DOI 10.66073/ReFocus-Conf/3010040

SARS-CoV-2 S1 OQSILINI SACCHAROMYCES CEREVISIAE HUJAYRALARIDA REKOMBINANT EKSPRESSIYA QILISHNI BAHOLASH

Toshboyeva Fotima Nuriddin qizi[1], **Ayubov M.S.**[2], **Ravshanov Hamroqul To‘ymurod o‘g‘li**[1]

Mirzo Ulug‘bek nomidagi O‘zbekiston Milliy universiteti[1],
O‘zR FA Genomika va bioinformatika markazi ilmiy ishlar bo‘yicha direktor o‘rinbosari[2]

Annotatsiya: Ushbu tadqiqotda SARS-CoV-2 S1 oqsilining Saccharomyces cerevisiae hujayralarida rekombinant ekspressiyasini baholashga qaratilgan texnologik yondashuv tahlil qilindi. Tadqiqotda S. cerevisiae kulturasi va pYES2-S1-Zeo konstruksiyasi asosidagi ekspressiya tizimi ko‘rib chiqilgan. Rekombinant oqsilni aniqlash uchun SDS-PAGE va Western blot usullaridan foydalanish nazarda tutilgan. S1 oqsilining 61 kDa molekulyar massasi elektroforetik identifikatsiya uchun asosiy mezon sifatida ko‘rsatilgan. Tadqiqot rekombinant antigen ishlab chiqarish platformasini baholashga qaratilgan bo‘lib, yakuniy vaksina samaradorligini aniqlashni qamrab olishi keyingi bosqichda amalga oshiriladi.

Kalit so‘zlar: S1 oqsili; SARS-CoV-2; S. cerevisiae; rekombinant ekspressiya; SDS-PAGE; Western blot.

Аннотация: В данном исследовании проанализирован технологический подход, направленный на оценку рекомбинантной экспрессии белка S1 SARS-CoV-2 в клетках *Saccharomyces cerevisiae*. В исследовании рассмотрены культура *S. cerevisiae* и система экспрессии на основе конструкции pYES2-S1-Zeo. Для выявления рекомбинантного белка предусмотрено использование методов SDS-PAGE и вестерн-блоттинга. Молекулярная масса белка S1, составляющая 61 кДа, указана в качестве основного критерия для электрофоретической идентификации. Исследование направлено на оценку платформы производства рекомбинантного антигена, а определение конечной эффективности вакцины будет осуществляться на последующем этапе.

Ключевые слова: белок S1; SARS-CoV-2; *S. cerevisiae*; рекомбинантная экспрессия; SDS-PAGE; вестерн-блоттинг.

Abstract: This study analyzed a technological approach aimed at evaluating the recombinant expression of the SARS-CoV-2 S1 protein in *Saccharomyces cerevisiae* cells. The study considered an *S. cerevisiae* culture and an expression system based on the pYES2-S1-Zeo construct. SDS-PAGE and Western blot methods were intended for the detection of the recombinant protein. The molecular mass of the S1 protein, 61 kDa, was indicated as the main criterion for electrophoretic identification. The study focused on evaluating a recombinant antigen production platform, while the determination of final vaccine efficacy is to be carried out at a subsequent stage.

Keywords: S1 protein; SARS-CoV-2; *S. cerevisiae*; recombinant expression; SDS-PAGE; Western blot.

Kirish

SARS-CoV-2 S oqsili virusning mezbon hujayra retseptori bilan o‘zaro ta’sirida muhim rol o‘ynaydi va vaksina tadqiqotlarida asosiy antigenlardan biri sifatida qaraladi. S oqsili S1 va S2

IQTIBOS UCHUN
Toshboyeva F.N., Ayubov M.S., Ravshanov H.T. SARS-CoV-2 S1 oqsilini Saccharomyces cerevisiae hujayralarida rekombinant ekspressiya qilishni baholash // Fundamental va amaliy mikrobiologiyaning bugungi holati va rivojlanish istiqbollari: yosh olimlar nigohi: Respublika ilmiy-amaliy anjumani materiallari. – Toshkent, 2026. – B. 160–163.
DOI: https://doi.org/10.66073/ReFocus-Conf/3010040

subbirliklaridan tashkil topgan bo‘lib, S1 subbirligi tarkibida N-terminal domen hamda retseptor bilan bog‘lanishda muhim ahamiyatga ega bo‘lgan receptor-binding domain (RBD) mavjud. RBD inson hujayralaridagi angiotenzin-konvertlovchi ferment 2 (ACE2) retseptori bilan o‘zaro ta’sirlashadi. Shu sababli S oqsilining S1 qismi va uning tarkibidagi RBD SARS-CoV-2 ga qarshi vaksina tadqiqotlarida muhim antigenik yo‘nalishlardan biri hisoblanadi [1].

Rekombinant S1 oqsilini ekspressiya qilish virusning o‘zini ishlatmasdan antigen ishlab chiqarish imkoniyatini o‘rganishga yordam beradi. Rekombinant oqsilga asoslangan vaksina yondashuvida virusning butun zarrachasi o‘rniga ma’lum antigenik oqsil yoki uning bir qismidan foydalaniladi. Shu jihatdan S1 oqsilini rekombinant shaklda olish va uning mavjudligini tasdiqlash SARS-CoV-2 antigenlarini ishlab chiqarish texnologiyasini o‘rganishda muhim bosqichlardan biridir. Rekombinant spike oqsilini olish bo‘yicha tadqiqotlarda turli ekspressiya tizimlari, jumladan, xamirturush, bakterial, hasharot va sutemizuvchi hujayra tizimlaridan foydalanilgan [2].

Saccharomyces cerevisiae rekombinant oqsillarni ishlab chiqarishda qo‘llanadigan eukariot ekspressiya tizimlaridan biridir. Ushbu mikroorganizm rekombinant oqsillarni ishlab chiqaruvchi hujayra fabrikasi sifatida keng o‘rganilgan bo‘lib, uning genetik jihatdan boshqarilishi va oqsil ekspressiyasini tashkil etish imkoniyatlari mavjud. Xamirturush tizimlarining yana bir muhim jihati shundaki, ular ayrim rekombinant oqsillarning yig‘ilishi va posttranslyatsion modifikatsiyalarida eukariot hujayralarga xos jarayonlarni ta’minlay oladi [3].

SARS-CoV-2 antigenlarini xamirturush tizimida ishlab chiqarish yo‘nalishi ham alohida ilmiy qiziqish uyg‘otadi. Xususan, *S. cerevisiae* asosida SARS-CoV-2 spike oqsilining RBD qismiga yo‘naltirilgan rekombinant oqsil vaksina texnologiyalari o‘rganilgan. Bu esa xamirturush hujayralaridan SARS-CoV-2 antigenlarini rekombinant shaklda olish uchun foydalanish mumkinligini ko‘rsatadi. Shu bilan birga, S1 oqsilini ekspressiya qilishni o‘rganish ushbu yondashuvni kengaytirish va S oqsilining immunologik jihatdan muhim qismlarini rekombinant antigen sifatida tavsiflash imkonini beradi [4].

Rekombinant S1 oqsilini olishda ekspressiya konstruksiyasi muhim ahamiyatga ega. Tadqiqotda pYES2-S1-Zeo konstruksiyasi asosidagi ekspressiya tizimidan foydalanish ko‘rib chiqilgan. Ushbu yondashuv S1 oqsilini *S. cerevisiae* hujayralarida rekombinant shaklda ifodalash va keyinchalik hosil bo‘lgan oqsilni tahlil qilishga qaratilgan. Rekombinant oqsilning mavjudligini baholash uchun SDS-PAGE va Western blot kabi oqsilni aniqlash usullaridan foydalanish mumkin. Bunday tahlillar maqsadli oqsilning mavjudligi va uning kutiladigan molekulyar massasiga mosligini baholash uchun qo‘llanadi.

S1 oqsilining rekombinant ekspressiyasini o‘rganishda oqsilning molekulyar xususiyatlarini aniqlash ham muhim hisoblanadi. Tadqiqot materiallarida S1 oqsili uchun 61 kDa molekulyar massa kutiladigan mezon sifatida ko‘rsatilgan. Shu asosda elektroforetik tahlil natijalarini baholashda maqsadli oqsilning kutiladigan molekulyar massasiga mosligi e’tiborga olinadi.

Umuman olganda, SARS-CoV-2 S1 oqsilini *S. cerevisiae* asosidagi ekspressiya tizimida olish rekombinant antigen ishlab chiqarish texnologiyasini o‘rganish uchun istiqbolli yo‘nalishlardan biridir. Bunda asosiy e’tibor rekombinant konstruksiyadan foydalanish, maqsadli oqsil ekspressiyasini amalga oshirish va hosil bo‘lgan oqsilni tegishli laboratoriya usullari yordamida aniqlashga qaratiladi. Shu bilan birga, rekombinant antigenning vaksina sifatidagi samaradorligini baholash ekspressiya va oqsilni aniqlash bosqichlaridan keyingi alohida tadqiqotlarni talab qiladi.

Mazkur ishning maqsadi *S. cerevisiae* asosidagi ekspressiya tizimida SARS-CoV-2 S1 oqsilini aniqlashga mo‘ljallangan texnologik yondashuvni tahlil qilish, rekombinant konstruksiya asosidagi oqsil ekspressiyasini ko‘rib chiqish hamda S1 oqsilini SDS-PAGE va Western blot usullari orqali aniqlash imkoniyatlarini baholashdan iborat.

Materiallar va usullar

Tadqiqot materiali sifatida *Saccharomyces cerevisiae* non achitqisidan ajratilgan kulturadan foydalanildi. Dastlab achitqi kulturasidan alohida koloniyalar ajratib olindi va ularning morfologik

xususiyatlari mikroskopik tekshiruv orqali baholandi. Ushbu bosqich kulturani dastlabki tavsiflash hamda keyingi rekombinant ekspressiya tadqiqotlari uchun foydalaniladigan materialni aniqlashga xizmat qildi.

Tadqiqotda SARS-CoV-2 ning genomik va oqsil tuzilishiga oid ma’lumotlarni o‘rganish uchun NCBI hamda GISAID ma’lumotlar bazalaridan foydalanildi. Mazkur ma’lumotlar S oqsili va uning S1 qismiga oid ketma-ketliklarni o‘rganish, shuningdek, rekombinant antigen bilan bog‘liq tadqiqot yondashuvini shakllantirish uchun manba sifatida ko‘rib chiqildi.

Rekombinant konstruksiya va ekspressiya tizimi

SARS-CoV-2 S1 oqsilining rekombinant ekspressiyasini o‘rganish uchun pYES2-S1-Zeo konstruksiyasidan foydalanildi. Ushbu konstruksiya S1 oqsilini *S. cerevisiae* hujayralarida rekombinant shaklda ekspressiya qilishga mo‘ljallangan tizim sifatida tadqiqotning asosiy komponentlaridan biri bo‘ldi.

Rekombinant konstruksiya asosida maqsadli S1 oqsilining ekspressiyasini baholash uchun *S. cerevisiae* kulturasi bilan bog‘liq ekspressiya tizimi ko‘rib chiqildi. Rekombinant oqsil ekspressiyasi induksion tizim bilan bog‘langan bo‘lib, tadqiqotning keyingi bosqichida hujayra materialidan oqsilni aniqlash uchun foydalanildi.

Mazkur yondashuvda asosiy e’tibor SARS-CoV-2 ning to‘liq virusi bilan emas, balki uning antigenik jihatdan muhim bo‘lgan S1 oqsili bilan ishlashga qaratildi. Rekombinant oqsil ekspressiyasi SARS-CoV-2 antigenini alohida oqsil shaklida o‘rganish imkonini beruvchi texnologik yondashuv sifatida ko‘rib chiqildi. Xamirturush tizimlarida SARS-CoV-2 spike oqsili yoki uning qismlarini rekombinant shaklda ekspressiya qilish bo‘yicha tadqiqotlar ham mavjud.

Oqsil ekspressiyasini baholash

Rekombinant oqsil ekspressiyasini baholashda olingan hujayra materiali oqsil tahliliga tayyorlandi. Ekspressiya natijasida hosil bo‘lishi kutilayotgan maqsadli oqsilni boshqa hujayra oqsillaridan ajratib ko‘rish uchun SDS-PAGE usulidan foydalanildi.

SDS-PAGE oqsillarni molekulyar massasiga ko‘ra elektroforetik ajratish imkonini beruvchi usul bo‘lib, rekombinant oqsilning kutiladigan molekulyar massa diapazonida mavjudligini baholash uchun qo‘llanildi. Rekombinant SARS-CoV-2 oqsillarini tadqiq qilishda ushbu usul oqsil ekspressiyasini dastlabki baholash uchun keng qo‘llanadi.

Tadqiqot materiallarida S1 oqsili uchun 61 kDa molekulyar massa kutiladigan mezon sifatida qayd etilgan. Shu sababli SDS-PAGE natijalarini baholashda oqsilning elektroforetik harakatchanligi va kutiladigan molekulyar massasiga mosligi asosiy ko‘rsatkichlardan biri sifatida qaraldi.

Western blot orqali S1 oqsilini aniqlash

SDS-PAGE orqali oqsillar ajratilgandan keyin S1 oqsilini immunologik jihatdan aniqlash uchun Western blot yondashuvi qo‘llanildi. Ushbu usul maqsadli oqsilning mavjudligini immunologik aniqlash imkonini berishi sababli rekombinant oqsil ekspressiyasini tasdiqlashda muhim bosqich sifatida qaraldi.

Western blot natijalarini baholashda maqsadli S1 oqsiliga mos keluvchi immunologik signalning mavjudligi hamda uning kutiladigan molekulyar massa bilan mosligi e’tiborga olindi. Rekombinant spike oqsillari bilan olib borilgan tadqiqotlarda ham SDS-PAGE orqali oqsilni ajratish va keyinchalik Western blot yordamida maqsadli oqsilni aniqlash yondashuvi qo‘llangan.

Shunday qilib, tadqiqotning metodik yondashuvi *S. cerevisiae* kulturasini olish va baholash, pYES2-S1-Zeo rekombinant konstruksiyasidan foydalanish, S1 oqsilining ekspressiyasini o‘rganish hamda hosil bo‘lgan oqsilni SDS-PAGE va Western blot usullari orqali aniqlash bosqichlarini qamrab oldi.

Tadqiqot natijasi va muhokama

Manba materiallarida S. cerevisiae ga pYES2-S1-Zeo konstruksiyasi asosida rekombinant ekspressiya tizimi qo‘llanganligi qayd etilgan. Oqsilni baholashda SDS-PAGE va Western blotning

tanlanishi molekulyar massa hamda antigen-spetsifik signalni birgalikda tahlil qilish imkonini beradi.

Tadqiqotning mazmuni S1 antigenini rekombinant shaklda olish va keyingi vaksina tadqiqotlari uchun boshlang‘ich material sifatida baholashga qaratilgan. Biroq mavjud dissertatsiya matnida Western blot tasvirining miqdoriy tahlili, signal intensivligi, oqsil chiqimi yoki immunogenlik bo‘yicha raqamli natijalar keltirilmagan. Shuning uchun natijalar faqat manbada tasdiqlangan texnologik ma’lumotlar asosida talqin qilindi.

Xulosa

S. cerevisiae asosidagi pYES2-S1-Zeo ekspressiya tizimi SARS-CoV-2 S1 rekombinant oqsilini o‘rganish uchun texnologik platforma sifatida qo‘llanishi mumkin. SDS-PAGE va Western blot S1 oqsilini tavsiflash uchun asosiy analitik usullar sifatida belgilangan. Kelgusida oqsilning miqdoriy chiqimi, tozaligi, antigenligi va immunogenligini eksperimental baholash ushbu platformaning vaksina nomzodi sifatidagi istiqbolini chuqurroq aniqlash imkonini beradi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Ayubov, M. S.; Buriev, Z. T.; Mirzakhmedov, M. K.; Yusupov, A. N.; Usmanov, D. E.; Shermatov, S. E.; Ubaydullaeva, K. A.; Abdurakhmonov, I. Y., Profiling of the most reliable mutations from sequenced SARS-CoV-2 genomes scattered in Uzbekistan. *PLoS One* 2022, *17* (3), e0266417.
2. Ayubov MS, Mirzakhmedov MK, Yusupov AN, Asrorov AM, Nosirov BV, Usmanov DE, Shermatov SE, Ubaydullaeva KA, Abdukarimov A, Buriev ZT, Abdurakhmonov IY. Most accurate mutations in SARS-CoV-2 genomes identified in Uzbek patients show novel amino acid changes. Front Med (Lausanne). 2024 May 31;11:1401655. doi: 10.3389/fmed.2024.1401655.
3. Pardi N, Krammer F. mRNA vaccines for infectious diseases—advances, challenges and opportunities. Nat Rev Drug Discov. 2024;23(11):838-61. doi:10.1038/s41573-024-01042-y.
4. Tan BEK, Tham SK, Poh CL. mRNA vaccine development in the fight against zoonotic viral diseases. Viruses. 2025;17(7):960. doi:10.3390/v17070960.