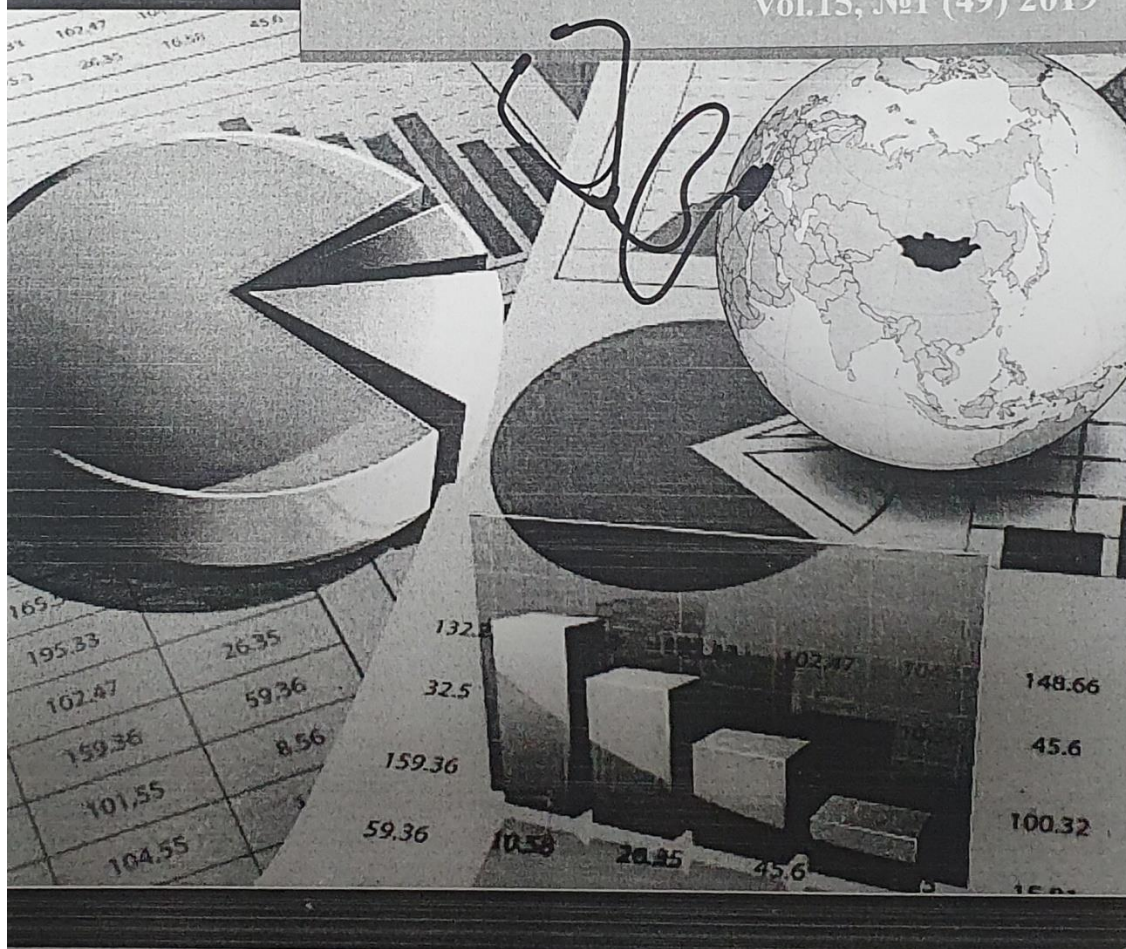
АШУУИС

Ангийн Шинжлэх Ухааны Удсан Их Сургууль

ISBN 99929-81-31-8

ЭРҮҮЛ МЭНДИЙН ШИНЖЛЭХ УХААН

Vol.15, №1 (49) 2019



HCV virus protein effect on RAW264.7 cell line

Batkhishig M.¹, Uranbileg U.¹, Baljinyam Г.¹, Baasansuren F.¹, Khulan U.¹, Bilginn T.¹, Tind B.¹,
Bilegtsaikhan Ts.¹, Enkhsaikhan L.¹

¹MNUMS, Core Laboratory, Science and Technology Center

Introduction: During acute phase of HCV infection IFN- γ 's action is pivotal for the virus clearance. IFN induced nitric oxide which produced by iNOS has an antiviral action but over expression leads to pathological conditions. HCV somehow interferes IFN- γ 's signaling pathway and reduces ISG gene expression. There is an evidence that Core protein binds with STAT1 and inhibit its function. This kind viral strategies cause viral persistence and results in chronic infection. Our previous study showed HCV interferes IFN- γ 's signaling pathway at the level of STAT1, iNOS, iNOS mRNA expression and NO production. **Purpose:** To determine the effect of HCV protein on IFN- γ 's signaling pathway. **Materials and Methods:** This study was held in the Core Laboratory, Science Technology Center, Mongolian National University of Medical Sciences (MNUMS). In this study, we used urine macrophage cell line (Raw264.7). The cell was seeded in 6-well plate, transfected with pHCV-Core, using Lipofectamine3000 for 48 hours and then treated with IFN- γ (25 ng/ml) for 18 hours. Viral proteins and iNOS expression were detected with Western blot analyse and production of nitric oxide measured by Griess reagent. **Results:** HCV Core protein induced NO (nitric oxide) expression. When Core protein expressing cell treated with IFN, Core protein expression decreased and nitric oxide production was increased. **Conclusion:** Core protein promote IFN- γ induced nitric oxide production in murine macrophage cell line.

Keyword: IFN- γ , HCV, iNOS, Core

RAW264.7 эсэд HCV вирусийн уургийн нөлөөг тодорхойлсон дүн

М.Батхилиг¹, Ө.Уранбилэг², Т.Балжинням¹, Э.Баасансүрэн¹, Ө.Хулан¹, Т.Билгүүн¹, Г.Лүүн¹, Ц.Билэгтсайхан¹, Д.Энхсайхан¹

¹Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их Сургууль
²АШУУИС-Цом лаборатори

Email: Batkhishigmunkhjargal@gmail.com, Утас: 96116768

Түлхүүр үг:

IFN-γ
HCV
iNOS
Core

Товч утга

HCV-ийн халдварын дараагаар идэвхижсэн макрофаг, бусад эсээс IFN (interferon) гамма ялгарч богино хугацаанд интерферон өдөөгч генийн экспресс идэвхиждэг байна. Өвөрмөц бус дархлаа, IFN-оор өдөөгдөх вирусын эсрэг зам, өвөрмөц дархлааны урвалын хоорондын холбоо хамаарал бүрэн гүйцэд тайлагдаагүй ба эдгээр холбоосийг тайлах цаашдын судалгаа шаардлагатай байна. Бид хулганы макрофаг төст эсийг ашиглан HCV-Core, E1, NS5A уургийн ген бүхий плазмидыг XLI-blue бактерийн омогт дулааны шокын аргаар трансформаци хийн олшруулж, цомог ашиглан ялгасан. Ялган авсан плазмидуудыг макрофаг төст RAW264.7 эсэд Липофектамин3000 ашиглан трансфекци хийн 48 цагийн дараа IFN-γ-г 25 нг/мл тунгаар нэмж 18 цаг үйлчлэн уургийн экспрессийг тодорхойлов. Эсийн осгөврийн шингэнд азотын дан ислийн гарцыг Грисес урвалаар (Promega) тодорхойллоо. Core уураг дангаараа азотын ислийн гарцыг нэмэгдүүлж, IFN-γ-аар үйлчлэхэд азотын ислийн гарц буурсан боловч статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдаагүй болно. HCV-ын Core уураг нь хулганы макрофаг эсэд IFN-γ-аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцыг нэмэгдүүлэх нөлөөтэй.

Үндэслэл: HCV вирусын халдварын эсрэг эхэн үеийн хамгаалах тогтолцоонд гепатоцит эсүүд вирусийг таньж, халдварлагдсан эсүүдэд буюу эдэд хэсэг газрын вирусын эсрэг хамгаалах тогтолцоог өдөөж, өвөрмөц дархлаа тогтолцооны эсүүдийг дайчлах үүргийг гүйцэтгэнэ. Тиймээс элэгний өөрийн өвөрмөц бус хамгаалах тогтолцоо нь вирусын халдварыг хянахад чухал үүрэгтэй. Гэвч халдварлагдсан эсүүдийн ихэнх нь халдварыг устгах үр дүнтэй дархлааны хариу урвалыг өдөөж чаддаггүй ба үүний гол шалтгаан нь HCV вирусын дархлааны хариу урвалыг зохицуулах, түүнээс зайлсхийх хэд хэдэн механизмтай холбоотой¹.

Өвөрмөц болон өвөрмөц бус дархлааны бүрэлдэхүүн хэсгүүд хамтдаа халдварыг устгах чадварыг нөхцөлдүүлдэг гэвч дархлааны хамгаалах урвалаас үл хамааран цомог халдварын 70-80% нь архаг халдварт шилждэг^{2,3}. Энэ нь HCV-ын эсрэг эсийн доторхи өвөрмөц бус дархлааны урвалыг эзний болон вирусын хүчин зүйлүүд хавсран зохицуулдагаас шалтгаалдаг. Мөн эсийн доторхи өвөрмөц бус дархлааны хариу урвал идэвхгүйжсэнээр өвөрмөц дархлааны хариу урвал үр дүнтэй өрнөдөггүй байх магадлалтай юм^{4,6}.

HCV-ийн халдварын дараагаар идэвхижсэн макрофаг, бусад эсээс IFN-γ ялгарч богино хугацаанд ISG (Interferon stimulating gene) -ийн экспресс идэвхждэг байна⁷. Сармагчны элгэнд дархлааны эффектор эсээс ялгарах IFN-γ нь гепатитийн C вирусийг бие махбодиос зайлуулах үйлд чухал үүрэгтэй болох нь батлагджээ⁸. Эдгээр генийн үйлдлийн механизмууд бүрэн тайлагдаагүй ч вирусын эсрэг шууд идэвхи нь HCV-ын репликациг хянахад чухал үүрэгтэй ба халдварыг

бүрэн хязгаарлахад нэмэлтээр өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалын зохицуулга шаардлагатай.

ISG генийн нэг төлөөлөл нь iNOS (inducible nitric oxide synthetase) юм. Архаг вирус гепатитийн эмгэгжамд iNOS-р нийлэгжих NO-ийн үүрэг бүрэн тодорхой болоогүй боловч NO-ийн хэт их нийлэгжил нь үрэвслийн үеийн эмгэг өөрчлөлттэй холбоотой хэмээн үздэг². Элэгний үрэвсэл, өөхлөлт, фиброз зэрэг нь HCV-ийн халдварын шууд, харин үрэвсэл ба исэлдүүлэх стрессийн шууд бус гэмтлийн үр дагавар юм. Вирусийн халдварын дараа элгэнд iNOS-ын экспресс ихэсдэг бөгөөд нөхцөл байдлаас хамааран NO нь элэг хамгаалах эсвэл эс хордуулах нөлөөтэй боловч их хэмжээгээр нийлэгжих нь фиброзын үйлдлийг дэмжих, үрэвслийн урвалыг нөхцөлдүүлж болох юм^{9,11}.

HCV нь бүтцийн (E1, E2, Core) ба бүтцийн бус (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) уургаас тогтоно. HCV-аар халдварлагдсан гепатоцит эсэд HCV-ын Core уураг Jak/Stat (Janus kinase/Signal transducer and activator of transcription) замаар явагдах интерфероны дохио дамжилтийг саатуулах эсвэл HCV-ын халдварыг хязгаарладаг өвөрмөц ISG генийг дарангуйлдаг байж болох юм¹².

Өвөрмөц бус дархлаа, IFN-оор өдөөгдөх вирусын эсрэг зам, өвөрмөц дархлааны урвалын хоорондын холбоо хамаарал бүрэн гүйцэд тайлагдаагүй ба эдгээр холбоосийг тайлах цаашдын судалгаа шаардлагатай байна.

Зорилго: Интерферон Гаммагийн дохио дамжилтанд Гепатитийн C вирусийн уургийн нөлөөг тодорхойлох нь

Зорилт

1. HCV-ийн уургийн генийг агуулсан плазмидыг Raw264.7 эсэд трансфекци хийх
2. Трансфекци хийгдсэн эс дэх HCV-ийн уургийн экспресст IFN-γ-ийн нөлөөг тодорхойлох
3. Трансфекци хийгдсэн эсэд IFN-γ-аар өдөөгдөх NO-ийн идэвхжиллийг тодорхойлох

Арга, аргачлал.

Эсийн өсгөвөр: Хулганы макрофаг (RAW 264.7) эсийн өсгөврийг идэвхгүйжүүлсэн 10%-ийн тугалын хээлийн ийлдэс (FCS-fetal calf serum), антибиотикийн холимог (пенициллин, стрептомицин) агуулсан орчинд (DMEM, RPMI 1640 medium) 5% CO₂-ийн чийгшилтэй 37°C хэмд өсгөвөрлөв.

Трансформаци ба плазмид ДНХ-г ялгах: HCV-Core, E1 болон NS5A уургийн ген агуулсан плазмидыг (Sino-biological Inc) XL1-blue бактерийн омогт дулааны шокын аргаар трансформаци хийн олшруулж, (ExprepTM plasmid, Geneall Biotechnology, Co.,LTD) цомог ашиглан ялгаж авав.

Трансфекци: Ялган авсан плазмидыг RAW264.7 эсэд Липофектамин (Lipofectamine 3000, Thermo fisher Scientific) урвалжаар трансфекци хийн, 24 цаг IFN-γ 25 нг/мл тунгаар (Peprotech Inc) өдөөв.

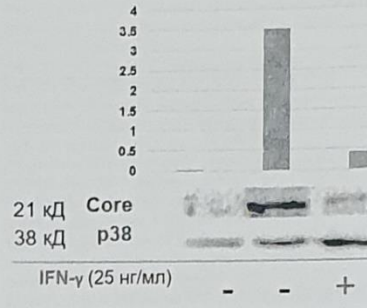
Уургийн нийлэгжилт тодорхойлох
иммуноблотингийн арга: Эзэс уургийг ялгахдаа протеаза болон фосфатаза ингибитор агуулсан задлагч уусмал хэрэглэн, ялган авсан уургийн концентрацийг Pierce BCA protein assay kit ашиглан тодорхойлов. Core уурагт өвөрмөц анхдагч эсрэг биеүүдийг (Absample) ашиглан будаж, үүссэн дархан бүрдэл дээр тунхуугийн пероксидаза зүүсэн хоёрдогч эсрэг биеээр будаж, үүний дараа хемиллюминесценци бүхий бодис нэмснээр BioRad ChemiDoc багажийг ашиглан тодруулж харлаа.

Азотын ислийн гарцыг тодорхойлох: Эсийн дээд шингэн дэх азотын ислийн бүтээгдэхүүн буюу нитрит (NO₂-) -ийн концентрацийг тодорхойлохдоо Гривесийн урвалжийн системийг ашиглав. Урвалын дүнг ELISA reader-ийн 492нм долгионы уртад гэрлийн шингээлтийг хэмжсэн.

Үр дүнгийн статистик боловсруулалт. Судалгааны мэдээлэл, туршилт судалгааны үр дүнд Microsoft Excel 2010 программ ашиглан статистик боловсруулалт хийв. Тоон мэдээлэлд арифметик дундаж, стандарт хазайлт, стандарт алдааг тодорхойлж, бүлгүүдийн тоон үзүүлэлтийн хоорондын ялгааг стьюдэнтийн Т тестийн аргаар тооцооллоо. Дунджуудын хооронд статистик ач холбогдол бүхий ялгааг 95%-ийн итгэх интервалаар баталгаажуулав.

Үр дүн. Макрофаг эсэд HCV вирусн Core уургийн экспресст үзүүлэх IFN-γ-ийн нөлөө болон трансфекцийн үр дүн болох Core уургийн экспрессийг батлах зорилгоор шугаман эсийг Core уургийн ген агуулсан плазмидаар Липофектамин3000 ашиглан трансфекци хийн 48 цагийн дараа IFN-γ-г 25 нг/мл тунгаар нэмж 18 цаг үйлчлэн уургийн экспрессийг тодорхойлов (Зураг I).

Хяналтын бүлэгт Core уургийн экспресст илрээгүй ба Core уураг бүхий плазмидаар үйлчлэсэн бүлэгт Core уургийн экспресст илэрч, трансфекци амжилттай явагдсаныг харуулж байна. Харин Core+IFN-γ 25 нг/мл бүлэгт Core уургийн экспресст буурсан нь IFN-γ-ийн вирусн уургийн эсрэг үйлдэлийг харуулж байна. Нөгөө талаас Core уураг IFN-γ-ийн үйл ажиллагаанд нөлөөлөөгүй нь харагдаж байна.



Зураг 1. Эсийн өсгөвөрт HCV-ийн экспресст түүнд үзүүлэх IFN-γ-ийн нөлөөг харьцуулсан дүн

Тайлбар: Эсийг Core уургийн ген агуулсан плазмид болон IFN-γ 25 нг/мл тунгаар үйлчлэв. Дотоод хяналтаар нийт р38 уургийг ашигласан болно. Босоо тэнхлэгийн дагуу ImageJ-ийн тоон утга, хэвтээ тэнхлэгийн дагуу rHCV-Core болон IFN-γ-ийн үйлчилсэн бүлгүүдийг харуулав.

IFN-γ-аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцад CORE, E1 болон NS5A уургийн нөлөө

IFNγ болон вирусн уургуудаар өдөөгдөх азотын ислийн гарцад уургийн CORE, E1 ,NS5A уураг (Core уургаар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцыг NS5A болон E1 уургийн үр дүнтэй харьцуулав) ба IFN-γ -ийн харилцан үйлчлэл хэрхэн нөлөөлөхийг тодорхойлохын тулд макрофаг эсийг Липофектамин3000 ашиглан CORE, E1 ,NS5A уургийн ген агуулсан плазмидаар тус тус трансфекци хийн 48 цагийн дараа IFN-γ -г 25 нг/мл тунгаар нэмж 18 цаг үйлчлэн Гривес урвалжаар азотын ислийн гарцыг үнэлэв. Бид NS5A болон E1 уургийг (Зураг II). E1 уураг азотын дан ислийн гарцыг 38 (±2.1) μM хүртэл ихэссэн бол IFN-γ -аар үйлчлэхэд 27 (±3) μM болж буурав. NS5A уураг азотын ислийн гарцийг өдөөгөөгүй боловч IFN-γ-аар үйлчлэхэд азотын ислийн гарц 17.5 (±3) μM нэмэгдэв. Core уураг дангаараа азотын ислийн гарцыг нэмэгдүүлж, IFNγ-аар үйлчлэхэд азотын ислийн гарц буурсан боловч статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдаагүй болно.

Хэлцэмж: Бидний өмнөх судалгаанд HCV эсрэг ийдэээр халдварлуулсан шугаман эсийн загварт HCV нь IFN-γ-ын дохио дамжилтийн молекул STAT1 уургийн экспресст болон фосфоржилт, iNOS уургийн ба iNOS mRNA, азотын дан ислийн түвшинд тус тус саатуулах нөлөө үзүүлсэн. Тиймээс бид HCV-ын рекомбинант уургуудыг ашиглан эсийг трансфекци хийн IFN-γ -аар өдөөгдөх NO-ийн гарцыг үнэлж, HCV вирусн уургийн

Хэлцэмж: Моноцит эсвэл макрофагийн халдвар нь HCV-ийн халдварын урт хугацааны үр дагаварт чухал ач холбогдолтой юм.⁵ Мөн микроглийн эс болон макрофагийн халдвар нь астроглийн эс гэх мэт тархины эсэд халдвар тараахын тулд цус тархины хоригийг нэвтэрдэг байна.⁶ Тиймээс HCV-ийн халдварыг макрофаг эс дээр судлах нь ихээхэн ач холбогдолтой билээ. IFN эмчилгээгээс үүдэн HCV-ийн халдварын үед IFN- α , β тулхүү судлагдсан ба вирусийн уургийн экспрессийн хүрээ, судалгаанд ашигласан эсийн төрөл, аль хэлбэрийн IFN ашигласнаас шалтгаалаад үр дүнгүүд зөрүүтэй байж болно. Сүүлийн жилүүдэд HCV-ийн эсрэг эмчилгээ амжилттай явагдаж байгаа ч

HCV-ийн геномын гетероген чанар нь ирээдүйд таамаглаагүй асуудлуудыг үүсгэж магадгүй учир цаашид судлах шаардлагатай хэвээр байна.

Дүгнэлт: HCV-ийн NSSA нь эзэн эсийн дархлааны хариу урвалын IRF1 транскрипцийн факторыг идэвхжүүлж байна. HCV-ийн Core, E1 уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн дархлааны хариу урвалтай (IRF1) урвуу хамааралтай. Харин NSSA уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн дархлааны хариу урвалаар өдөөгдөх IRF1 уургийн идэвхжилтэй шууд хамааралтай байгаа нь вирусийн эсрэг дархлааны механизмийг өдөөхөд илүү үүрэгтэй байна.

Талархал: Уг судалгааг БСШУСЯ, ШУТС-ийн санхүүжилттэй "Гепатитийн C вирусийн халдварын

шалтгаант элэгний эдийн гэмтэлд iNOS уургийн ингибиторын нөлөөг тодорхойлох нь" сэдэвт суурь судалгааны төслийн хүрээнд хийж гүйцэтгэв. Бидний судалгааны ажилд гүн туслалцаа үзүүлсэн Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их Сургуулийн Цөм лаборатори, Био-Анагаахын сургуулийн Бичил-амь, Дархлаа судлалын тэнхмийн хамт олонд талархал илэрхийлье.

Ном зүй

1. Machida K, Cheng KTH, Sung VMH, Lee KJ, Levine AM, Lai MMC. Hepatitis C virus infection activates the immunologic (type II) isoform of nitric oxide synthase and thereby enhances DNA damage and mutations of cellular genes. *Journal of virology*. 2004;78(16):8835-8843.
2. Park SH, Rehermann B. Immune responses to HCV and other hepatitis viruses. *Immunity*. Jan 16 2014;40(1):13-24.
3. Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *Journal of leukocyte biology*. Feb 2004;75(2):163-189.
4. Pflugheber J, Fredericksen B, Sumpter R, Jr., et al. Regulation of PKR and IRF-1 during hepatitis C virus RNA replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Apr 2 2002;99(7):4650-4655.
5. Kita H, Mackay IR, Van De Water J, Gershwin ME. The lymphoid liver: considerations on pathways to autoimmune injury. *Gastroenterology*. May 2001;120(6):1485-1501.
6. Royer C, Steffan AM, Navas MC, Fuchs A, Jaeck D, Stoll-Keller F. A study of susceptibility of primary human Kupffer cells to hepatitis C virus. *Journal of hepatology*. Mar 2003;38(3):250-256.

Determination of the effect hepatitis C virus Core protein on the IRF1 activation RAW264.7 cells

U.Uranbileg¹, U.Khulan¹, E.Bilguun¹, B.Tiul¹, M.Bathishig¹, E.Baasansuren¹, T.Baljinnyam^{1,2}, S.Tsogtsaikhan¹, Ts.Bilegtsaikhan¹, L.Enkhsaikhan¹

¹Department of Microbiology and Immunology, School of Biomedical Sciences, MNUMS

²Central Scientific Research Laboratory, IMS

³Core Laboratory, Science and Technology Center, MNUMS

Background: Hepatitis C virus (HCV) infection causes hepatitis, hepatocellular carcinoma, and B-cell lymphomas in a significant number of patients. There are large numbers of HCV and ISG gene cross-talking studies, the relationship between innate immunity, IFN gamma stimulated antiviral pathway, and adaptive immune response is not fully understood in macrophages and further studies about their interaction are needed. To determine the effect of HCV protein on IFN- γ 's signaling pathway. **Materials and Methods:** This study, we used murine macrophage cell line (Raw264.7). The cell was seeded in 6-well plate, transfected with pHCV- Core, pHCV-NSSA and pHCV-E1 using Lipofectamine3000 for 48 hours and then treated with IFN- γ (25 ng/ml) for 6 hours. Viral proteins and IRF1 expression were detected with Western blot analyse. **Results:** HCV NSSA protein induced IRF1 expression but on the other hand there was no IRF1 expression in Core and E1 protein expressing cell. When E1 protein expressing cell treated with IFN- γ , IRF expression was increased. Surprisingly, NSSA protein induced IRF1 expression alone. **Conclusion:** IFN- γ is effective against HCV-E1 protein in RAW264.7 cell line and NSSA protein played a key role in accelerating IFN- γ mediated antiviral immune response.

Keyword: Cell culture, IFN- γ , Core, NSSA, E1 plasmid



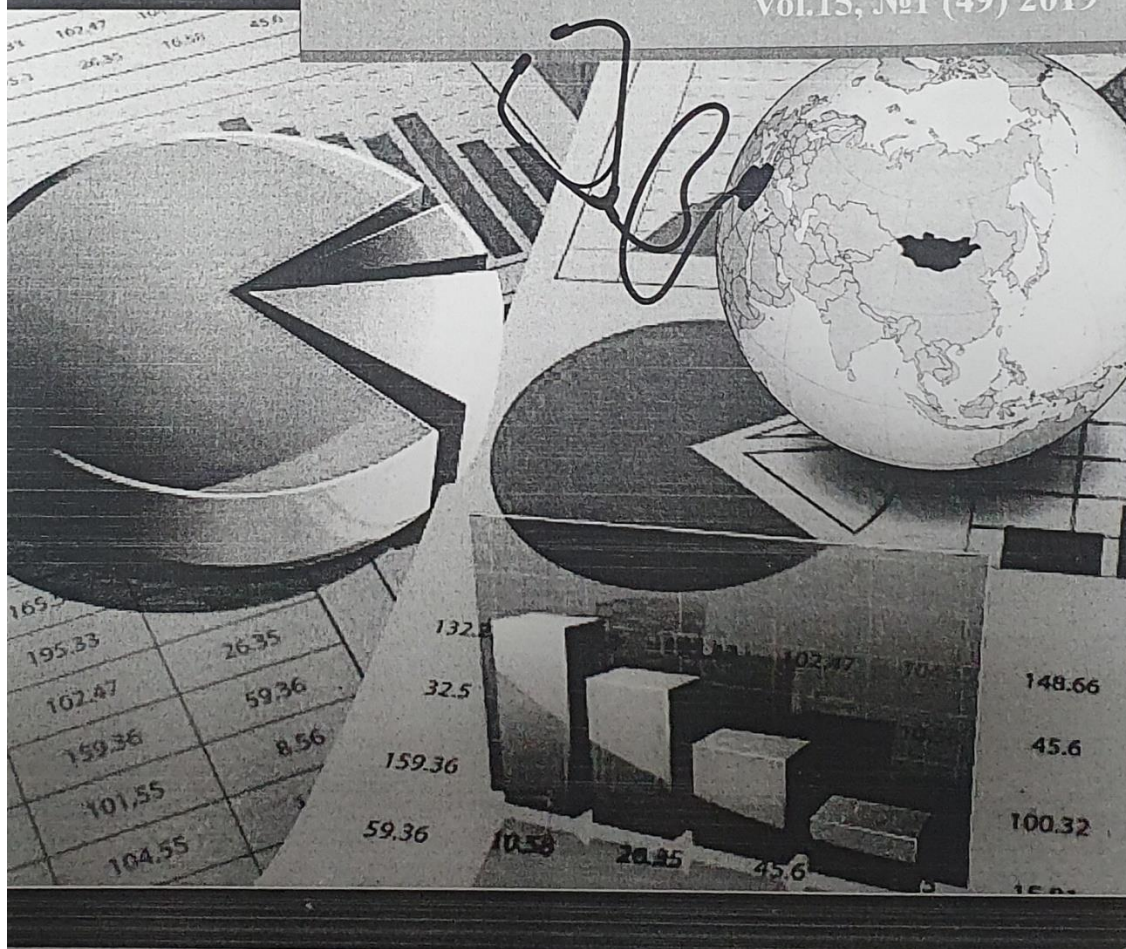
АШУУИС

Ангийн Шинжлэх Ухааны Удсан Их Сургууль

ISBN 99929-81-31-8

ЭРҮҮЛ МЭНДИЙН ШИНЖЛЭХ УХААН

Vol.15, №1 (49) 2019



IRF1 уургийн идэвхжилд гепатитийн C вирусийн Core, NS5A, E1 уургийн нөлөөг тодорхойлсон дүн

Ө.Уранбилэг¹, Ө.Хулан¹, Э.Билэгүүр¹, Б.Туул¹, М.Батхшиг², Э.Баасансүрэн¹, Т.Батжигжид¹, С.Цогтсайхан¹, Ц.Билэгтсайхан¹, Л.Энхсайхан¹

¹Бичиг амь-Дархлаа Судлалын Тэнхим, Био-Анагаахын Сургууль, ИИУ УИБ

²Эрдэм Шинжлэгээний Төв Лаборатори, ИИУ УИБ

³Цом Лаборатори, ИИУ УИБ

Email: Uranbilegg01@gmail.com, Ymac: 96116703

Түлхүүр үг:

Эсийн өсгөвөр
IFN-γ (интерферон
гамма)
Core
NSSA
E1

Товч утга

Гепатитийн C вирус (HCV) нь вирус гепатит, элэгний эсийн анхдагч өмөн, B эсийн лимфома өвчний шалтгаан болдог. HCV болон өвөрмөц бус дархлаа, интерфероноор өдөөгдөх вирусийн эсрэг урвал, өвөрмөц дархлааны урвалын хоорондын холбоо хамаарал бүрэн гүйцэд тайлагдаагүй бөгөөд цаашид судлах шаардлагатай байна. 2 Үүний тулд бид хулганы макрофаг төст эсийг ашиглан HCV-Core, E1, NS5A уургийн ген бүхий плазмидыг E.coli-ийн XL1-blue бактерийн омогт дулааны шокын аргаар трансформаци хийн олшруулж, цомог ашиглан ялгасан. Ялган авсан плазмидуудыг макрофаг төст RAW264.7 эсэд трансфекци хийсэн болно. IFN-γ-аар 6 цаг өдөөн IRF1 уургийн экспрессийг иммуноблоттинг (western blot) аргаар үнэлэв. NS5A уураг нь дангаараа IRF1 транскрипцийн факторын идэвхжилд оролцдог. Харин E1 уураг нь дангаараа бус IRF1 транскрипцийн факторын идэвхжлийг нэмэгдүүлж байв.

Үндэслэл: IRF1 нь IFN-γ-аар зохицуулагддаг ISG (Interferon stimulating genes) геноудийн транскрипцийг зохицуулдаг ба үүний нэг нь iNOS-ийн ген юм.³ Мөн IRF нь төрөлхийн дархлааны хариу урвалд оролцдог генийг идэвхжүүлэн транскрипцийг зохицуулагч, хандар дарангуйлагч болдог. Оорөөр хэлбэл вирус бактерийн эсрэг бие махбодийн хариу урвалд оролцон генийн транскрипцийг идэвхжүүлж, эсийн тархалт, апоптоз, дархлааны хариу урвал, ДНХ-ийн гэмтэлд хариу үйлдэл үзүүлэхэд үүрэг гүйцэтгэдэг.⁴ Хепатоцит эс халдварын үндсэн бай боловч макрофаг эс халдварт өртдөг талаарх олон судалгаа бий. HCV-ийн халдварын үед гепатитын C вирус IFN болон эзэн эсийн дархлаа тогтолцооноос яаж зайлсхийдэг нь тодорхойгүй байна.

Зорилго: Макрофаг эсийн шугамыг ашиглан HCV-ийн Core, NS5A, E1 уургаар үйлчлэн, эсийн дохио дамжилт, уургийн экспрессийг тайван үеийнхтэй харьцуулан судлах зорилго тавьлаа.

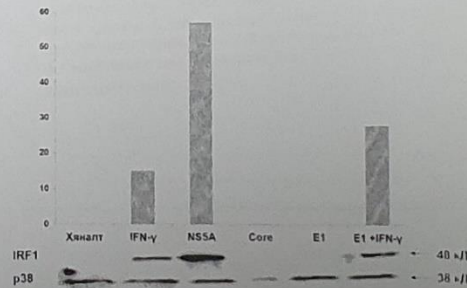
Зорилт:

1. IRF1 транскрипцийн факторын идэвхжилд гепатитийн C вирусийн Core, NS5A, E1 уургийн ген агуулсан плазмидийн нөлөөг тодорхойлох
2. Вирусийн уургийн идэвхжил болон эзэн эсийн өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалын хамаарлыг тодорхойлох

Арга, аргачлал: HCV-Core, E1, NS5A уургийг агуулсан плазмидыг (Sinobiological Inc) XL1-blue бактерийн омогт дулааны шокын аргаар трансформаци хийн олшруулж, (ExprepTM plasmid, Geneall Biotechnology, Co.,LTD) цомог ашиглан ялгав. Ялган авсан плазмидыг тус тусад нь макрофаг төст RAW264.7 эсэд липофектамин (Lipofectamine 3000, Thermo fisher Scientific) урвалжаар трансфекци хийн, трансфекцийн үр дүнг Core, NS5A, E1 уургийн эсрэгбиенийг (Abcample) ашиглан

баталгаажуулав. IFN-γ (Peprotech Inc) цитокиноор 6 цаг өдөөн IRF уургийн экспрессийг иммуноблоттинг аргаар үнэлэв.

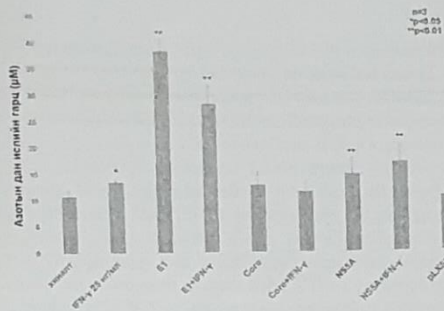
Үр дүн: Хяналтын бүлэгт IRF1 уургийн экспресс илрээгүй ба NS5A уургийн ген бүхий плазмидаар трансфекци хийсэн бүлэгт IRF1 уургийн экспресс нэмэгдсэн. Харин Core болон E1 уураг нь дангаараа IRF1 уургийг идэвхжүүлж чадаагүй. Сонирхолтой нь E1+IFN-γ бүлэгт IFN-γ хамааралт IRF1 уургийн идэвхжил улам нэмэгдсэн. (Зураг 1) Вирусийн Core, E1 уургийн идэвхжил нь эзэн эсийн өвөрмөц бус дархлааны хариу урвалаар өдөөгдөх IRF1 уургийн идэвхжилтэй урвуу хамааралтай байна.



Зураг 1. IRF1 уургийн идэвхжилд Core, E1 болон NS5A уургийн нөлөө

Тайлбар: RAW264.7 эсийг Core, NS5A, E1 уургийн ген агуулсан плазмид болон IFN-γ-г 25 нг/мл тунгаар үйлчлэв. Дотоод хяналтаар нийт p38 уургийг ашигласан болно. Image J программ ашиглан IRF1 уургийн экспрессийн тоон утгийг график зургаар харуулав.

нөлөөг судалгаанд ашигласан шугаман эс дэх IFN-γ-ийн дохио дамжилтанд нөлөөлж буйг тодорхойлов.



Зураг 2. IFN-γ-аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцад CORE, E1 болон NS5A уургийн нөлөө

Тайлбар: Эсийг CORE, NS5A, E1 уургийн ген агуулсан плазмид болон IFN-γ-г 25 нг/мл тунгаар үйлчлэв. Босоо тэнхлэгт нитритийн гарцыг, хэвтээ тэнхлэгт туршилтын бүлгүүдийг тэмдэглэв. ** $p < 0.01$ болон * $p < 0.05$ үед статистикийн ач холбогдол бүхий ялгаатай гэж тооцов. Сөрөг хяналтаар рLXSN плазмид векторыг ашиглав.

Судалгааны үр дүнд Core уураг нь хяналтын бүлэгтэй хаьцуулахад уургийн NO-ийн гарцыг нэмэгдүүлсэн үр дүн нь HCV вирусийн халдвар, азотын ислийн гарцын хамаарлын талаар Keigo Machida, Kevin T.H (2004) нарын судалгаанд Raji эсэд HCV-ийн бүтцийн бус уургууд азотын ислийн гарцад нөлөөлдөг ба HCV-н NS3, Core уураг азотын ислийн гарцад гол үүрэгтэй¹³ болон Core уураг нь (NF)-κB-ээр дамжуулан iNOS генийн промоторыг идэвхжүүлж iNOS-ын экспрессийг нэмэгдүүлдэг¹⁴ (Javier Bartolomé et al. 2003) гэх үр дүнгүүдтэй нийцж байна.

HCV-аар халдварлагдсан Huh.7 эсэд уургийн STAT1 болон P-STAT1 илрэл илэрхий буурч HCV, HCV core/E1/E2 болон NS3-4A нь IFNα,β-аар идэвхжих STAT1 уургийн экспрессийг протеосом хамааралт задралаар дамжуулан бууруулдаг ба дархан тунадасжуулах аргаар зөвхөн Core уураг STAT1 уурагтай шууд холбогддогийг илрүүлжээ¹². Core уураг нь IFN-ны дохио дамжилтанд оролцдог ISGF3-ын үйл ажиллагааг дарангуйлдаг SOCS3-ыг үүсэлтийг дэмжихэд оролцдог нь HerG2 эсэд ажиглагджээ¹⁵.

Бид цаашдаа HCV-ын уургийн ген агуулсан плазмидаар тун болон хугацаа хамааралтайгаар үйлчлэн IFN-γ-аар өдөөгдөх iNOS-ын илрэлийг үнэлэх болон IFN-γ-ийн дохио дамжилтийн дээд молекул болох STAT1-ийн илрэл ба фосфоржилтийг үнэлсэнээр дээрхи уургууд IFN-γ-ийн дохио дамжилтанд сонгомлоор нөлөөлж байгаа эсэхийг тодруулах боломжтой юм.

Дүгнэлт: HCV-ын Core уураг нь хулганы макрофаг эсэд IFN-γ-аар өдөөгдөх азотын дан ислийн гарцыг нэмэгдүүлэх нөлөөтэй.

Ном зүй

1. Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Parkin DM, et al. Global burden of cancer in 2008: a systematic analysis of disability-adjusted life-years in 12 world regions. *Lancet*. 2012;380(9856):1830-1850.
2. Horner SM, Gale M, Jr. Intracellular innate immune cascades and interferon defenses that control hepatitis C virus. *J Interferon Cytokine Res*. 2009;29(9):489-498.
3. Soriano V, Peters MG, Zeuzem S. New therapies for hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis*. 2009;48(3):313-320.
4. Bowen DG, Walker CM. Adaptive immune responses in acute and chronic hepatitis C virus infection. *Nature*. 2005;436(7053):916-952.
5. Su AI, Pezacki JP, Wodicka L, et al. Genomic analysis of the host response to hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(24):15669-15674.
6. Rehermann B. Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cells and NK cells. *Nat Med*. 2013;19(7):859-868.
7. Suthar MS, Ma DY, Thomas S, et al. IPS-1 is essential for the control of West Nile virus infection and immunity. *PLoS Pathog*. 2010;6(2):e1000757.
8. Shoukry NH, Cavithon AG, Walker CM. Cell-mediated immunity and the outcome of hepatitis C virus infection. *Annu Rev Microbiol*. 2004;58:391-424.
9. Atik E, Onlen Y, Savas L, Doran F. Inducible nitric oxide synthase and histopathological correlation in chronic viral hepatitis. *Int J Infect Dis*. 2008;12(1):12-15.
10. Garcia-Monzon C, Majano PL, Zúbia I, Sanz P, Apolonia A, Moreno-Otero R. Intrahepatic accumulation of nitric oxide in chronic viral hepatitis is associated with histological severity of liver disease. *J Hepatol*. 2000;32(2):331-338.
11. Lake-Bakaar G, Sorbi D, Mazzoccoli V. Nitric oxide and chronic HCV and HIV infections. *Dig Dis Sci*. 2001;46(5):1075-1078.
12. Lin W, Choe WH, Hiasa Y, et al. Hepatitis C virus expression suppresses interferon signaling by degrading STAT1. *Immunology*. 2005;128(4):1034-1041.
13. Machida K, Cheng KT, Sung VM, Lee KJ, Levine AM, et al. Hepatitis C virus infection activates the inducible nitric oxide synthase promoter via NF-kappaB activation. *Hepatology*. 2003;37(2):884-889.
14. de Lucas S, Bartolomé J, Amaro MJ, Carrero A. Hepatitis C virus core protein transactivates the inducible nitric oxide synthase promoter via NF-kappaB activation. *Hepatology*. 2003;37(2):117-124.
15. Bode JG, Ludwig S, Ehrhardt C, et al. IFN-α-dependent activity of HCV core protein involves induction of signaling by cytokine signaling-3. *FASEB J*. 2003;17(3):455-460.
16. Osui A, Ohkawa K, Ishida H, et al. Hepatitis C virus core protein differently regulates the JAK-STAT signaling pathway under interleukin-6 and interferon-gamma stimuli. *Hepatology*. 2003;37(3):2856-2857.

HEPATITIS C VIRUS E1 PROTEIN ENHANCES MACROPHAGE iNOS EXPRESSION *IN VITRO*

Batkhisig Munkhjargal^{1,3}, Bilguun Enkhtuvshin¹, Uranbileg Ulziisaikhan¹, Baljinnyam Tuvdenjamts^{1,3}, Khulan Unurbuyan^{1,3}, Dolgorsuren Sandagdorj¹, Tuul Baasandalai¹, Baasansuren Enkhjargal¹, Tsogtsaikhan Sandag¹, Bilegtsaikhan Tsolmon², Enkhsaikhan Lkhagvasuren¹

¹Department of Immunology, School of Bio-Medicine, Mongolian National University of Medical Sciences, Ulaanbaatar, Mongolia

²Second State Central Hospital, Ulaanbaatar, Mongolia

³Institute of Medical Sciences, Mongolian National University of Medical Sciences, Ulaanbaatar, Mongolia

Corresponding Author

Enkhsaikhan Lkhagvasuren, PhD.

Department of Immunology, School of Bio-Medicine, Sukhbaatar district, Zorig Street, Ulaanbaatar, 14210 Mongolia

Tel: +976-89981001

E-mail: enkhsaikhan@mnums.edu.mn

Running title: HCV E1 protein enhances macrophage iNOS expression *in vitro*.

Submitted date: Jan 20, 2021

Abstract

Objective:

Hepatitis C virus (HCV) is a single-stranded RNA virus that causes chronic hepatitis, cirrhosis, and liver cancer. Approximately 170 million individuals are infected with HCV worldwide. The pathogenesis of HCV-associated liver injury is thought to be due to the host antiviral immune response, including the T cell response, and excessive production of proinflammatory cytokines, reactive oxygen species, and nitric oxide (NO).

Interferon- γ (IFN- γ) is a key cytokine in the adaptive immune response that is primarily secreted from CD4+ T helper cells to induce cytotoxic T lymphocyte (CTL) cell response against HCV infection. Another important role of IFN- γ is the activation of macrophages in the liver resulting in inhibition of viral replication and increased NO production.

Enhanced inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression and NO production observed in the liver of HCV-infected patients is positively correlated with viral load and hepatic inflammation. HCV-infected macrophages are major producers of NO in the liver. It is not completely understood how HCV proteins affect iNOS expression and what the role of IFN- γ is in HCV protein expression in HCV-infected macrophages. In this study, we examined the effect of IFN- γ and HCV proteins on iNOS expression in the Raw264.7 cell line.

Results: Consistent with other studies, HCV core and NS5A proteins induced iNOS expression in macrophages. Moreover, HCV E1 protein-enhanced iNOS expression is highest in the presence and absence of IFN- γ activation.

Conclusion: These results indicate that hepatitis C virus core, NS5A, E1 protein regulates iNOS protein expression in IFN- γ -activated and resting macrophage cell lines. These findings points to a future research direction for understanding the pathogenesis of HCV-related liver inflammation.

Key words: HCV, iNOS, IFN- γ , RAW264.7

Introduction

Hepatitis C virus (HCV) is a positive-strand RNA virus belonging to the Flaviviridae family, which has established chronic infection in around 170 million human carriers worldwide [1]. Increasing evidence suggests that nitric oxide (NO) is an important factor in controlling viral infection by affecting the early antiviral immune response in HCV pathogenesis [2]. In the liver of HCV-infected patients, it has been reported that inducible nitric oxide (iNOS) expression and excessive local nitric oxide production, which is positively correlated with viral load, produce hepatic inflammation and tissue damage[3].

In many viral infections, iNOS expression appears to be regulated directly by the virus itself or indirectly via interferon- γ (IFN- γ) induction [4,5].

IFN- γ is the primary mediator of HCV-specific antiviral T-cell responses and strongly inhibits HCV replication *in vitro* [6]. IFN- γ is known to upregulate the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) in monocytes and macrophages, resulting in increased NO production [7]. However, the precise IFN- γ effect on HCV protein expression and crosstalk between HCV proteins and IFN- γ for induction of iNOS expression is not clear.

The primary source of nitric oxide in a liver is activated Kupffer cells (KC) and hepatocytes [8]. It has been shown that HCV proteins regulate iNOS expression and NO production in various cell systems. Many studies have reported that HCV core and non-structural proteins enhance NO production in hepatocytes and endothelial cells. However, there is an inconsistency regarding which

viral proteins are responsible because some authors have shown that the core and NS5A proteins are sufficient for iNOS induction in activated KCs. In contrast, Lee et al. found that HCV core protein inhibits NO production in cultured Raw264.7 and J774 cell lines [2,9].

To understand these differences, in this study we examined the effects of HCV proteins on iNOS expression in IFN- γ -activated and resting-state-macrophages.

Materials and Methods

Cell culture

The murine macrophage cell line RAW264.7 (Core laboratory, MNUMS, Ulaanbaatar Mongolia) was used in this study. RAW264.7 cells were cultured in RPMI 1640 (Cat: 12-702F from Lonza Pharma & Biotech, USA) supplemented with 10% inactivated fetal calf serum (FCS) (Cat: a3520501 Thermo Fisher Scientific Inc, USA), an 1% antibiotic mixture (Cat: 15140-122 from Thermo Fisher Scientific Inc, USA). Cells were incubated at 37°C and humidified in 5% CO₂ until cell growth reached 85% of the culture plates' surface area.

Transfection and IFN- γ treatment

The cells were seeded in a 6-well plate and were cultured until they reached a confluence of 70%. The culture was starved of nutrients by witholding the serum overnight before transfection. Transfection of 1 μ g pHCV-Core, pHCV-NS5A and pHCV-E1 (Cat: VG40278-UT, VG40284-UT, VG40279-UT from Sino biological, HK) plasmids were performed in separate wells using Lipofectamine 3000 (Cat: L3000001 from Invitrogen, USA) and cultured in a complete medium for 48 hours. Half of the cultures were then treated with IFN- γ (25 ng/ml) (Cat: 315-05-100 from PeproTech Rocky Hill, USA) for 18 hours at 48 hours post-transfection[10].

Immunoblotting

The cells were lysed using RIPA buffer supplemented with protease and phosphatase inhibitors (Lot: 06131601 from Thermo Fisher Scientific Inc, USA). The protein concentration was measured by Pierce BCA protein assay kit (Cat: 23228 from Thermo Fisher Scientific Inc, USA) according to the manufacturer's instruction. Proteins were resolved by SDS electrophoresis and transferred onto nitrocellulose membranes. The membrane was incubated for 24 hours with the HCV anti-core, anti-E1, anti-NS5A (Cat: ab18929, ab13833, ab54555 from Abcam, UK) anti-iNOS and anti-p38 antibodies (Cat: 2982S, 9215S from Cell Signaling Technology, USA). The blot was then incubated with the corresponding HRP-conjugated secondary antibodies (Cell Signaling Technology, USA Cat: 111-035-003). The proteins were visualized using the ECL system (Lot OA183335 from Pierce, Rockford, USA). Total p38 expression was used as an internal control [11].

Ethical statement

The study was approved by The Ministry of Health (MoH)-Medical Ethics Committee (№80).

Results

Effect of IFN- γ on the HCV proteins expression in macrophage.

Kupffer cells (KCs) are liver macrophages and represent 15 to 20% of the total liver cell population. Classical type macrophage activation against HCV occurs by T cell-mediated immunity in the presence of IFN- γ . It has been shown that IFN- γ suppresses HCV replication through activation of various ISG genes. However, IFN- γ 's direct impact on HCV protein expression is not well studied.

We examined the effect of IFN- γ on HCV proteins using transient transfection of HCV core, NS5A and E1 protein-coding plasmids. The experimental procedure for testing the effect of IFN- γ on HCV protein expression is as outlined in (Figure 1A). Raw264.7 cells were seeded 2 days before the transient transfection with equal amounts of HCV-core, NS5A and E1 coding plasmids driven by a CMV promoter. HCV E1, NS5A and core proteins are detected around 31 kD, 56 kD and 21 kD, respectively, by Western blot (Figure 1B). Our Western blot results proved (Figure 1B) that we successfully transfected DNA to RAW264.7 cells. IFN- γ treatment was performed at 2 days post-transfection to test the HCV protein expression in response to IFN- γ -mediated macrophage activation. An increase in HCV E1 protein expression was observed when the culture medium was supplemented with IFN- γ . In contrast, HCV core and NS5A expressions were inhibited by IFN- γ treatment (Figure 1B).

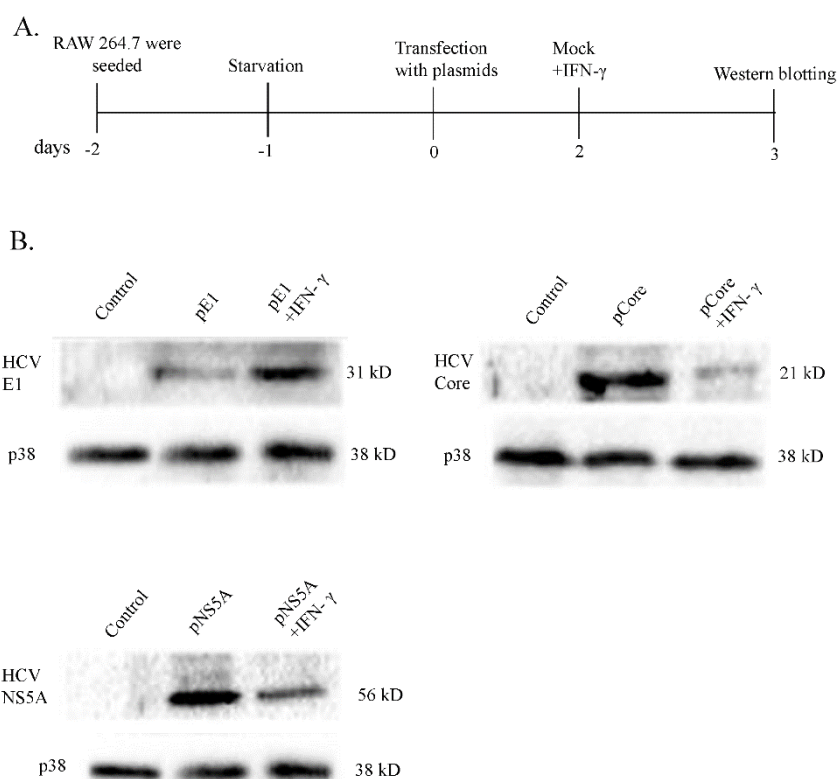


Figure 1. Effect of IFN γ on the HCV proteins expression in macrophages

(A) Illustration showing the experimental design. (B) Non-transfected RAW264.7 cells served as a negative control (Lane 1). The expression of HCV Core, NS5A, E1 protein in RAW264.7 cells was detected by Western Blot which indicates successful transfection (Lane 2). HCV core, NS5A, and E1 protein expressions were examined after IFN- γ treatment (Lane 3). Total p38 expression served as a loading control.

HCV E1 protein modulates iNOS expression in Raw264.7 cells

It is well known that HCV infection upregulates iNOS expression *in vitro* and *in vivo*, albeit the responsible HCV protein for increased iNOS expression in macrophages remains elusive. The increased iNOS expression and NO production induce liver tissue damage and have no impact on HCV replication and viral protein expression. Next, we asked how IFN- γ mediated the HCV-induced upregulation of iNOS by the host immune response. The experimental procedure is outlined (Figure 2A.). The RAW264.7 cells were starved of serum 24 hours before transfection to synchronize all cells into the same phase of the cell cycle and to eliminate possible noises of iNOS expression. IFN- γ and mock treatments were done at 2 days post-transfection with viral protein-coding plasmids. The expression of iNOS protein was detected by Western Blot using an anti-iNOS antibody at day 3 post-transfection. Mock-transfected resting RAW264.7 cells showed no detectable iNOS expression by western blot (Lane 1). IFN- γ treatment enhanced iNOS expression slightly (compare Lane 1 and Lane 2). HCV core transfection resulted in marginally increased expression of iNOS while no detectable signal was observed in the NS5A transfection (compare Lane 3 and 7 to Lane 1). To our surprise, HCV E1 transfection increased iNOS expression (compare Lane 1 and 5). The combination of HCV proteins transfection and IFN- γ mediated macrophage activation induced more iNOS expression compared to IFN- γ treatment alone (compare Lane 4, 6 and 8 to Lane 2). iNOS expression was markedly increased when with HCV E1 plasmid transfection was combined with IFN- γ treatment (compare Lanes 5 and 6) (Figure 2B).

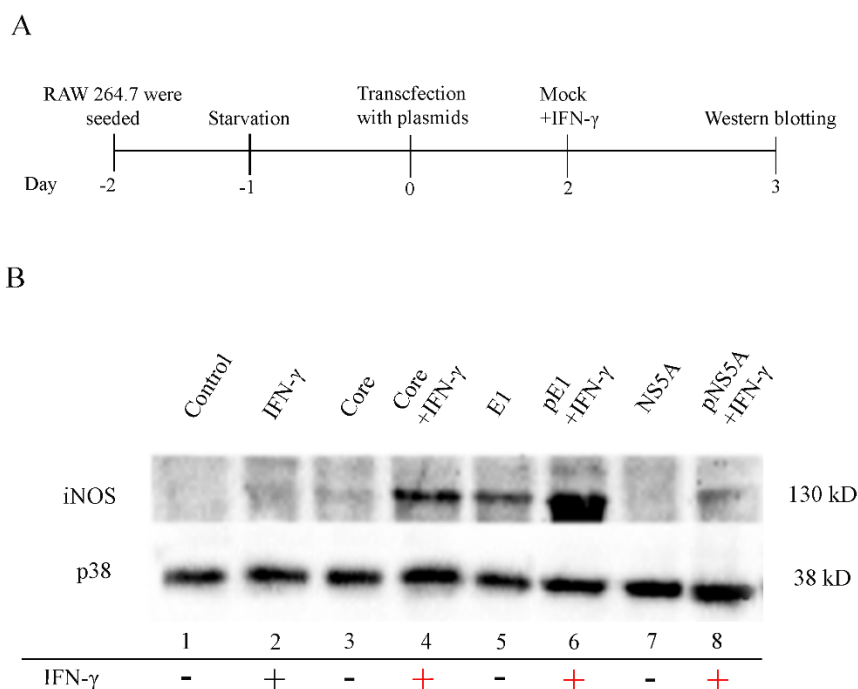


Figure 2. HCV proteins modulate iNOS expression in Raw264.7 cells

(A) Illustration showing the experimental design. (B) iNOS expression in Raw264.7 cells was detected by Western blot analysis using anti-iNOS antibodies (mouse). Non-transfected RAW264.7 cells served as a negative control (Lane 1). Non-transfected cells were activated by 25ng/ml IFN- γ (Lane 2). iNOS expression in RAW264.7 cells was detected by Western Blot after transfection with pHCV-Core, pHCV-E1 and pHCV-NS5A plasmids without IFN- γ activation (Lanes 3,5,7). HCV core, E1, NS5A protein-expressing RAW264.7 cells were activated by 25ng/ml IFN- γ (Lanes 4,6,8). Total p38 expression served as a loading control. (+) treated with IFN- γ , (-) untreated with IFN- γ

Discussion

In this study, we revisited the relationship between IFN- γ , HCV proteins and iNOS expression in macrophages using a transient transfection system. Our Western blot results proved successful transfection of HCV E1, NS5A and core protein-coding plasmids (Figure 1B). IFN- γ treatment on HCV core and NS5A protein-expressing RAW264.7 cells showed inhibition of viral protein expression. In contrast, HCV E1 protein expression was increased when cells were treated with IFN- γ (Figure 1B).

iNOS expression were influenced positively increases transfection of HCV proteins with the IFN- γ treatment. Surprisingly, we found that HCV E1 protein upregulates iNOS expression *in vitro* most strongly (Figure 2B).

The HCV protein's effect on NO production and iNOS expression has been studied in various cell systems in earlier reports (Table 1). HCV core protein increased iNOS expression in the studies using CHL, Raji, HepG2, primary human conjunctival fibroblast, human corneal epithelial cell lines and mouse liver [12-17]. In contrast, iNOS expression was downregulated by HCV core protein in the *in vitro* studies using Raw264.7 and J774 cell lines and coculture system of LSECs+HepG2 [18,19]. The opposite effect of HCV core protein on iNOS expression between this study and earlier reports can be related to several possibilities: 1) We detected increased iNOS expression when HCV core protein was treated together with IFN- γ in Raw264.7 cells, while earlier reports observed decreased NO production when co-treated with HCV core, LPS and Zymosan in Raw264.7 and J774 cells. 2) Earlier reports used the coculture system of LSECs+HepG2 to study the effect of HCV core protein on iNOS expression. Using a different cell culture system could be a cause of opposite observations. iNOS expression was upregulated by HCV NS5A protein in HepG2 and CHL cell systems [12,20].

Author	Experimental model	HCV protein	iNOS expression	NO production
Keigo Machida et al. [17]	Mouse liver	Core	Upregulated	
Maria Victoria Garcia et al. [12]	CHL cell line	Core NS5A	Upregulated Upregulated	
Keigo Machida et al. [13]	Raji cell	Core	Upregulated	
Susana de Lucas et al.[15]	HepG2	Core	Upregulated	
Chu Hee Lee et al.[18]	Raw 264.7 and J774	Core		Downregulated
Li-Jie Sun et al.[19]	LSECs+HepG2	Core		Downregulated
Ayilam Ramachandran Rajalakshmy et al. [15]	Primary human conjunctival fibroblasts	Core	Upregulated	Upregulated
Yong-Fang Jiang et al.[20]	HepG2	NS5A	Upregulated	
Ayilam Ramachandran Rajalakshmy et al. [16]	Human corneal epithelial cell line	Core	Upregulated	Upregulated

Table 1. **Previous reports of HCV protein's effect on NO production and iNOS expression**

We also found that HCV NS5A could stimulate iNOS expression in the Raw264.7 cell line. We were unable to find any studies about HCV E1 influence on iNOS expression in macrophages in our literature review (Table 1). Approximately up to 85% of acute HCV infections result in persistent infection and can lead to life-threatening chronic conditions, including cirrhosis and hepatocellular carcinoma [21]. The mechanism of chronicity is explained by an insufficient HCV-specific CTL response, suppressed type 1 helper T cell response and generation of viral escape mutations [22,23].

Frese et al. demonstrated HCV viral protein synthesis and replication were not suppressed by increased iNOS expression and NO in hepatocytes. They also reported that in iNOS-deficient mice, increased production of NO might weaken T cell antiviral responses by impairing T helper 1 cell activity, leading the virus to overcome the pressure of the T cell immunity [24]. Viral escape mutations are frequently another important reason for viral persistence in HCV infection, and evidence suggests that NO could play a role in this scenario by accelerating the mutation rate of HCV RNA during viral infection in vivo [23]. What could then be the HCV E1 protein's role in the pathogenesis of HCV persistence? Is it possible that HCV E1 protein, driven iNOS expression, may play a role in HCV persistence? HCV E1 protein expression is increased when IFN- γ (T helper I cytokine) is added (Figure 3). HCV E1 protein enhances iNOS expression in IFN- γ activated macrophages. Enhanced iNOS expression resulted in excessive NO production in Kupffer cells. It may be that the HCV E1 protein indirectly modulates T helper 1 cell activity and accelerates HCV mutation rate (Figure 3). The HCV E1 protein allows HCV to escape and weaken B and T cell immune response.

In summary, HCV core and NS5A proteins induce iNOS expression when combined together with IFN- γ . IFN- γ alone inhibited the expression of those viral proteins. However, HCV E1 protein strongly induced iNOS expression with or without IFN- γ . Surprisingly, IFN- γ treatment further elevated HCV E1 protein levels. This is the first report to our knowledge that HCV E1 protein drives enhanced expression of iNOS in the macrophage cell line. Our results clarify there is crosstalk between HCV proteins and iNOS expression in the background of IFN- γ treatment. HCV E1-induced

iNOS expression may modulate HC-associated tissue damage pathogenesis and viral persistence. These findings update our understanding of HCV pathogenesis and HCV persistence.

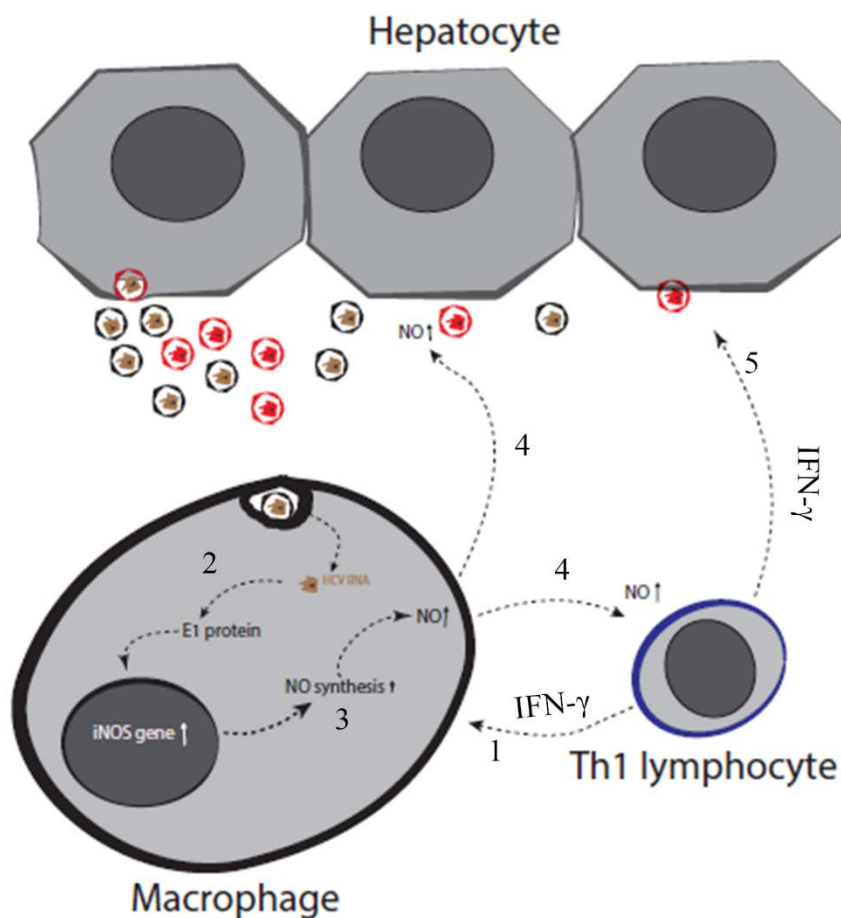


Figure 3. Possible mechanism of HCV E1 protein role on HCV persistence

HCV, viral proteins, liver cells and signalling molecules involved in the pathogenesis of HCV persistence are illustrated. HCV persistence mechanism is generally explained by suppressed T helper 1 response and viral escape mutations. Nitric oxide induces weakens T helper 1 response and accelerates virus mutations (illustrated by block arrow, step 4, 5) (references). IFN- γ secreted from HCV specific T helper 1 lymphocyte induces HCV E1 protein expression in HCV-infected Kupffer cells (step 1). HCV E1 enhances iNOS expression in Kupffer cells (step 2). IFN- γ activated HCV E1 protein in Kupffer cells results in a further increase of iNOS expression (step 3). Excessive nitric oxide produced from HCV E1-derived iNOS activation weakens the T helper 1 response (step 4) and leads to the generation of escape mutations (step 5).

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Acknowledgments

The research funding was provided by the Mongolian Foundation for Science and Technology and the Ministry of Education, Culture, Science and Sports of Mongolia (Basic research grant: 2018/39). We thank Lkhagvasuren Damdindorj for technical support. We are grateful to Dr. Ron Anderson for the critical reading of the manuscript.

References

1. Bacon BR, Khalid O. New therapies for hepatitis C virus infection. *Mo Med*. 2011 Jul-Aug;108(4):255-9. PMID: 21905441; PMCID: PMC6188416.
2. Majano PL, Garcia-Monzon C. Does nitric oxide play a pathogenic role in hepatitis C virus infection? *Cell Death Differ*. 2003 Jan;10 Suppl 1:S13-5. doi: 10.1038/sj.cdd.4401115. PMID: 12655339.
3. Mihm S, Fayyazi A, Ramadori G. Hepatic expression of inducible nitric oxide synthase transcripts in chronic hepatitis C virus infection: relation to hepatic viral load and liver injury. *Hepatology*. 1997 Aug;26(2):451-8. doi: 10.1002/hep.510260228. PMID: 9252158.
4. Hang do TT, Song JY, Kim MY, Park JW, Shin YK. Involvement of NF- κ B in changes of IFN- γ -induced CIITA/MHC-II and iNOS expression by influenza virus in macrophages. *Mol Immunol*. 2011 May;48(9-10):1253-62. doi: 10.1016/j.molimm.2011.03.010. Epub 2011 Apr 8. PMID: 21481937..
5. Remy MM, Sahin M, Flatz L, Regen T, Xu L, Kreutzfeldt M, Fallet B, Doras C, Rieger T, Bestmann L, Hanisch UK, Kaufmann BA, Merkler D, Pinschewer DD. Interferon- γ -Driven iNOS: A Molecular Pathway to Terminal Shock in Arenavirus Hemorrhagic Fever. *Cell Host Microbe*. 2017 Sep 13;22(3):354-365.e5. doi: 10.1016/j.chom.2017.07.008. Epub 2017 Aug 17. PMID: 28826838.
6. Schweyer S, Mihm S, Radzun HJ, Hartmann H, Fayyazi A. Liver infiltrating T lymphocytes express interferon gamma and inducible nitric oxide synthase in chronic hepatitis C virus infection. *Gut*. 2000 Feb;46(2):255-9. doi: 10.1136/gut.46.2.255. PMID: 10644322; PMCID: PMC1727815.
7. Töttemeyer S, Sheppard M, Lloyd A, Roper D, Dowson C, Underhill D, Murray P, Maskell D, Bryant C. IFN-gamma enhances production of nitric oxide from macrophages via a mechanism that depends on nucleotide oligomerization domain-2. *J Immunol*. 2006 Apr 15;176(8):4804-10. doi: 10.4049/jimmunol.176.8.4804. PMID: 16585574.
8. Wang YY, Chen MT, Hong HM, Wang Y, Li Q, Liu H, Yang MW, Hong FF, Yang SL. Role of Reduced Nitric Oxide in Liver Cell Apoptosis Inhibition During Liver Damage. *Arch Med Res*. 2018 May;49(4):219-225. doi: 10.1016/j.arcmed.2018.09.001. Epub 2018 Sep 27. PMID: 30269965.
9. Lee CH, Choi YH, Yang SH, Lee CW, Ha SJ, Sung YC. Hepatitis C virus core protein inhibits interleukin 12 and nitric oxide production from activated macrophages. *Virology*. 2001 Jan 5;279(1):271-9. doi: 10.1006/viro.2000.0694. PMID: 11145908.
10. Dolgorsuren Sandagdorj1, Batkhishig Munkhjargal1, Baasansuren Enkhjargal1, Baljinnyam Tuvdenjamts13, Enkhjin Zorigt1, Budjav Jadamba1, Altanshagai Chinbat1, Khongorzul Samdankhuu4, Ulziisaikhan Jambalganii1, Batsuren Boldbaatar1, Tsogtsaikhan Sandag1, Bilegtsaikhan Tsolmon2, Enkhsaikhan Lkhagvasuren1. Regulating Action of in Vitro

- Hepatitis C Virus Infection on Interferon-Induced Interferon Stimulating Genes in Murine Macrophages, *Cent Asian J Med Sci* 2018;4:25-34. doi.org/10.24079/CAJMS.2018.03.004
11. Tsolmongyn B, Koide N, Jambalgaaniin U, Odkhuu E, Naiki Y, Komatsu T, Yoshida T, Yokochi T. A Toll-like receptor 2 ligand, Pam3CSK4, augments interferon- γ -induced nitric oxide production via a physical association between MyD88 and interferon- γ receptor in vascular endothelial cells. *Immunology*. 2013 Nov;140(3):352-61. doi: 10.1111/imm.12147. PMID: 23826757; PMCID: PMC3800440.
 12. García-Mediavilla MV, Sánchez-Campos S, González-Pérez P, Gómez-Gonzalo M, Majano PL, López-Cabrera M, Clemente G, García-Monzón C, González-Gallego J. Differential contribution of hepatitis C virus NS5A and core proteins to the induction of oxidative and nitrosative stress in human hepatocyte-derived cells. *J Hepatol*. 2005 Oct;43(4):606-13. doi: 10.1016/j.jhep.2005.04.019. PMID: 16112247.
 13. Machida K, Cheng KT, Sung VM, Lee KJ, Levine AM, Lai MM. Hepatitis C virus infection activates the immunologic (type II) isoform of nitric oxide synthase and thereby enhances DNA damage and mutations of cellular genes. *J Virol*. 2004 Aug;78(16):8835-43. doi: 10.1128/JVI.78.16.8835-8843.2004. PMID: 15280491; PMCID: PMC479064.
 14. de Lucas S, Bartolomé J, Amaro MJ, Carreño V. Hepatitis C virus core protein transactivates the inducible nitric oxide synthase promoter via NF-kappaB activation. *Antiviral Res*. 2003 Oct;60(2):117-24. doi: 10.1016/j.antiviral.2003.08.006. PMID: 14638407.
 15. Rajalakshmy AR, Malathi J, Madhavan HN, Srinivasan B, Iyer GK. Hepatitis C virus core and NS3 antigens induced conjunctival inflammation via toll-like receptor-mediated signaling. *Mol Vis*. 2014 Sep 25;20:1388-97. PMID: 25352745; PMCID: PMC4173667.
 16. Rajalakshmy AR, Malathi J, Madhavan HN. HCV core and NS3 proteins mediate toll like receptor induced innate immune response in corneal epithelium. *Exp Eye Res*. 2014 Nov;128:117-28. doi: 10.1016/j.exer.2014.09.011. Epub 2014 Oct 1. PMID: 25280963.
 17. Machida K, Tsukamoto H, Liu JC, Han YP, Govindarajan S, Lai MM, Akira S, Ou JH. c-Jun mediates hepatitis C virus hepatocarcinogenesis through signal transducer and activator of transcription 3 and nitric oxide-dependent impairment of oxidative DNA repair. *Hepatology*. 2010 Aug;52(2):480-92. doi: 10.1002/hep.23697. PMID: 20683948; PMCID: PMC3107125.
 18. Lee CH, Choi YH, Yang SH, Lee CW, Ha SJ, Sung YC. Hepatitis C virus core protein inhibits interleukin 12 and nitric oxide production from activated macrophages. *Virology*. 2001 Jan 5;279(1):271-9. doi: 10.1006/viro.2000.0694. PMID: 11145908.
 19. Sun LJ, Yu JW, Shi YG, Zhang XY, Shu MN, Chen MY. Hepatitis C virus core protein induces dysfunction of liver sinusoidal endothelial cell by down-regulation of silent information regulator 1. *J Med Virol*. 2018 May;90(5):926-935. doi: 10.1002/jmv.25034. Epub 2018 Feb 2. PMID: 29350417.
 20. Jiang YF, He B, Li NP, Ma J, Gong GZ, Zhang M. The oncogenic role of NS5A of hepatitis C virus is mediated by up-regulation of survivin gene expression in the hepatocellular cell through p53 and NF- κ B pathways. *Cell Biol Int*. 2011 Dec;35(12):1225-32. doi: 10.1042/CBI20110102. PMID: 21612579.
 21. Leblebicioglu H, Bayirli D, Esen S, Sunbul M, Eroglu C. Treatment of acute hepatitis C virus infection with interferon-alpha 2b and ribavirin: case report and review of the literature. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2002;1:3. Published 2002 Oct 14. doi:10.1186/1476-0711-1-3
 22. Koziel MJ. Cellular immune responses against hepatitis C virus. *Clin Infect Dis*. 2005 Jul 1;41 Suppl 1:S25-31. doi: 10.1086/429492. PMID: 16265610.
 23. Larrubia JR, Moreno-Cubero E, Lokhande MU, García-Garzón S, Lázaro A, Miquel J, Perna C, Sanz-de-Villalobos E. Adaptive immune response during hepatitis C virus infection. *World*

- J Gastroenterol. 2014 Apr 7;20(13):3418-30. doi: 10.3748/wjg.v20.i13.3418. PMID: 24707125; PMCID: PMC3974509.
24. Frese M, Schwärzle V, Barth K, Krieger N, Lohmann V, Mihm S, Haller O, Bartenschlager R. Interferon-gamma inhibits replication of subgenomic and genomic hepatitis C virus RNAs. Hepatology. 2002 Mar;35(3):694-703. doi: 10.1053/jhep.2002.31770. PMID: 11870386.