

РАЗРАБОТКА МОЛЕКУЛЯРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ COVID-19 МЕТОДОМ ИММУНОИНФОРМАТИКИ И ОБРАТНОЙ ВАКЦИНОЛОГИЕЙ



Мухамадиева Зарина Баходировна¹, Мухамадиев Баходир Тимурович¹,
Касимова Шурангиз Адизжановна², Мухамадиева Нигина Баходировна³

1-Бухарский Инженерно-Технологический институт, Республика Узбекистан, г. Бухара;
2-Ташкентский фармацевтический медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Ташкент;
3- Бухарский государственный медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Бухара

ИММУНО ИНФОРМАТИКА ВА ТЕСКАРИ ВАКЦИНОЛОГИЯ УСУЛИДА COVID-19 ГА ҚАРШИ ВАКЦИНАНИНГ МОЛЕКУЛЯР ҚУРИЛИШИНИ ИШЛАБ ЧИҚИШ

Мухамадиева Зарина Баходировна¹, Мухамадиев Баходир Тимурович¹,
Қосимова Шурангиз Адизжановна², Мухамадиева Нигина Баходировна³

1-Бухоро муҳандислик-технология институти, Ўзбекистон Республикаси, Бухоро ш.;
2-Тошкент фармацевтика тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.;
3- Бухоро давлат тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Бухоро ш.

DEVELOPMENT OF A MOLECULAR DESIGN OF A VACCINE AGAINST COVID-19 BY IMMUNOINFORMATICS AND REVERSE VACCINOLOGY

Mukhamadiev Zarina Bahodirovna¹, Mukhamadiev Bahodir Timurovich¹,
Kasimova Shurangiz Adizjanovna², Mukhamadiev Nigina Bahodirovna³

1-Bukhara Engineering Technological Institute, Republic of Uzbekistan, Bukhara;
2-Tashkent Pharmaceutical Medical Institute, Republic of Uzbekistan, Tashkent;
3- Bukhara State Medical Institute, Republic of Uzbekistan, Bukhara

e-mail: muhamadievazarina718@gmail.com

Резюме. Долзарблиги. COVID-19 пандемияси глобал муаммога айланди, бу эса жаҳон илмий ҳамжамиятини инсониятнинг ушбу ҳалокатли душманига қарши чора-тадбирлар ишлаб чиқишида таъвишга солмоқда. Энг йирик илмий марказларнинг (Хитой, Россия, АҚШ, Ўзбекистон ва бошқалар) кўплаб олимлари ушбу муаммо устида жадал иш олиб боришларига қарамай, ушбу инфекцияга қарши курашадиган самарали вакцина ҳали ҳам мавжуд эмас. Шунинг учун ҳисобга олган ҳолда, биз тескари вакцинология, ферментларни ингибиция қилиши ва иммуноинформатикадан фойдаланган ҳолда COVID-19 вирусига қарши эпитоплар асосида мумкин бўлган кичик бирликда вакциналарни ишлаб чиқиши бўйича ўз тадқиқотимизни ўтказдик. Мақсад: 4 та COVID-19 оқсилга қарши эпитопга асосланган янги вакцина дизайнини яратиши. COVID-19 га қарши потенциал вакциналарни яратиши бўйича тажрибаларда материаллар ва усуллар тадқиқотлардан олинган ва мослаштирилган [6]. Вируснинг ўзини аниқлаш, танлаш ва вирусли оқсил кетма-кетлигини қидириши NCBI маълумотлар базаси ёрдамида амалга оширилди: нуклеокаксид фосфопротеин; мембрана гликопротеини; сирт гликопротеини; ORF3a протеин. Хулоса: Интенсив ҳисоблаш тажрибалари ва моделлаштириши натижасида унга мумкин бўлган вакцина конструкцияларини (ГК, ГЛ, РТ) яратиши мумкин бўлди ва ушбу конструкциялардан бири молекуляр докингни ўрганиши асосида энг яхши вариант сифатида танланди, бу вирусга самарали таъсир этиши керак. Тадқиқотларимиз натижалари олимларнинг COVID-19 вирусига қарши профилактика чораларини кўришидаги саъй-ҳаракатларини кўллаб-қувватлашни тарғиб этади.

Калим сўзлар: COVID-19, вакцина, иммуноинформатика, моделлаштириши, молекуляр зўриқиши.

Abstract. Relevance. The COVID-19 pandemic has become a global problem that has caused the concern of the world scientific community to develop and create countermeasures against this mortal enemy of humanity. The pandemic has now killed one million people through infection and spread. There is still no effective vaccine that was able to fight this infection, despite the fact that many scientists from the largest scientific centers (China, Russia, USA, Uzbekistan, etc.) are intensively working on this problem. With this in mind, we conducted our own research on the development of possible subunit vaccines based on epitopes against the COVID-19 virus using reverse vaccinology, enzyme inhibition and

immunoinformatics. Purpose: creation of a new vaccine design based on an epitope against 4 COVID-19 proteins. In experiments to create potential vaccines against COVID-19, materials and methods were used, taken and adapted from works [6]. The identification, selection of the virus itself, and the search for viral protein sequences were carried out using the NCBI database. Nucleocapsid phosphoprotein; membrane glycoprotein; surface glycoprotein; ORF3a protein. Conclusions: As a result of intensive computational experiments and modeling, it was possible to create three possible vaccine constructs (HA, GL, RT) and one of these constructs was chosen as the best option based on the study of molecular docking, which should effectively act on this virus. The results of our research should support the efforts of scientists to provide a preventive measure against the COVID-19 virus.

Key words: COVID-19, vaccine, immunoinformatics, modeling, molecular docking.

Введение. Несмотря на интенсивные исследования учёных в крупнейших научных центрах по всему миру (Франция, Россия, Китай, США, Узбекистан, и др.) на сегодняшний день не существует эффективной вакцины, которая была бы способной бороться с инфекциями COVID-19, следовательно, лечение является лишь профилактическим. Использование интерферонов в сочетании с рибовирином и некоторыми другими биологически активными антиоксидантами, такими как ГК, ГЛ и РТ [6], несколько эффективно, однако, эффективность комбинированных лекарств нуждается в дальнейшей оценке [1,2].

Экспериментальная часть. Опыты проводились с целью создания новой вакцины на основе эпитопа против 4-х белков COVID-19, т.е. нуклеокапсидного фосфопротеина, ответственного за упаковку генома и сборку вируса, поверхностного гликопротеина, который ответственен за слияние мембран в ходе проникновения вируса в клетку хозяина, белка ORF3, который поддерживает репликацию вируса и характеризующегося вирулентностью [3], распространением вируса и инфекцией и мембранного гликопротеина, который опосредствует взаимодействие вирионов с клеточными рецепторами, с применением методов обратной вакцинологии и иммуноинформатики [4].

Обратная вакцинология и иммуноинформатика относятся к процессам разработки вакцин, в которых новые антигены вируса или микроорганизма (патогенного) выявляются путём анализа генетической информации данного конкретного объекта. В обратной вакцинологии методы и подходы биоинформатики применяются для идентификации и анализа этих новых антигенов. Эти методы являются быстрыми, дешёвыми, эффективными, простыми способами создания вакцин [6].

Материалы и методы исследования. В опытах по созданию потенциальных вакцин против COVID-19 использовались материалы и методы, взятые и приспособленные из работ [6]. Идентификация, отбор самого вируса и поиск последовательностей вирусных белков проводились с помощью базы данных NCBI: Нуклеокапсидный фосфопротеин; Мембранный гликопротеин; По-

верхностный гликопротеин ORF3a протеин (табл. 1).

Результаты и их обсуждение. Результаты анализа антигенности, аллергенности и физико-химических свойств вакцинных конструкций показали, что все три вакцинные конструкции являются как антигенными, так и не аллергенными. KB-3 имел самый высокий прогнозируемый молекулярный вес 74509.61, коэффициент экстинкции $36819 \text{ м}^{-1} \text{ см}^{-1}$ алифатический индекс 54.91 Предсказанный период полувыведения для всех *in vivo* 1 час и оказалось, что KB-2 имеет самое высокое значение GRAVY – 0.836 среди трёх вакцин. Из анализа прогнозирования вторичной, третичной структуры вакцинных конструкций было выявлено, что вторичная структура вакцинной конструкции KB-1 имела самый высокий процент аминокислот (67.4%) в формировании α -спирали, а также самый высокий процент аминокислот (8.1%) в формировании β -цепей. KB-3 имел высокий процент (37.4%) аминокислот в образовании α -спирали. Вакцины KB-1 и KB-2 имели 02 домена, тогда как KB-3 имел только 1 домен. KB-2 имел самое низкое значение pI 6.35^{-1} -05. Значение pI представляет относительное качество белковой модели. Меньшее значение pI относится более высокому качеству белковой молекулы и наоборот. Таким образом, KB-2 показал лучшую производительность в опытах по генерации трёхмерных структур. Кроме того, три различных шаблонов были использованы для создания трёхмерных структур трёх разных вакцин. Сервер Raptor x использовал эти шаблоны для создания отклика трёхмерных структур [10].

Прогноз антигенности и анализ физико-химических свойств белковых последовательностей были следующими: два белка, а именно нуклеокапсидный фосфопротеин и поверхностный гликопротеин были идентифицированы как сильные антигены и использовались на следующих этапах эксперимента. Нуклеокапсидный фосфопротеин имеет солидную высокую прогнозируемую точку изоэлектрическую – pI , равную 10.06, гликопротеин имеет самый высокий прогнозируемый коэффициент экстинкции – $148820 \text{ м}^{-1} \text{ см}^{-1}$.

Таблица 1. Перечень белков COVID-19 в соответствии с их регистрационными номерами

п.н.	Название белка	номер регистрации
01	нуклеокапсидный фосфопротеин	QHD 43423.2
02	мембранный гликопротеин	QHD 43419.1
03	ORF3a белок	QHD 43417.1
04	поверхностный гликопротеин	QHD 43416.1

Таблица 2. Определение антигенности отобранных белков

Название протеина	Антигенность (threshold=0.4; tumor model)
нуклеокапсидный фосфопротеин	антигенный (0.709)
мембранный гликопротеин	неантигенный (0.169)
ORF3a белок	неантигенный (0.372)
поверхностный гликопротеин	антигенный (0.537)

Таблица 3. Анализ физико-химических свойств вирусных белков

Название белка	число аминокислот	М.В	ИЭТ (IP) теорет.	$E_{\text{экс}} \text{ М}^{-1}, \text{ см}^{-1}$	$\lambda \frac{1}{2}$ час	Алифат.индекс	GRAVY
нуклеокапсидный фосфопротеин	408	45628.4	10.61	43890	28	58.68	-0.974
поверхностный гликопротеин	1288	141188.6	6.17	148820	28	84.94	-0.080

Таблица 4. Антигенность, аллергичность и анализ физико-химических свойств вакцинных конструкций

Название вакцинных конструкций	Число аминокислот	Антигенность	аллергенность	М.В	ИЭТ (теор.)	$\alpha_{\text{экс}}$	$\lambda \frac{1}{2}$ час	Алиф. индекс	GRAVY
КВ-1 (ГК)	584	+	-	62034	10.68	35786	1	40.25	-1.044
КВ-2 (ГЛ)	684	+	-	70314	10.26	32486	1	55.89	-0.836
КВ-3 (РТ)	716	+	-	74509	10.34	36819	1	54.91	-0.946

Таблица 5. Результаты анализа 2-й структуры вакцинных конструкций

Наименование вакцины	α -спираль (% а-к-г)	β -цепи (% а-к-г)	coil structure (% а-к-г)
КВ-1 (ГК)	26	8.1	67.4
КВ-2 (ГЛ)	31.9	6.9	61.8
КВ-3 (РТ)	37.4	6	57.4

Таблица 6. Результаты анализа 3-й структуры всех вакцинных конструкций

Название $E_{\text{вак}}$ цепи	число доменов	P - значение	PDB Id
КВ-1 (ГК)	02	2.38 e-05	1 kj 6A
КВ-2 (ГЛ)	02	6.36 e-06	1 dd 3A
КВ-3 (РТ)	01	2/35 e-05	6 cfe A

Оказалось, что оба они имеют одинаковый прогнозируемый период полураспада 28 час. Однако, поверхностный гликопротеин имеет самый высокий прогнозируемый алифатический индекс и большое среднее значение гидропатичности (GRAVY) среди двух белков (табл. 2).

Предсказание Т-клеточного и В-клеточного эпитопа и определение их антигенности и топологии проводились следующим образом. Эпитопы МНС класса II были определены для потенциальной конструкции вакцин. Сервер IEDB создал большое количество эпитопов. Сервер содержит экспериментальные данные об антителах и Т-

клеточных эпитопов из исследований, проведенных на людях, обезьянах и других видах животных в смысле аллергии, инфекционных заболеваний, аутоиммунитета и трансплантации. Сервер генерирует эпитопы путём анализа этих экспериментальных данных [8]. Исходя из оценок антигенности, десять эпитопов были отобраны из двадцати лучших, поскольку эти эпитопы генерировали почти одинаковые показатели AS и процентиля. Показатели процентиля прогнозируют аффинность (средство) связывания, а более низкие значения процентелей соответствуют более высокой аффинности связывания. Затем эпитопы с вы-

сокой антигенностью, неаллергенностью и нетоксичностью были выбраны для создания вакцины. В-клеточные эпитопы также были отобраны на основе их антигенности, неаллергенности и длины (более чем 12 аминокислот) (табл. 3).

Онлайн – инструмент MHC cluster 2.0 использовался для прогнозирования или кластерного анализа возможных аллелей MHC класса I и MHC класса II, которые могут взаимодействовать с выбранными эпитопами во время иммунных реакций. Инструмент показывает взаимосвязь кластеров аллелей филогенетическим образом.

Генерация трёхмерных структур эпитопов и пептид белкового докинга наблюдалась следующим образом. После прогнозирования трёхмерной структуры выбранных эпитопов проводилась стыковка пептид-белок чтобы выяснить все ли эпитопов способны связываться с молекулами MHC класса I, а также с молекулами MHC класса II или нет. Аллель HLA-A* 11-01 использовали в качестве рецептора для стыковки с эпитопами MHC класса I, а HLA-B* 04.01 использовали в качестве рецептора для стыковки с эпитопами MHC класса II. Среди эпитопов MHC класса I нуклеокапсидного фосфопротеина LIRQGTDYKNWP дал самый низкий глобальный энергетический показатель -16.44 GVLTESNKK дал лучший энергетический показатель – 34.60 для эпитопов MHC класса I поверхностного гликопротеина.

Строительство вакцин проводили следующим образом. После успешной стыковки были построены три вакцины с использованием выбранных эпитопов, которые должны быть направлены на борьбу с COVID-19 (табл. 4). Для конструирования вакцин были использованы три различных адюванта, т.е. β – дефензин рибосомный белок L₇/L₁₂ b белок НАВА, а также различные линкеры EAAAK, GGGG, GPGPG и KK в их соответствующих положениях. Последовательность PADRE является важной последовательностью, которая использовалась при конструировании вакцины. Она обладает способностью увеличивать эффективность вакцин с минимальной токсичностью. Более того, последовательность PADRE также улучшает ответ ЦТЛ, обеспечивая тем самым мощный иммунный ответ [8]. Затем прикреплены глицирризиновая кислота (ГК), глабридин (ГЛ), ресвератрол (РТ). Вновь созданные вакцины были обозначены как KB-1, KB-2, KB-3.

Три конструкции вакцины были 3D уточнены и затем подтверждены на этапе 3D уточнения и при проверки трёхмерной структуры [табл. 5]. Сервер PROCHEK делит график Рамачандрана на 4 области: наиболее предпочтительная зона (представлена красным цветом), дополнительно разрешённая зона (представлена жёлтым цветом), щедро разрешённый регион (представлена светло-

жёлтым цветом) и запрещённая область (представлена белым цветом). По данным сервера белок самого высокого качества должен содержать более 90 % аминокислот в наиболее предпочтительной зоне. Дополнительно разрешённая область и щедро разрешённая зона могут также содержать некоторый процент аминокислот белка. Однако ни одна аминокислота не должна находиться в запрещённой зоне [11].

3D белковые структуры, созданные на предыдущем этапе, были уточнены для дальнейшего анализа и проверки. Уточнённые структуры были подтверждены с помощью участков Рамачандран [табл. 6]. Анализ показал, что вакцина KB-1 имеет превосходный процент 94.8% аминокислот в наиболее благоприятной области, 4,7% аминокислот в дополнительно разрешённых зонах, 0.0% аминокислот в щедро разрешённой зоне и 1.5% аминокислот в запрещённых зонах. Вакцина KB-2 содержала 90% аминокислот в наиболее предпочтительных областях, 8.8% аминокислот в дополнительно разрешённых регионах, 0.6 % аминокислот в щедро разрешённых зонах и 1.4 % аминокислот в запрещённых зонах. Вакцина KB-3 показала наихудший результат с 77.7% аминокислот в наиболее благоприятных зонах, 12.3% аминокислот в щедро разрешённых регионах и 10% аминокислот в запрещённых зонах [11,19].

Вакцинный белковый дисульфидный инжинеринг. В белковой дисульфидной инженерии не дисульфидные связи генерировались в трёхмерных структурах вакцинных конструкций [20,21]. В опыте были выбраны пары аминокислот, которые имели значение энергии связи менее 2.2 ккал/моль. Поскольку около 88% нативных дисульфидных связей в белках имеют энергетическую ценность менее 2.4 ккал/моль, значение энергии связи 2.2 ккал/моль было выбрано в качестве порогового значения для эксперимента по прогнозированию [11]. CV-1 генерировал 10 аминокислотных пар, которые обладали способностью образовывать дисульфидные связи. Однако была выбрана только одна пара, потому что, они имели энергию связи менее 2.2 ккал/моль: 276 Ser-311 Arg. Хотя и KB-2 и KB-3 генерировали пары аминокислот 04 и 05 соответственно, которые могут образовывать дисульфидные связи, но ни одна пара аминокислот не показала энергию связи менее 2.2 ккал/моль. Выделенные пары аминокислот KB-1 образовывали мутантную версию исходных вакцин [12].

Далее, для выяснения того, какая вакцина COVID лучше сконструирована проводились исследования стыковки белок-белок. [табл.7]. Конструкция вакцины с лучшим результатом в молекулярной стыковке считалось лучшей конструкцией вакцины. По результатам стыковки было доказано, что KB-1 является самой лучшей вак-

циной, так как она показала лучшие и самые высокие оценки в док- состоянии, а также при изучении MM-GBSA на сервере Hawk Dock. Однако, KB-2 показала наилучшее сродства связывания (оценка ΔG). Поскольку KB-1 показал лучшие результаты при изучении. Стыковки белок-белок с почти всеми мишенями на всех серверах, а также с TRL-8, она была признана лучшим конструктором вакцины среди трёх сконструированных вакцин. [13,14,15].

Далее проводилось моделирование молекулярной динамики пристыкованного комплекса KB-1- TRL-8. Динамическое моделирование белков позволяет легко определить стабильность и физические движения их атомов и молекул [16]. Таким образом, моделирование проводилось для определения относительной стабильности вакцинного белка. Деформируемость комплекса включает области белка с умеренной степенью деформируемости, а β - фактор комплекса обеспечивает сравнение между полем NMA и полем PDB пристыкованного комплекса. Этот комплекс KB-1- TRL-8 сгенерировал довольно хорошее собственное значение 3.817339e06. Изучение дисперсии показало, что существует индивидуальная и кумулятивная дисперсия. Ковариационная карта комплекса включает коррелированное движение между парой остатков, а также антикоррелированное движение. Карта упругости комплекса

включает связи между атомами и более жёсткие области [22,23].

После успешного исследования стыковок была построена вакцина. Линкеры использовали для связывания T- и B- клеточных эпитопов между собой, а также с адьювантными последовательностями, а также с последовательностью PADRE. Вакцины с тремя различными адьювантами и антиоксидантами (ГК, ГЛ, РТ) были обозначены как KB-1, KB-2, KB-3. Поскольку все три вакцины оказались антигенными, она должна вызывать хороший иммунный отклик. Кроме того, все они не должны вызывать аллергическую реакцию в организме, как в случае с силиконом. Самым высоким алифатическим индексом 54,94 KB-3 имел самое высокое предсказанное количество алифатических аминокислот в боковых цепях молекулы белка. Самый высокий теоретический ИЭТ (pI)KB-1 указывает на то, что для достижения изоэлектрической точки (ИЭТ) требуется высокий pH. Сходные значения коэффициента вымирания были получены тремя вакцинными конструкциями. Эти три конструкции вакцины показали довольно хорошие и сходные результаты при анализе физико-химических свойств.

Моделирование вторичной структуры вакцинных конструкций показало, что KB-2 имеет наименьшее количество аминокислот в формировании α – спирали (25 %) и 67.4 %аминокислот в образовании β - цепи.

Таблица 7. Результаты докинг анализа всех вакцинных конструкций

Наименование вакцины	глобальная энергия	наименование мишени	PDB Id мишени	аффинность связи ΔG ккал/моль	Hawk Dock	MM-GBSA св.энергия связи ккал/моль
KB-ГК-1	- 4.24	DRB 3	1A6A	-18.0	-6435.81	-55.36
	- 4.89		1HIS	-19.8	-6679.19	-140.77
	4.37		2F5S	-19.2	-7298.01	-147.88
	-7.40		2Q6W	-19.5	- 7580.92	- 137.9
	-10.88		2SEB	-22.3	-6759.13	-99.02
	- 9.01		2C5J	-17.8	-5200.88	-115.14
	- 22.83		3W3M	13.2	-6513.77	-51.92
KB-ГЛ-2	-10.40	DRB 3	1A6A	-19.1	-3388.04	1.07
	-10.51		1HIS	-18.1	-3759.87	-105.15
	1.59		2F5S	-17.0	-3529.22	-105.17
	16.71		2Q6W	-19.0	-3606.77	-89.89
	-10.00		2SEB	-20.1	-4771.02	-44.90
	-1.78		2C5J	-19.0	-3569.96	-19.91
	-18.93		3W3M	-21.0	-3003.33	-55.08
KB-РТ-3	-10.69	DRB 3	1A6A	-17.0	-4024.06	-9.3
	-19.60		1HIS	-19.1	-4545.98	-11.92
	-17.39		2F5S	-17.2	-4699.02	-10.49
	-12.30		2Q6W	-18.5	-4759.01	-28.08
	6.61		2SEB	-20.0	-3582.08	-9.01
	5.41		2C5J	-18.1	-4000.93	-11.97
	-10.89		3W3M	-22.7	5009.03	-20.01

По этой причине предполагается, что большинство аминокислот по вакцины KB-1 имеют структуру катушки что является также самым высоким процентом аминокислот в структуре катушки среди 3-х вакцин. С другой стороны, согласно прогнозу исследования, в KB-3 было наибольшее количество аминокислот в образовании α – спирали (38.8 %). Тем не менее все 3 вакцинные конструкции содержали большую часть аминокислот в своих спиральных структурах, при прогнозировании третичной структуры. Все три вакцинные конструкции показали вполне удовлетворительные результаты. Затем при проверке и уточнении третичной структуры, конструкция вакцины KB-1 дала наилучший результат 94.8 % аминокислот в наиболее благоприятной области и 4.2 % аминокислот в дополнительных разрешённых областях. KB-2 также показала хороший результат с 90.0 % аминокислот в наиболее благоприятной области. В опытах по разработке дисульфидной связи только KB-1 соответствовал критериям отбора для образования дисульфидной связи. Благодаря самым низким и лучшим результатам, полученным по исследованию MM-GBSA, сервера Naws Dock и сервера Clus Pro 2.0, KB-1 был признан лучшей конструкцией вакцины среди трёх. Поэтому KB-1 был выбран для моделирования молекулярной динамики адаптации кодонов и *in vitro* кодирования. Исследование моделирования молекулярной динамики, проведённое онлайн-инструментом iMODS [5] показало, что стыковочный комплекс TLR-8-KB-1 содержит большое количество аминокислот комплекс имеет меньше шансов на деформацию и по этой причине комплекс должен быть достаточно стабильным в биологической среде, при этом большое количество аминокислот находилось в коррелированном движении. По результатам опытов по адаптации и клонированию *in silico* и с прогнозируемым значением CAI 1.0 можно сделать вывод, что последовательность ДНК может содержать очень большое количество подходящих кодонов, которые должны быть способны экспрессировать желаемые аминокислоты в клетке-хозяина E-coli штамм K₁₂. Последовательность ДНК также имела довольно высокое содержание GC пар (51.81 %). Наконец, был сконструирован вектор pET-19b, содержащий вставку вакцины KB-1, которая должна эффективно кодировать вакцинный белок в клетках E-coli [24,25,26].

Создание вакцин с использованием технологий на основе генома даёт учёным возможность разрабатывать вакцины путём оптимизации целевых антигенов. Обычные вакцины, также как аттенуированные или инактивированные вакцины, иногда не способны обеспечивать потенциальный иммунитет к целевому антигену. Кроме того, общепринятый подход к разработке вакцин вызыва-

ет много проблем безопасности в доклинических и клинических испытаниях. Субъединичные вакцины, такие как вакцины, моделированные в исследовании, могут преодолеть такие трудности [13, 14, 15]. Наконец, данное исследование рекомендует KB-1 как лучшую вакцину, которая может служить эффективной контрмерой основанной на используемых в данной статье стратегиях, чтобы быть запущенным в производство против COVID-19. Однако предполагаются и планируются дальнейшие опыты *in vivo* и *in vitro* для усиления результатов данного исследования (в рамках выполнения гранта TWAS-IDB-2021-22).

Заключение. COVID вызвал одну из самых смертоносных пандемий в последнее время. Профилактика данной инфекции очень сложна и обязательна. Потенциальные возможности *in silico* методов могут быть использованы для поиска желаемых результатов с меньшим количеством проб и ошибок (метод планирования и моделирования), что позволит сэкономить время и затраты учёных. В данном исследовании были разработаны субъединичные вакцины против COVID-19 с использованием различных методов обратной вакцинологии и иммуноинформатики. Для создания вакцин были использованы высокоантигенные вирусные белки и эпитопы. Различные типы компьютерных исследований предлагаемых вакцинных конструкций показали, что эти вакцины могут вызывать хороший иммуногенный отклик. Следовательно, если удовлетворительные результаты достигаются в многочисленных тестах *in vivo*, то эти предложенные вакцинные конструкции могут быть эффективно использованы для вакцинации против COVID-19. Поэтому данное наше исследование должно помочь учёным создать потенциальные вакцины и лекарственные средства против COVID-19.

Литература:

1. Huang C. et al /2020."Clinical features patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China", The Lancet 395, February (10223).497-506
2. Fattaeva D. R., Rizaev J. A., Rakhimova D. A. Efficiency of Different Modes of Therapy for Higher Sinus after COVID-19 in Chronic Obstructive Pulmonary Disease // Annals of the Romanian Society for Cell Biology. – 2021. – С. 6378–6383-6378–6383.
3. Su S. et al. 2016 "Epidemiology genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses", Trends Microbiol 24,(June 6) 490-509, 2020
4. B. Sarkor et.al "Immunoinformatics guided designing of epitope-based subunit vaccines against the SARS Coronavirus-2 (SARS- COV-2)"
5. Chong D.C. khan A.M., 2019 "Vaccine Target Discovery" <http://doi.org/10.1016/978-0-12-809633-8-20100-3>

6. Mukhamadiev B.T. “The effect of Nutritional additives of Clyceyzrivic aced, Glabridin and Resveratrol on SARS-coronavirus replication” J. Clinical Medicine Research (CMR, New York, 2020
7. Ullah M.A. et al. 2020 “Exploiting the reverse vaccinology approach to design novel subcrit vaccine against ebola virus. medRxiv. <https://doi.org/101016/j.imbcon>, 2020 151949/
8. Vita R. et al. 2018 “The immune epitope database (I.E.D.B): 2018 update” Nuclei Acid. Res (47), 0339-343 <https://doi.org/10.1093/nar/gky1006>
9. Wu C.Y. et al. 2010 “Improving therapeutic HPY repid-based vaccine Sci, 17(88), 2010potency by euhuncing CD4+r help and dendritic cell activation”. J. Biomed.
10. Kallbug M/ et al “Template – based protein structure modeling using the raptor X web server” Nat protocol. 7, 1511 [http//doi.Org/101016/npror.2012, 085](http://doi.Org/101016/npror.2012.085)
11. Zobaer M. 2018. “Jn Silico characterization and Homology Modelling of Histamine Receptors (Doct. dis)” Khulna Univ Eng. Thechu., Bangladesh. <https://doi.org./103923/jbs.2018.178.19>
12. Solanski V. Tiwari V. 2018 “Subtraction proteomics to identify novel drug targets and reversy against Acienetobacter bank” Sci. Rep. 8, 9044. <https://doi.org.101038/341598-018-26689-7>
13. Taweris M.D et al 2003. “Safety and efsicacy of MVA85A, a new tuberculosis vaccine in infants” The Lancet, 381, 1021-1028. [https://doi.org/10.1016/5.0140-6736\(13\)60177-4](https://doi.org/10.1016/5.0140-6736(13)60177-4)
14. Hassow S.S. et al. 2015 “The past, current and future trends in DNA vaccine imminisation Acian Pac.J. Trop Riomed. 5, 344-353. [https://doi.org/101016/3.2211-1691\(15\)30366-x](https://doi.org/101016/3.2211-1691(15)30366-x).
15. Kaufmann S.H. et al. 2014 “Challenges and responses in human vaccine development” Curr. Opin. Immunol, 28,18-26, <https://doi.org./101016/coi.2014.01>
16. Craig D.B. 2013. “Disulfide by Design 2.0: web based tool for disulfide engineering in proteins” BMC Bioinformatics 14(346)/ <https://doi.org/101186/1471-2105-14-34>
17. Chauhan V. et al. 2019 “Designing a multiepitope based vaccine to combat Kaposi Sarcoma utilizing immunoinformatics approach” Sci. Rep. 9, 1-5 <https://doi.org./101038/3.41598-019-39299-8>
18. Cano R.I., Lopera H.D., 2013 “Introduction to T- and B lymphocytes. Autoimmunity From Bench to Bedside”. El Rosario University Press
19. Mukhamadiev B.T. et al “Electromagnetic field of low frequency and communication systems in microorganisms”, The Lancet , (In Press)
20. NCBI [https:// www.iedb.nlm.nih.gov/](https://www.iedb.nlm.nih.gov/)
21. MHC cluster <https://www.cbs.dti.dk/services/MHCcluster/>
22. <https://services.mbi.ucla.edu/PROCHEK/>
23. I MODS (<http://imods.chaconlab.org>)
24. <https://www.ede.gov/cjnavirus/2019-ncov/about/transvissions.Html>
25. [https:// en.wikipedia.org/wiki/coronavirus](https://en.wikipedia.org/wiki/coronavirus)
<https://www.iedb.org/IEDB>

**РАЗРАБОТКА МОЛЕКУЛЯРНОЙ КОНСТРУКЦИИ
ВАКЦИНЫ ПРОТИВ COVID-19 МЕТОДОМ
ИММУНОИНФОРМАТИКИ И ОБРАТНОЙ
ВАКЦИНОЛОГИЕЙ**

Мухамадиева З.Б., Мухамадиев Б.Т., Касимова Ш.А.,
Мухамадиева Н.Б.

***Резюме.** Актуальность. Пандемия COVID-19 стала глобальной проблемой вызвавшей озабоченность мирового научного сообщества разработкой и созданием контрмер против этого смертельного врага человечества. В настоящее время пандемия привела к гибели миллиона людей в результате инфицирования и распространения. Пока ещё не существует эффективной вакцины, которая была в состоянии бороться данной инфекцией, не смотря на то, что многие учёные из крупнейших научных центров (Китай, Россия, США, Узбекистан и др.) интенсивно работают над этой проблемой. С учётом этого мы провели собственные исследования по разработке возможных субъединичных вакцин на основе эпитопов против вируса COVID-19 с применением обратной вакцинологии, ферментного ингибирования и иммуноинформатики. Цель: создать новую конструкцию вакцины на основе эпитопа 4 белков COVID-19. Материалы и методы были использованы, получены и адаптированы в ходе экспериментов для разработки потенциальных вакцин против COVID-19 [6]. Самоидентификация вирусов, отбор и поиск последовательностей вирусных белков проводились с использованием базы данных NCBI, нуклеокапсидный фосфопротеин; гликопротеиновая мембрана; поверхностные гликопротеины; белок ORF3a. Заключение. В результате интенсивных вычислительных экспериментов и моделирования стало возможным создать три возможных дизайна вакцины (HA, GL, RT), и один из этих дизайнов был выбран как лучший вариант на основе исследования молекулярных настроек, который был бы эффективным. Результаты нашего исследования должны поддержать усилия ученых по принятию профилактических мер против вируса COVID-19.*

***Ключевые слова:** COVID-19, вакцина, иммуноинформатика, моделирование, молекулярная нагрузка.*