

УДК 575.112

ИССЛЕДОВАНИЕ СУБЪЕДИНИЧНЫХ ВАКЦИН-КАНДИДАТОВ ПРОТИВ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ, СКОНСТРУИРОВАННЫХ ИЗ СУБДОМЕНОВ ТРАНСМЕМБРАННОГО БЕЛКА CD2v, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ ИММУНОИНФОРМАТИКИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

© 2025 г. А. С. Ивановский^{1,*}, В. И. Тимофеев¹, А. А. Чернявский¹, А. А. Тюленев¹, Ю. В. Кордонская¹, М. А. Марченкова^{1,2}, Ю. В. Писаревский¹, Ю. А. Дьякова¹

¹Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

²Международный исследовательский институт интеллектуальных материалов Южного федерального университета, Ростов-на-Дону, Россия

*E-mail: a.lwanowskiy@gmail.com

Поступила в редакцию 28.11.2024 г.

После доработки 27.12.2024 г.

Принята к публикации 27.12.2024 г.

Вирус африканской чумы свиней (АЧС) остается глобальной угрозой для свиноводства, наносящей значительный экономический ущерб. Проведено теоретическое сравнение субъединичных вакцин-кандидатов на основе капсидного белка CD2v вируса АЧС. С использованием методов иммуноинформатики и молекулярно-динамического моделирования проведена оценка трех надмембранных субдоменов CD2v. Результаты демонстрируют, что все кандидаты нетоксичны, неаллергенны и способны индуцировать устойчивый иммунный ответ, включая длительную продукцию антител. Субдомен А выделен как наиболее перспективный благодаря высокой иммуногенности, несмотря на потенциальные сложности в экспрессии в *Escherichia coli*. Иммуномоделирование подтвердило активацию как первичного, так и вторичного иммунного ответа, а анализ структурной стабильности показал надежность кандидатов в физиологических условиях. Исследование представляет теоретическую основу для дальнейшей экспериментальной разработки субъединичных вакцин против вируса АЧС, сочетающих безопасность и эффективность.

DOI: 10.31857/S0023476125030174, EDN: BCNKZF

ВВЕДЕНИЕ

Африканская чума свиней (АЧС) является высоко контагиозным и смертельным заболеванием, поражающим домашних свиней и диких кабанов, что приводит к ежегодным потерям в свиноводстве, исчисляемым миллиардами долларов. Сегодня зарегистрирована только одна аттенуированная вакцина для борьбы с АЧС – ASFV-G-ΔI177L [1], заявляемое проективное действие которой 60%. Хотя аттенуированные вакцины и представляют собой искусственно ослабленный вирус, субъединичные вакцины безопаснее аттенуированных, так как не содержат живых патогенов, исключают риск заболевания у людей с ослабленным иммунитетом, часто имеют более предсказуемый профиль побочных эффектов благодаря использованию только специфических антигенов.

Капсид вируса АЧС состоит из нескольких белков, в том числе CD2v, участвующего в процессе гемадсорбции. Исследования показывают, что CD2v критически важен для вирулентности

вируса [2]. Рассматриваемые вакцины-кандидаты были разработаны в виде субъединиц с использованием трансмембранного белка вируса CD2v, пространственная структура которого была предсказана с помощью AlphaFold3 [3], а топология структуры относительно мембраны – с помощью сервиса DeepTMHMM [4] (рис. 1).

Таким образом, цель настоящего исследования – сравнительная теоретическая оценка аллергенности, иммуногенности, токсичности и способности индуцировать иммунный ответ субъединиц, сконструированных ранее на основе белка CD2v вируса АЧС.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изолированная надмембранная область белка CD2v представляет собой потенциальную мишень для разработки вакцины из-за ее гидрофильности, что предполагает высокую вероятность ее растворимости в водном растворе. На основании ранее предсказанной структуры белка CD2v были

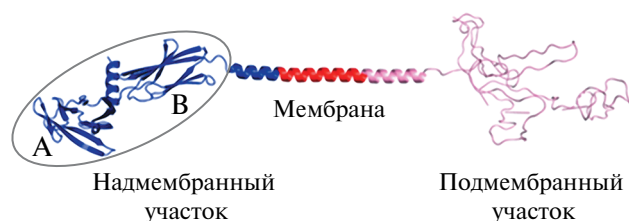


Рис. 1. Пространственная структура белка CD2v с выделенными субдоменами.

Таблица 1. Результаты прогнозирования показателей иммуногенности, токсичности и аллергенности для каждого субдомена

Субдомен	Иммуногенность, VaxiJen2 [6]	Токсичность, ToxinPred2 [7]	Аллергенность, AlgPred2 [8]
A	Не антиген	Не токсин	Не аллерген
B	Антиген	Не токсин	Не аллерген
A + B	Антиген	Не токсин	Не аллерген

Примечание. Для удобства восприятия приведены только окончательные результаты. Используемый порог рассмотрения — 0.6. Оценочная функция [6] для субдомена A — 0.51, что ниже выбранного порога рассмотрения. Тем не менее в [5] показано, что предсказанные эпитопы локализованы в субдомене A, что позволяет предположить его иммуногенность. Более того, результаты иммуносимуляции (рис. 2) демонстрируют наличие иммунного ответа на субдомен A, что позволяет рассмотреть его в роли вакцины-кандидата.

идентифицированы эпитопы В- и Т-клеток для надмембранной области, а также их иммунологические свойства [5]. В дополнение к теоретическим предсказаниям иммунологических свойств отдельных пептидов возможно использование этих же инструментов для прогнозирования свойств более крупных полипептидов — белков. Иммуноинформатический анализ свойств надмембранных субдоменов проводили как отдельно для каждого субдомена (A и B), так и для всего надмембранного участка (A + B) белка CD2v, он включал в себя оценку: иммуногенности с помощью сервиса VaxiJen2 [6], аллергенности с использованием AlgPred2 [7] и токсичности с помощью сервиса ToxinPred2 [8] (табл. 1).

На следующем этапе было проведено иммуно-моделирование реакции модельного организма на введение 10 мкг белка каждой из субъединиц при помощи сервиса C-ImmSim [9]. Результаты моделирования позволяют предположить, что все три вакцины-кандидата на основе надмембранных субдоменов белка CD2v способны активировать клетки иммунной системы. Показано, что после введения каждой из трех вакцин-кандидатов на

1-й и 30-й дни возможно индуцирование как первичного, так и вторичного иммунного ответа, что приводит к активации и продукции иммуноглобулинов (рис. 2).

Результаты моделирования демонстрируют, что даже на 300-й день симуляции в крови сохраняется определенный уровень антител, что свидетельствует о стойкости вторичного иммунного ответа. Кроме того, анализ уровней интерлейкинов (IL) (врезки в правой колонке на рис. 2) указывает на уникальность иммунного ответа для каждой инъекции (D-фактор) и показывает, что концентрация IL-2, участвующего в воспалительной реакции, достигает максимума в первые дни после введения антигена с последующим снижением до базового уровня в течение ~25 сут и полным исчезновением к 60-му дню наблюдения. Такая динамика соответствует физиологическому угасанию воспалительного ответа, что исключает риск развития цитокинового шторма.

Финальным этапом исследования субъединиц стало молекулярное моделирование, проведенное с помощью GROMACS 2022 [10], для оценки структурной стабильности каждой из трех предложенных вакцин в водном растворе с 0.15 M NaCl. На рис. 3 показано, что значения среднеквадратичного отклонения и радиуса гирации колеблются в пределах 1–2 Å, что позволяет предположить высокую структурную стабильность каждой из субъединиц.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного иммуноинформатического анализа свидетельствуют о том, что для конструирования субъединичных вакцин-кандидатов против вируса АЧС на основе предсказанных В- и Т-клеточных эпитопов трансмембранного белка CD2v могут быть выбраны три надмембранных субдомена. Показано, что каждый из описанных доменов предположительно нетоксичен, не аллергенен и способен вызывать как выраженный первичный, так и стойкий вторичный иммунный ответ. Необходимость разработки различных субъединиц-кандидатов обусловлена потенциальными трудностями их лабораторного производства в системах экспрессии *E. coli* в виде рекомбинантных белков из-за наличия сайтов N-гликозилирования в субдомене A. Тем не менее субдомен A представляется наиболее перспективным кандидатом для разработки вакцины, поскольку он особенно богат сайтами связывания с рецепторами Т- и В-клеток (исходя из локализации иммуногенных пептидов). Модель C-ImmSim, зарекомендовавшая себя для предсказания общей динамики иммунного ответа, все же существенно упрощает биологическую реальность. Предположение о нетоксичности и неаллергенности кандидатов требует подтверждения *in vitro* и *in vivo*.

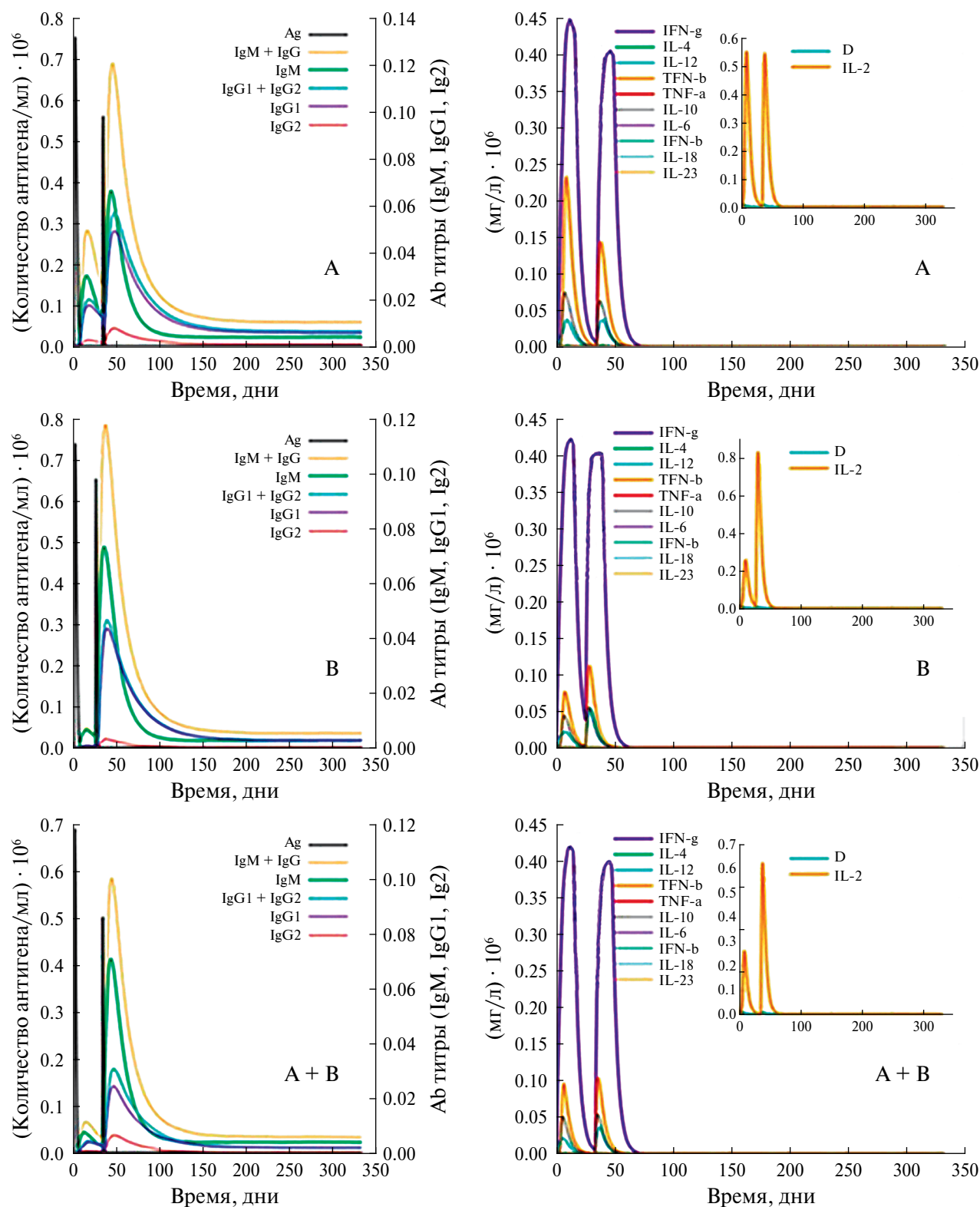


Рис. 2. Результаты вычислительного иммунологического моделирования *in silico* (C-ImmSim [9]) с предложенными субъединичными вакцинами-кандидатами в качестве антигенов: динамика генерации иммуноглобулинов после введения антигена (левая колонка) и высвобождение цитокинов и интерлейкинов в ответ на введение антигенов (правая колонка).

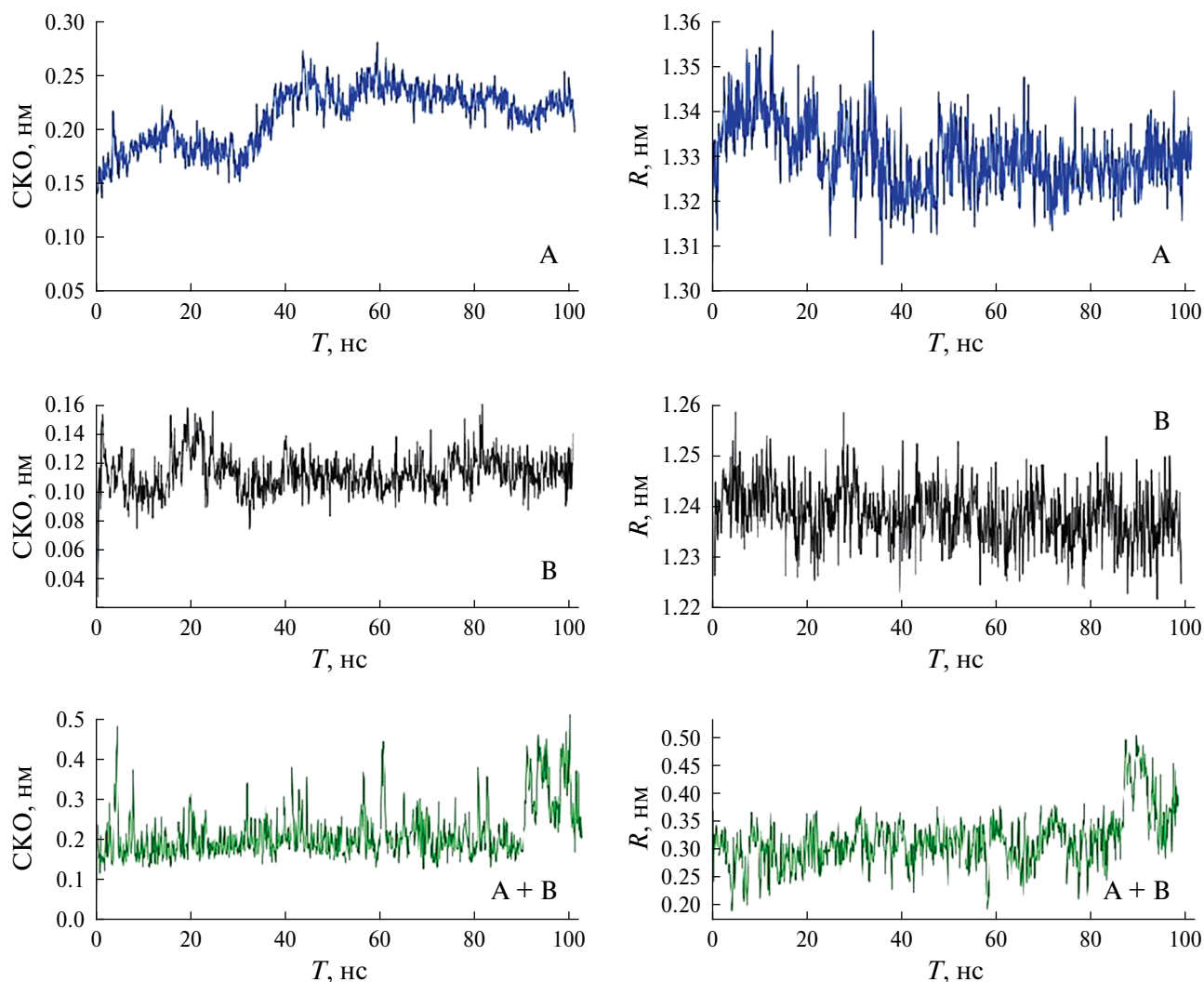


Рис. 3. Эволюция среднеквадратичного отклонения (СКО) и радиуса гирации (R), характеризующих стабильность структур вакцин-кандидатов на основе субъединиц А (сверху), В (посередине) и А + В (снизу) во время 100 нс молекулярной динамики.

Также необходимо проверить экспрессию субдомена А в альтернативных системах экспрессии, так как существует риск неправильного гликозилирования в *E. coli*.

Работа проведена в рамках государственного задания Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”. В ходе работы использовано оборудование центра коллективного пользования “Комплекс моделирования и обработки данных исследовательских установок мега-класса” НИЦ “Курчатовский институт”, <http://ckp.nrcki.ru/>.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tran X.H., Le T.T.P., Nguyen Q.H. et al. // Transbound Emerg Dis. 2022. V. 69. № 4. P. 497. <https://doi.org/10.1111/tbed.14329>
2. Monteagudo P.L., Lacasta A., López E. et al. // J. Virology. 2017. № 21. P. 91. <https://doi.org/10.1128/jvi.01058-17>
3. Abramson J., Adler J., Dunger J. et al. // Nature. 2024. V. 630. P. 493. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07487-w>
4. Jeppe H., Trigos K.D., Pedersen M.D. et al. // BioRxiv. 2022. № 487609. <https://doi.org/10.1101/2022.04.08.487609>
5. Kolesnikov I.A., Timiofeev V.I., Ermakov A.V. et al. // Crystallography Reports. 2023. V. 68. № 6. P. 955. <https://doi.org/10.1134/S1063774523601077>
6. Doytchinova I.A., Flower D.R. // BMC Bioinformatics. 2007. V. 8. P. 4. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-8-4>
7. Sudipto Saha, Raghava G.P.S. // Nucleic Acids Res. 2006. V. 34. P. 202. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl343>
8. Sharma N., Naorem L.D., Jain S., Raghava G.P.S. // Brief Bioinform. 2022. V. 23. № 5. P. 174. <https://doi.org/10.1093/bib/bbac174>

9. Rapin N., Lund O., Bernaschi M., Castiglione F. // PLoS One. 2010. V. 5. № 4. P. 9862. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009862>
10. Páll S., Zhmurov A., Bauer P. et al. // J. Chem. Phys. 2020. V. 153. № 13. P. 134110. <https://doi.org/10.1063/5.0018516>

INVESTIGATION OF SUBUNIT VACCINE CANDIDATES AGAINST AFRICAN SWINE FEVER VACCINE CANDIDATES DERIVED FROM SUBDOMAINS OF THE TRANSMEMBRANE PROTEIN CD2v, USING IMMUNOINFORMATICS AND MOLECULAR DYNAMICS METHODS

A. S. Ivanovsky^{a,*}, V. I. Timofeev^a, A. A. Chernyavsky^a, A. A. Tulenev^a,
Y. V. Kordonskaya^a, M. A. Marchenkova^{a,b}, Y. V. Pisarevsky^a, Y. A. Dyakova^a

^aNational Research Centre "Kurchatov Institute", 1, Akademika Kurchatova pl., 123182 Moscow, Russia

^bSmart Materials Research Institute, Southern Federal University, 344090 Rostov-on-Don, Russia

*E-mail: a.Iwanowskiy@gmail.com

Abstract. African swine fever (ASF) remains a global threat to pig production, causing economic losses. In this study, a theoretical comparison of candidate subunit vaccines based on the ASFV transmembrane protein CD2v was performed. Three supramembrane subdomains of CD2v were evaluated using immunoinformatics, structure prediction and molecular modeling methods. The results show that all candidates are non-toxic, non-allergenic and able to induce a stable immune response, including long-term antibody production. Subdomain A stands out as the most promising due to its high immunogenicity, despite potential difficulties in expression in *Escherichia coli*. Immunomodeling of activation of both primary and secondary immune responses, analysis of structural stability showed the reliability of the candidates under ascertaining conditions. The study provides a theoretical basis for further experimental development of subunit vaccines against ASF, combining safety and efficacy.