

## БИОЛОГИЯ КОРОНАВИРУСА SARS-CoV-2

### Обзор

© 2022 Р.Н. Мингалеева<sup>1\*</sup>, Н.А. Нигматулина<sup>2</sup>, Л.М. Шарафетдинова<sup>1</sup>, А.М. Ромозанова<sup>1</sup>, А.Г. Габдулхакова<sup>1</sup>, Ю.В. Филина<sup>1</sup>, Р.Ф. Шавалиев<sup>2</sup>, А.А. Ризванов<sup>1</sup>, Р.Р. Мифтахова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Казанский (Приволжский) федеральный университет,  
420008 Казань, Россия; электронная почта: rimta.mingaleeva@gmail.com

<sup>2</sup> Республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан,  
420064 Казань, Россия

Поступила в редакцию 13.07.2022

После доработки 05.10.2022

Принята к публикации 17.10.2022

Новая коронавирусная инфекция Covid-19, возникшая в конце 2019 г. в Китае, вызвала сильнейший социальный и экономический кризис, затронувший весь мир. Высокая частота ошибок в репликации РНК-вирусов, зоонозный характер передачи, высокая трансмиссивность позволили бета-коронавирусам вызвать уже третью пандемию в мире с начала 2003 г.: SARS-CoV – в 2003 г, MERS-CoV – в 2012 г и SARS-CoV-2 – в 2019 г. Последняя пандемия объединила научное сообщество и послужила мощным толчком в изучении биологии коронавирусов: были выявлены новые пути проникновения вируса в организм человека, изучены особенности репликативного цикла, выявлены новые функции белков коронавируса. Стоит учитывать, что пандемия сопровождалась необходимостью в получении и публикации результатов в короткие сроки, что привело к появлению массива противоречивых данных и низкой воспроизводимости результатов исследований. Нами была систематизирована и проанализирована научная литература, проведена фильтрация результатов по достоверности применяемых методов анализа и подготовлен обзор, описывающий молекулярные механизмы функционирования коронавируса SARS-CoV-2. В работе рассмотрена организация генома вируса SARS-CoV-2, механизмы экспрессии его генов и входа вируса в клетку, приведена информация по ключевым мутациям, характеризующим разные варианты вируса, и их вклад в патогенез заболевания.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** SARS-CoV-2, Covid-19, S-белок, мутация, VOC.

**DOI:** 10.31857/S032097252212020X, **EDN:** NIWMWX

### ВВЕДЕНИЕ

Коронавирусы определяют как группу родственных РНК-содержащих вирусов, поражающих млекопитающих и птиц. Инфицируя человека, эти вирусы вызывают заболевания дыхательных путей различной степени тяжести: от инфекций верхних дыхательных путей, сходных с симптомами сезонных простуд, до

тяжёлых инфекций нижних дыхательных путей, включая бронхит, пневмонию и атипичную пневмонию – тяжёлый острый респираторный синдром (SARS). Вирус птичьего инфекционного бронхита (IBV) стал первым обнаруженным коронавирусом [1]. Коронавирусы, поражающие человека, HCoV-229E и HCoV-OC43, впервые были обнаружены в 1966 и 1967 гг. В 2003 г. в Китае был обнаружен зоонозный

Принятые сокращения: ACE2 – ангиотензин-превращающий фермент 2 (angiotensin-converting enzyme 2); DMV – двухмембранные везикулы, специальные органеллы репликации (double-membrane vesicle); E – белок оболочки; HCoV – коронавирус человека (Human coronavirus); HE – гемагглютинин-эстераза; HR – гептадный повтор (heptad repeat); IBV – вирус птичьего инфекционного бронхита (infectious bronchitis virus); M – мембранный белок; MERS – ближневосточный респираторный синдром (Middle East respiratory syndrome); M<sup>pro</sup> – 3CL-подобная протеаза; N – нуклеокапсидный белок; nsp – неструктурные белки (non-structural proteins); ORF – открытая рамка считывания; pp – полипротеин; RBD – рецептор-связывающий домен (receptor-binding domain); S – Spike-белок; S1 и S2 – субъединицы S-белка; SARS – тяжёлый острый респираторный синдром (severe acute respiratory syndrome); TRS – последовательности, регулирующие транскрипцию (transcription-regulating sequence); VOC – варианты, вызывающие озабоченность (variant of concern).

\* Адресат для корреспонденции.

коронавирус SARS-CoV, распространение которого привело к эпидемии с охватом 8000 задокументированных случаев и коэффициентом летальности 10%. Это породило всплеск острого интереса к коронавирусам, в результате которого впоследствии было выявлено ещё два вируса: HCoV-NL63 (Нидерланды, 2004 г.) и HCoV-NKU1 (Гонконг, 2004 г.), которые ежегодно циркулируют по всему миру. В 2012 г. в Саудовской Аравии был выявлен второй высокопатогенный коронавирус зоонозного происхождения, MERS-CoV, который до сих пор периодически детектируется у людей. Согласно данным на июль 2022 г, MERS-CoV был подтверждён у 2591 человека. Он поражает лёгкие и вызывает тяжёлые клинические проявления, коэффициент летальности заболевания – до 35% (World Health Organization, <https://www.who.int/>).

Седьмым обнаруженным коронавирусом, поражающим людей, стал SARS-CoV-2, вызывающий заболевание Covid-19. Согласно данным Университета Джона Хопкинса (Johns Hopkins University Coronavirus Resource Center, <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>), число заболевших Covid-19, по состоянию на сентябрь 2022 г., составило 612 млн человек, среди которых умерло 6,5 млн. В России, по данным на март 2022 г., Covid-19 зарегистрирован у 20 млн человек, 378 тыс. человек скончалось (коэффициент летальности – 1,9%). Масштабы распространения SARS-CoV-2, лёгкость передачи вируса от человека к человеку, предположительное существование промежуточных межвидовых форм новых коронавирусов диктуют потребность в разработке методов детекции и борьбы с ними [2].

## СЕМЕЙСТВО КОРОНАВИРУСОВ

Коронавирусы относятся к порядку Nidovirales, семейству Coronaviridae, подсемейству Orthocoronavirinae, внутри которого выделяют 4 рода коронавирусов: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* и *Deltacoronavirus*. Представители первых двух родов инфицируют исключительно млекопитающих, тогда как представители двух последних имеют более широкий спектр хозяев, включая птиц [3]. К роду *Alphacoronavirus* относятся HCoV-229E и HCoV-NL63; HCoV-NKU1, SARS-CoV, MERS-CoV, HCoV-OC43 и SARS-CoV-2 являются представителями *Betacoronavirus*.

Для вирусов, имеющих ветеринарное значение, описано множество случаев межвидового переноса коронавирусной инфекции между млекопитающими. Считается, что коронави

вирус, поражающий собак (CCoV), кошек (FCoV), и коронавирус, вызывающий трансмиссивный гастроэнтерит у свиней (TGEV), имеют один прототип – *Alphacoronavirus 1*. Показано, что вспышка синдрома острой диареи свиней (SADS) была вызвана коронавирусом SADS-CoV – потомком коронавируса летучих мышей BatCoV-NKU2, принадлежащего к роду *Alphacoronavirus*. Сходство коронавируса альпак (ACoV), относящегося также к роду *Alphacoronavirus*, с вирусом человека HCoV-229E наводит на мысль о зоонозном происхождении последнего. Считается, что HCoV-OC43 произошёл от бычьего коронавируса (BCoV) примерно в 1890-х гг. [4].

Кошки, хорьки, собаки и другие млекопитающие заражаются не только коронавирусами, характерными для их видов, но также инфицируются SARS-CoV-2 [4]. Предполагают, что SARS-CoV и SARS-CoV-2, попали в популяцию людей от летучих мышей через промежуточных хозяев. Высокая степень гомологии генома коронавирусов пальмовых циветт и SARS-CoV указывает на большую вероятность перехода вируса к человеку именно от них [5]. Происхождение SARS-CoV-2 более спорно. Промежуточными хозяевами для этого вируса могли служить панголины или другие виды животных, но, возможно, вирус перешёл к человеку непосредственно от летучих мышей [6]. Опубликованы работы, согласно которым весь рецептор-связывающий мотив вируса SARS-CoV-2 мог быть введён путём рекомбинации с коронавирусами панголинов [7]. В недавних исследованиях показано, что SARS-CoV-2 может представлять собой мозаичный геном, который объединяет геномы трёх коронавирусов летучих мышей (RmYN02, RpYN06 и RaTG13), обнаруженных в китайской провинции Ухань [8]. В целом, летучие мыши имеют свыше 1300 видов, образуют огромные стаи (до нескольких млн особей в группе), перемещаются на большие расстояния и присутствуют на всех континентах, приобретая и распространяя множество вирусов. Среди идентифицированных вирусов летучих мышей как минимум 60 могут быть патогенными для человека [9]. Предполагают, что историю происхождения большинства коронавирусов человека можно проследить до вирусов летучих мышей. Это предположение основано на двух фактах: (1) разнообразие и количество коронавирусов летучих мышей намного превышает разнообразие этих вирусов у других млекопитающих; (2) были выявлены коронавирусы летучих мышей, очень похожие на вирусы человека (Bat-229E-подобный, Bat-NL63-подобный и Bat-SARS-подобный вирусы). Вероятность

перескока этих вирусов от вида к виду определяется, во-первых, совместимостью вируса с рецепторами, расположенными на клетках организма-хозяина (восприимчивостью клеток); во-вторых, способностью вируса реплицироваться в клетках организма-хозяина (пермиссивностью клеток); в-третьих, доступностью клеток, восприимчивых к вирусу; в-четвёртых, способностью уклоняться от иммунного ответа хозяина. Центральную роль в процессе перескока коронавирусов к человеку играет вирусный белок S (Spike) [10].

SARS-CoV-2 впервые был обнаружен в декабре 2019 г. Отсутствие иммунитета к новой инфекции позволило вирусу беспрепятственно размножаться и, как следствие, мутировать. В марте 2020 г. Европа превратилась в эпицентр пандемии нового коронавируса — появился вариант вируса, имеющий преимущество перед вирусом дикого типа: единственная мутация D614G в S-белке позволила сделать вирус более трансмиссивным. В апреле 2020 г. был задокументирован 1 млн случаев заболевания Covid-19. Вариант вируса с D614G продолжил накапливать мутации, направленные на быстрое изменение антигена (S-белка) и повышение трансмиссивности вируса. С декабря 2020 г. стали появляться новые варианты, которые были классифицированы Всемирной Организацией Здравоохранения как варианты, вызывающие озабоченность (variant of concern, VOC). Вариант V.1.1.7 (Альфа) впервые был обнаружен 14 декабря 2020 г. в Великобритании. Следующим вариантом стал V.1.351 (Бета) — он был обнаружен 18 декабря 2020 г. в Южной Африке. Третий вариант, P.1 (V.1.1.28.1, Гамма), выявили 6 января 2021 г. в Токио у туриста из Бразилии. В декабре 2020 г. появился вариант V.1.617.2 (Дельта), который заместил собой все остальные варианты вируса. На смену варианту Дельта в ноябре 2021 г. пришёл, обнаруженный в Южной Африке, вариант Омикрон (V.1.1.529) [11]. Подварианты Омикрона BA.1, BA.2 и BA.3 запустили четвёртую волну Covid-19, следом за которой пришла уже пятая, бушующая и сейчас, волна, сформированная подвариантами BA.4 и BA.5, среди которых BA.5 пока занимает лидирующее положение. По данным Европейского центра предотвращения и контроля над заболеваемостью (ECDC), к сентябрю 2022 г. в категории VOC остались подварианты Омикрона BA.2, BA.4 и BA.5, а пристальное внимание уделяется подвариантам BA.4, BA.5, BA.2.75 и BA.2.12.1. На сайте <https://covariants.org> читатель сможет ознакомиться с филогенетическим деревом возникновения основных вариантов SARS-CoV-2.

## АРХИТЕКТУРА КОРОНАВИРУСОВ

Коронавирусы имеют сферическую форму вириона диаметром 80–120 нм, обрамлённую так называемыми «шипами» — тримерами S-белка (рис. 1). У коронавирусов HCoV-OC43 и HCoV-NKU1 в формировании так называемой «короны» участвует также гемагглютинин-эстераза (HE). Вирусная оболочка поддерживается мембранным белком (M) и содержит небольшие вкрапления белка оболочки (E). Под оболочкой вириона находится спирально-симметричный нуклеокапсид, образованный одноцепочечной геномной РНК, покрытой нуклеокапсидным белком (N) [12].

S и HE — трансмембранные белки, отвечающие за проникновение вируса в клетку. S-Белок (128–160 кДа) определяет тропизм вируса, он связывается с рецепторами, локализованными на поверхности клетки-мишени. У вирусов HCoV-OC43 и HCoV-NKU1 белок HE (48–67 кДа) облегчает прикрепление вируса к клетке [13]. Для некоторых коронавирусов показано, что присутствие S-белка на поверхности инфицированной клетки способствует её слиянию с соседней неинфицированной клеткой. Благодаря такой стратегии образуются гигантские многоядерные клетки, или синцитий, функцией которого является облегчение распространения вируса между клетками [14].

N-Белок определяет архитектуру генома вируса, образуя нуклеокапсид с геномной РНК. Локализуясь в области эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи, он участвует в сборке и отпочковывании вирусных частиц.

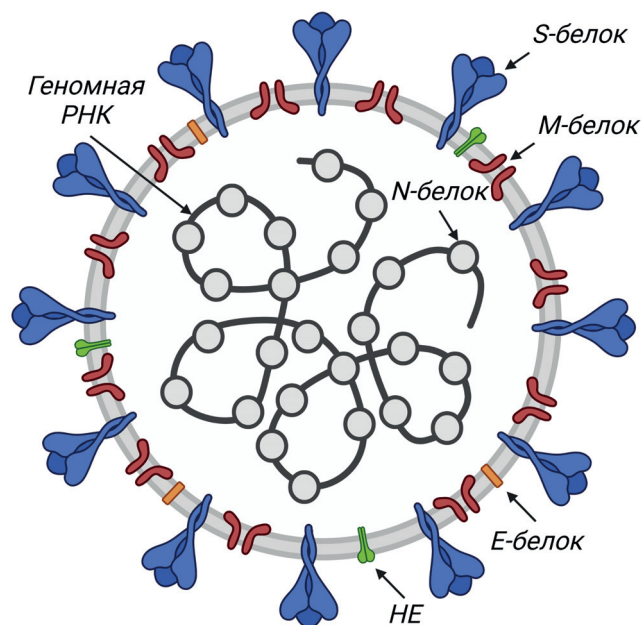


Рис. 1. Строение коронавируса: указаны структурные белки N, S, M, E, HE и геномная РНК; объяснения в тексте

Считается, что N-белок также участвует в регуляции и модулировании репликации и транскрипции. Было показано, что он способен не только неспецифически связывать РНК, но и специфически взаимодействовать с некоторыми последовательностями, регулирующими транскрипцию (TRS). Нуклеокапсидные белки различных коронавирусов взаимодействуют с множеством других белков, в том числе с nsp 3 (неструктурный белок 3) и РНК-геликазой DDX1 клетки-хозяина. Предполагается, что комплекс, образованный DDX1 и фосфорилированным нуклеокапсидным белком, контролирует баланс между репликацией и транскрипцией путём модулирования уровня переключения матрицы на последовательности TRS-B. N-Белок SARS-CoV-2 способствует ассоциации РНК с комплексом nsp 7–nsp 8–nsp 12 и, вероятно, инициации репликации и транскрипции [15].

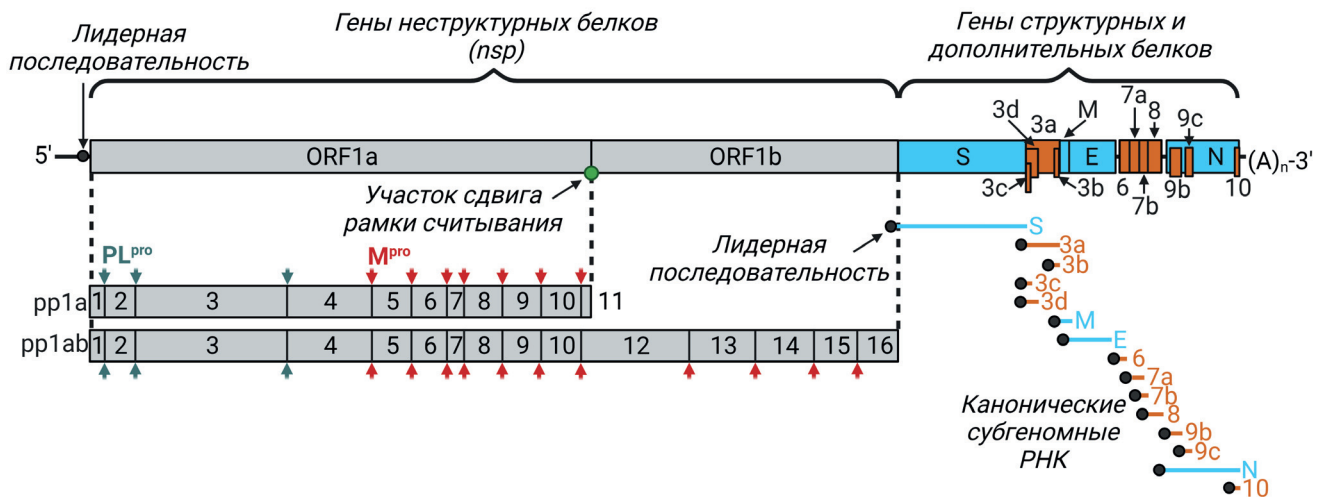
M-Белок является коровым мембранным белком. Он встроен в липидный бислой тремя трансмембранными доменами, гликозилированный эктодомен белка выступает наружу. M-Белок поддерживает вирусную оболочку, определяет форму и размер вирусного капсида, поскольку именно он взаимодействует с другими структурными белками. Взаимодействие M и S необходимо для удержания S-белка в промежуточном компартменте между ЭПР и аппаратом Гольджи (ERGIC) и включения его в новые вирионы. Связывание M и N стабилизирует нуклеокапсид, а также внутренний кор вириона и в конечном счёте способствует завершению

сборки вируса. Взаимодействия M и E достаточно для производства и высвобождения вирусных частиц [2, 13].

E-Белок является небольшим интегральным белком (8–12 кДа), он заякорен в мембрану трансмембранным доменом, его эктодомен гликозилирован, а эндодомен пальмитирован. Для вирусов SARS-CoV и IBV показано, что E-белок образует гомопентамеры, действующие как ионные каналы. Такие структуры модулируют процесс высвобождения вирионов, принимая активное участие в заражении клетки. Интересно, что E-белок в избытке образуется внутри инфицированной клетки, и только часть его включается в оболочку вириона, а большая часть находится там, где собираются и отпочковываются вирусные частицы [14].

### СТРОЕНИЕ ГЕНОМА КОРОНАВИРУСОВ И МЕХАНИЗМЫ ЕГО ЭКСПРЕССИИ

Коронавирусы имеют самые длинные не-сегментированные геномы среди РНК-содержащих вирусов [16]. Так, геном SARS CoV-2 размером от 26 до 32 т.н. кодирует информацию о 16 неструктурных (nsp 1–16), 4 структурных (S, M, N и E) и 11 дополнительных белках (ORF3a, ORF3b, ORF3c, ORF3d, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, ORF9b, ORF9c и ORF10) [12, 17]. Носителем генетической информации коронавирусов является смысловая одноцепочечная РНК. Каждый вирусный транскрипт,

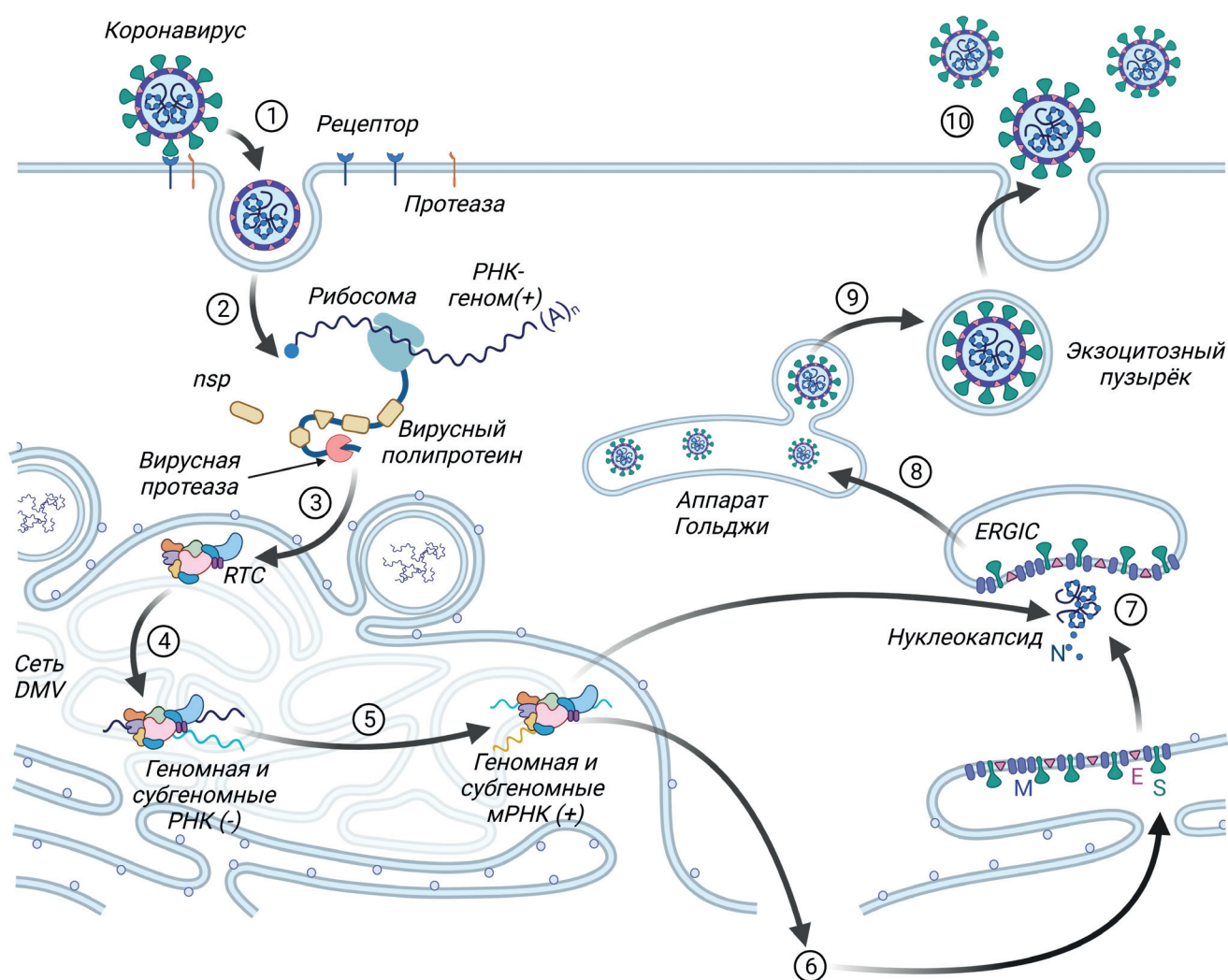


**Рис. 2.** Организация генома коронавируса на примере SARS-CoV-2. Наличие 5'-кэп и 3'-поли(А)-хвоста на концах геномной РНК позволяет сразу транслировать в клетке неструктурные белки с рамок считывания ORF1a и ORF1b. Рамки разделены между собой участком сдвига рамки считывания. Результатом трансляции являются две полипротеиновые цепи pp1a и pp1ab. Отдельные неструктурные белки образуются в результате протеолитического процессинга pp1a и pp1ab папаин-подобной протеазой PL<sup>pro</sup> и 3CL-подобной протеиназой M<sup>pro</sup>. Гены структурных и дополнительных белков транскрибируются в набор субгеномных мРНК. Геномная РНК и все субгеномные мРНК содержат одинаковую лидерную последовательность на своих 5'-концах. Неструктурные белки и их гены обозначены серым цветом, гены структурных и дополнительных белков и их транскрипты обозначены голубым и оранжевым цветом соответственно

как и геномная РНК, кэпированы с 5'-конца и полиаденилированы – с 3'-конца. Такое строение генома позволяет рибосоме клетки распознавать геномную РНК как мРНК и сразу включать её в процесс трансляции вирусных белков без необходимости упаковки в вирион транскрипционного комплекса. Кроме того, все вирусные РНК имеют специальную лидерную последовательность на своём 5'-конце, благодаря которой происходит разграничение вирусных и клеточных РНК (рис. 2) [18].

При адаптации под процессы, происходящие в эукариотической клетке, коронавирусы выработали разные механизмы трансляции

своего генома. Так, неструктурные белки образуются сразу после проникновения вируса в клетку в виде двух крупных полипротеинов, которые в дальнейшем подвергаются процессингу. Для транскрипции структурных и дополнительных белков коронавирусы образуют специальные органеллы репликации – DMV, которые представляют собой ретикуловезикулярную сеть двухмембранных везикул с взаимосвязанными внешними мембранами (рис. 3) [19]. Вирусы производят DMV из мембран ЭПР клетки-хозяина путём их последовательных перестроек под регуляцией неструктурных белков nsp 3, nsp 4 и nsp 6, а



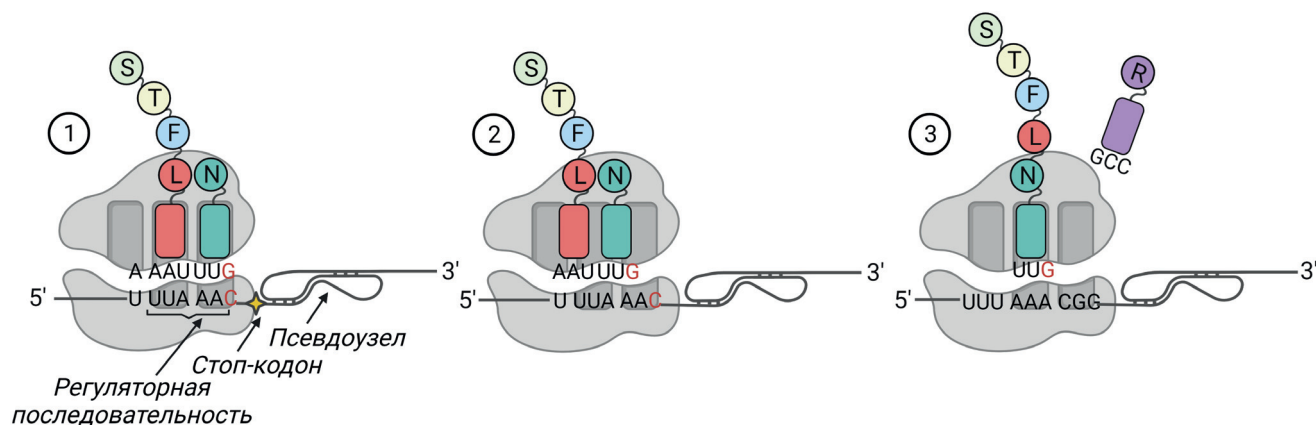
**Рис. 3.** Жизненный цикл коронавирусов. Поверхность вируса покрыта S-белком, который взаимодействует с рецептором и активирует слияние вируса с мембраной клетки после своего расщепления протеазой, находящейся на поверхности клетки (1). Геномная РНК, попадая внутрь клетки, сразу распознаётся рибосомой, и происходит трансляция полипротеинов и их процессинг до отдельных неструктурных белков (2). В мембранах эндоплазматической сети происходит формирование двухмембранных везикул (DMV), внутри которых происходит сборка репликационно-транскрипционного комплекса (RTC) (3). Геномная смысловая РНК сначала переводится в антисмысловую форму с образованием геномной и субгеномных РНК (4), а затем в смысловую форму геномной РНК и субгеномных мРНК (5). В эндоплазматической сети с субгеномных мРНК происходит трансляция структурных и дополнительных белков (6). Геномная РНК взаимодействует с N-белком, образуя нуклеокапсид (7), который, объединяясь со структурными белками, формирует вирион (8). Зрелый вирион (9) выводится из клетки путём экзоцитоза (10)

также белков клетки-хозяина [17]. В репликативно-транскрипционных комплексах DMV проходят процессы репликации и транскрипции субгеномных РНК коронавируса [20]. Образование органелл репликации в целом свойственно РНК-вирусам со смысловой цепью генома. Оно оправдано с нескольких позиций: (1) происходит скопление в одном месте всех факторов вируса и клетки-хозяина, необходимых для репликации и транскрипции; (2) промежуточные продукты репликации и транскрипции не выходят за пределы DMV и не распознаются системами клеточного противовирусного ответа; (3) идёт более строгая координация процессов репликации и транскрипции [21]. Наряду с трансляцией неструктурных белков, в клетке сразу происходит накопление полноразмерных антисмысловых геномных копий, которые используются как матрицы для образования новых смысловых геномных РНК. Синтезированные смысловые геномы используются либо для трансляции большого количества неструктурных белков и репликативно-транскрипционных комплексов, либо упаковываются в новые вирионы. Кроме того, смысловая РНК используется для транскрипции субгеномных РНК путём прерывистой транскрипции. Образуются сначала промежуточные антисмысловые субгеномные РНК, которые «переводятся» в смысловые субгеномные мРНК. Структурные и дополнительные белки синтезируются и перемещаются сначала в ERGIC, а затем мигрируют в аппарат Гольджи, где происходит образование зрелого вириона. Вирион отщепляется от клетки путём конститутивного экзоцитоза (рис. 3) [22, 23].

### НЕСТРУКТУРНЫЕ БЕЛКИ: ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ СИНТЕЗ И ФУНКЦИИ

Две трети генома с 5'-конца занимают рамки считывания ORF1a и ORF1b. В них закодирована информация обо всех неструктурных белках вируса (для SARS CoV-2 – это nsp 1–16), гены этих белков слиты между собой и не имеют стоп-кодонов, за исключением участка на стыке рамок считывания. Неструктурные белки определяют репликацию вируса и сборку его транскрипционного комплекса, в котором проходит транскрипция, процессинг, модификация РНК, а также коррекция неправильно встроенных нуклеотидов.

Трансляция ORF1a и ORF1b приводит к образованию двух полипептидных цепей (pp1a и pp1ab). Стоп-кодон, расположенный на стыке рамок считывания ORF1a и ORF1b, позволяет рибосоме закончить синтез в этом месте с образованием pp1a (440–500 кДа). Иногда рибосома, дойдя до специальной регуляторной последовательности (slippery sequence) X XXY YYZ (X – три одинаковых нуклеотида; Y – A/U; Z – A/C/G), расположенной непосредственно около стоп-кодона ORF1a, стремится выскользнуть из рамки считывания и перескочить на 1 нуклеотид назад. У коронавируса этот процесс усилен, поскольку сразу следом за регуляторной последовательностью находится стабильная РНК-структура (псевдоузел), натываясь на которую рибосома делает паузу, и вероятность перескока увеличивается (рис. 4). Если сдвиг рамки считывания произошёл, то образуется pp1ab (740–810 кДа), который своим N-концом сходен с pp1a.



**Рис. 4.** Сдвиг рамки считывания при синтезе pp1ab SARS-CoV-2. Недалеко от регуляторной последовательности (slippery sequence) располагается стоп-кодон, а следом за ним – стабильная РНК-структура (псевдоузел) (1). Когда рибосома подходит к псевдоузлу, скорость трансляции замедляется, благодаря чему становится возможным перескок рибосомы на 1 нуклеотид назад. Это приводит к изменению кодонного состава, что связано с исчезновением стоп-кодона (2). Высвобожденный третий нуклеотид триплета становится первым в новом триплете. К нему подходит соответствующая тРНК, и трансляция белка продолжается (3)

Расположенные внутри белки высвобождаются после протеолитического расщепления двумя цистеиновыми протеазами – папаин-подобной протеазой PL<sup>pro</sup> и 3CL-подобной протеиназой M<sup>pro</sup> (major protease, 3CL<sup>pro</sup>), первая из которых находится внутри гена nsр 3, а вторая – nsр 5. Папаин-подобная протеаза процессирует nsр 1, nsр 2, nsр 3, а также высвобождает N-конец nsр 4, тогда как M<sup>pro</sup> отвечает за процессинг большинства неструктурных белков: C-конца nsр 4 и белков nsр 5–16 (рис. 2) [23]. Но, прежде чем начать выполнять свои функции, эти протеазы подвергаются аутолитическому процессингу [24, 25]. Полипротеин pp1a процессируется до 11 белков, а pp1ab – до 15 белков [18]. Образование нескольких белков с одной рамки считывания позволяет ускорить выработку белков вируса при использовании моноцистронного принципа трансляции в эукариотической клетке.

Расположение неструктурных белков и их процессинг, по-видимому, отражает необходимость этих белков в процессе трансляции генома. Попав в клетку, вирус начинает её «захват» – синтез большого числа pp1a. Когда произошла модуляция работы клетки под вирусную систему, необходим синтез ферментов вируса – идёт сдвиг рамки считывания на стыке ORF1a и ORF1ab, синтезируется pp1ab. Далее происходит сборка репликазно-транскрипционного комплекса, транскрипция субгеномных РНК, их трансляция в структурные и дополнительные белки. Появляется возможность собирать вирионы и выходить из клетки.

В жизненном цикле коронавирусов очень быстро появляется неструктурный белок nsр 1. Он отвечает за подавление экспрессии генов клетки-хозяина. Связываясь с 40S-субъединицей рибосомы, он блокирует трансляцию неструктурных белков, в результате чего мРНК клет-

ки-хозяина начинает деградировать с 5'-конца. При этом трансляция вирусных РНК продолжает идти, поскольку их 5'-концы защищены лидерными последовательностями [18].

Nsp 2–16 составляют вирусный репликационно-транскрипционный комплекс (RTC), они нацелены на определённые субклеточные участки, где происходит их взаимодействие с факторами клетки-хозяина, что определяет ход цикла репликации. Nsp 2–11 помогают накоплению вирусных RTC, моделируя внутриклеточные мембраны, участвуют в уклонении от иммунной системы и обеспечивают кофакторами для репликации. Процесс эспирования РНК протекает при участии nsр 10 (он выступает как кофактор), nsр 13 (обладает 5'-трифосфатной активностью), nsр 14 (является N<sup>7</sup>-метилтрансферазой) и nsр 16 (имеет 2'-O-метилтрансферазную активность). В 3'-нетранслируемой области коронавирусов находится последовательность AAUAAA, которая служит сигналом полиаденилирования для белка nsр 8 [26]. Nsp 12–16 берут на себя основные ферментативные функции: участвуют в синтезе, модификации и коррекции РНК (табл. 1) [27]. Nsp 15, уникальная уридилат-специфичная эндорибонуклеаза, укорачивает поли(U)-участки, которые присутствуют на 5'-конце вирусной антисмысловой РНК, что способствует уклонению от системы врождённого иммунитета [15].

РНК-зависимая РНК-полимераза коронавирусов представлена белком nsр 12. Сам по себе он обладает минимальной полимеразной активностью, которая существенно возрастает при взаимодействии с факторами процессивности nsр 7 и nsр 8. Считается, что связка nsр 12–nsр 7–nsр 8 представляет собой холофермент РНК-полимеразы, минимальный комплекс, необходимый для полимеризации нуклеотидов [28]. Полимераза nsр 12 имеет

**Таблица 1.** Функции белков, принимающих участие в формировании комплекса РНК-зависимой РНК-полимеразы

Название белка	Участие в репликазно-транскрипционном комплексе
nsр 7, nsр 8	субъединицы холофермента РНК-полимеразы
nsр 9	связывание с РНК и с репликазным комплексом (предположительно)
nsр 10	активаторная субъединица экзонуклеазной активности nsр 14 и метилтрансферазной активности nsр 16; регуляция сдвига рамки считывания в рибосоме
nsр 12	РНК-зависимая РНК-полимераза, нуклеотидилтрансфераза
nsр 13	геликаза, РНК 5'-фосфатаза
nsр 14	3'→5' экзорибонуклеаза, N <sup>7</sup> -метилтрансфераза
nsр 16	образование кэпа РНК, рибозо 2'-O-метилтрансфераза

высокую степень консервативности — более 95% гомологии среди коронавирусов.

С холоферментом РНК-полимеразы коронавирусов также взаимодействует белок nsp 14, благодаря которому происходит экпирование РНК за счёт его метилтрансферазной активности. Другой очень важной его функцией является способность исправлять неправильно встроенные нуклеотиды за счёт своей 3'→5' экзонуклеазной активности, не свойственной другим РНК-содержащим вирусам. Способность к коррекции неправильно встроенных нуклеотидов позволяет поддерживать целостность огромного генома за счёт снижения частоты мутаций склонной к ошибкам РНК-зависимой РНК-полимеразы.

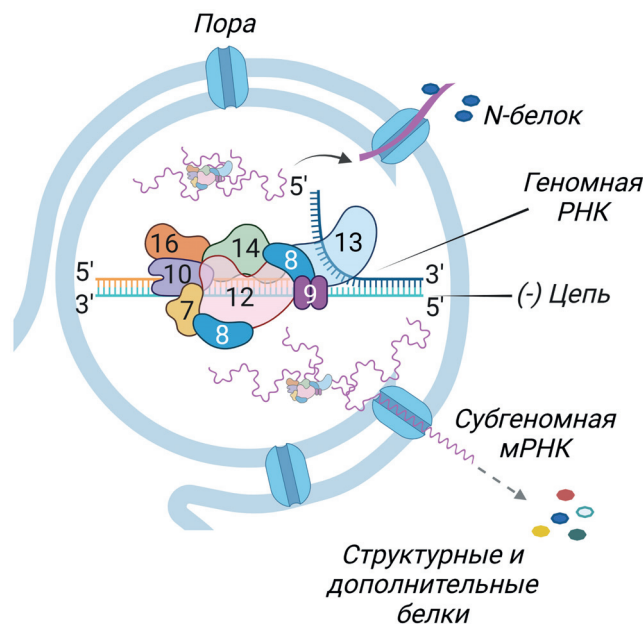
Экзонуклеазная активность обеспечивается при взаимодействии двух белков: nsp 14 и nsp 10, где каталитическую функцию выполняет nsp 14, а активирует его nsp 10 (рис. 5). Последовательность и структура экзонуклеазного домена nsp 14 сильно отличается от известных клеточных экзонуклеаз, что делает этот фермент привлекательной мишенью для разработки противовирусных препаратов [29].

### СИНТЕЗ СТРУКТУРНЫХ И ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ

В последней трети генома коронавирусов кодируются структурные и дополнительные белки. Для их трансляции в инфицированных клетках образуются субгеномные матричные РНК. Эти молекулы вирус получает особым способом — путём «прерывистой» транскрипции, которая встречается у коронавирусов и большинства членов порядка Nidovirales, но не детектирована у других РНК-вирусов [30].

Вирусные смысловые РНК на 5'-конце имеют одинаковую лидерную последовательность — TRS-L (TRS-lider), варьирующую у разных коронавирусов от 55 до 92 нуклеотидов [31]. В субгеномных мРНК эта последовательность «слита» с другой регуляторной последовательностью — TRS-B (или TRS-body). В геноме коронавирусов последовательность TRS-B находится непосредственно перед каждой открытой рамкой считывания в районе структурных и дополнительных генов (за некоторым исключением), а TRS-L — только в одном месте (на 5'-конце).

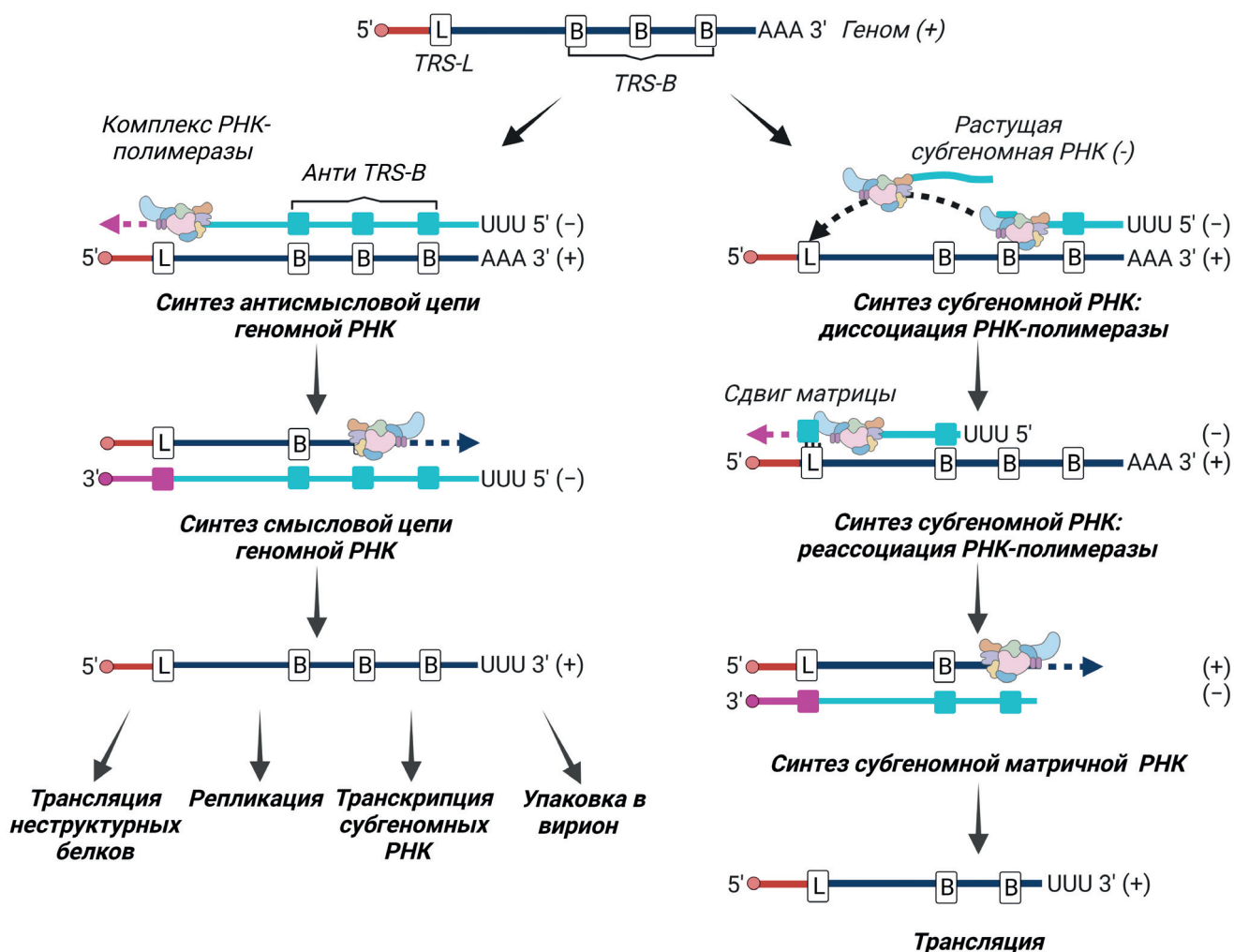
В процессе синтеза антисмысловой цепи РНК-зависимая РНК-полимераза доходит до TRS-B, после копирования которой она останавливает свою работу и перескакивает



**Рис. 5.** Внутри двухмембранной везикулы DMV проходит репликация геномной РНК и транскрипция субгеномных РНК. Полимеразный комплекс составляют неструктурные белки nsp 7, nsp 8, nsp 9, nsp 10, nsp 12, nsp 13, nsp 14 и nsp 16 (обозначены цифрами). РНК, полученные внутри DMV, выходят наружу через поры в мембране. Субгеномные РНК транскрибируются в неструктурные и дополнительные белки, N-белок встречается с геномной РНК и образует нуклеокапсид

на начало геномной РНК (на участок TRS-L) для повторной инициации синтеза. Происходит взаимодействие между комплементарными TRS: один расположен на зарождающейся антисмысловой цепи РНК (TRS-B), а второй — на матричной смысловой геномной РНК (TRS-L). Взаимодействие TRS происходит по консервативной последовательности (5'-ACGAAC-3' для SARS-CoV и SARS-CoV-2), окружённой вариabельными последовательностями переменной длины, которые также могут способствовать взаимодействию TRS-B и TRS-L [15]. После реинициации синтеза РНК на TRS-L копия лидерной последовательности, расположенной на матричной цепи, добавляется к зарождающейся РНК, и синтез антисмысловых субгеномных РНК завершается. Эти промежуточные РНК затем используются для транскрипции в субгеномные мРНК, которые имеют смысловую цепь и используются как мРНК для трансляции структурных и дополнительных белков (рис. 6) [18]. Субгеномные мРНК совпадают своими 3'- и 5'-концами, но варьируют по внутренним участкам. Такие РНК считаются полицистронными, однако функционально они моноцистронны, поскольку трансляция ограничивается одной открытой рамкой считывания, ближайшей к 5'-лидерной последовательности [15].





**Рис. 6.** Репликация и «прерывистая» транскрипция. Геномная РНК вируса служит матрицей для синтеза новых копий геномной РНК (слева) и для транскрипции в субгеномные мРНК по «прерывистому» принципу (справа). Копии геномных РНК используются для синтеза неструктурных белков, репликации, транскрипции в субгеномные РНК и упаковки в вирион. Субгеномные мРНК транслируются в структурные и дополнительные белки

Количество отдельных субгеномных РНК, синтезируемых в инфицированных клетках, зависит от локализации и эффективности считывания каждого TRS-B [26]. Показано, что плотность посадки рибосомы определяет количество транскриптов с данного TRS [15].

Для большинства представителей коронавирусов идентифицировано от 5 до 8 субгеномных РНК, 4 из которых кодируют обязательные структурные белки вириона (S, E, M и N), а остальные относятся к дополнительным белкам. В клетках, инфицированных SARS-CoV-2 и SARS-CoV, идентифицировано 11 и 10 субгеномных мРНК соответственно [17].

Кроме канонических субгеномных РНК, были обнаружены другие, неканонические РНК-продукты прерывистой транскрипции [31]. И здесь много интригующего: есть те, в которых 5'-лидерные последовательности присоединены к неожиданным 3'-сайтам (TRS-L-независимые длинные гибриды и продукты,

полученные в результате делеций структурных и дополнительных генов) [15]. Неканонические субгеномные РНК могут составлять до 1/3 от общего количества субгеномных РНК [32]. Leary et al. [33] исследовали вариант SARS-CoV-2, содержащий мутацию D614G и 3 соседних нуклеотидных замены, охватывающих два остатка нуклеокапсидного белка (R203K/G204R; вариант B.1.1). Анализ последовательности предполагает, что эти замены являются результатом гомологичной рекомбинации основной последовательности TRS-L. Благодаря этому появилась новая TRS между доменами связывания РНК и доменами димеризации нуклеокапсиды, что привело к появлению нового транскрипта субгеномной РНК. Вирусы с мутацией K203/R204 могут также иметь повышенную экспрессию субгеномной РНК из других открытых рамок считывания. Способность SARS-CoV-2 вводить новые мотивы TRS в свой геном с потенциалом для новых транскриптов

субгеномных РНК предполагает, что это средство повышения эффективности и адаптации. В данном исследовании также говорится о том, что сам SARS-CoV-2 может выступать как источник гомологичной рекомбинации [33].

Многие неканонические субгеномные РНК обладают кодирующим потенциалом, и их продукты могут представлять собой укороченные версии дополнительных белков или сами по себе быть не исследованными белками. На примере SARS-CoV-2 показана субгеномная РНК, которая способна транслироваться в укороченный с *N*-конца (делеция в 143 а.о.) S-белок. Подобный белок был идентифицирован в респираторном коронавирусе свиней [31]. Davidson et al. [34] представили доказательства картирования пептидов с помощью тандемной масс-спектрометрии, указывающие на обнаружение ранее неизвестных вирусных белков, часть которых может иметь происхождение от неканонических субгеномных РНК [34]. Также неканонические субгеномные РНК могут функционировать как дефектные интерферирующие РНК [35].

Наличие неканонических РНК показано для разных коронавирусов (например, для MHV, HCoV-229E, SARS-CoV-2). Не ясно, синтезируются ли эти неканонические РНК в результате необычной прерывистой транскрипции (хотя и показано использование TRS-подобных последовательностей для синтеза субгеномных транскриптов [15]) или они представляют собой продукты рекомбинации.

Считается, что TRS представляют собой «горячие точки» рекомбинации, а вторичные РНК-структуры способствуют переключению матрицы TRS-независимым способом. В экспериментах по транскриптомике и профилированию рибосом был продемонстрирован сложный ландшафт РНК и потенциальных белков SARS-CoV-2, который выходит далеко за рамки «канонической» программы экспрессии генов коронавирусов. Аналогичные наблюдения были сделаны и в отношении других коронавирусов [15]. Детальное изучение этих процессов ещё впереди.

На данный момент чётко не установлено, идентичен ли состав репликационно-транскрипционных комплексов, выполняющих синтез антисмысловых геномных РНК и субгеномных РНК. Вероятно, баланс между репликацией и транскрипцией определяется взаимодействием со специфическими белковыми факторами.

Дополнительные белки являются самыми неизученными элементами коронавирусов.

Они не являются важными участниками процесса репликации, однако, по-видимому, играют важную роль в патогенезе вируса, то есть при взаимодействии вируса с организмом хозяина. Большинство функций, приписываемых дополнительным белкам, связаны с механизмами уклонения от действия иммунной системы организма хозяина. К таким функциям относится, например, подавление секреции цитокинов при участии ORF9с или антагонизм интерферона первого типа при участии ORF3b, ORF6, ORF7a, ORF8 или ORF9b. Кроме того, эти вспомогательные белки (например, ORF3a) влияют на такие важные клеточные процессы, как аутофагия или апоптоз. ORF3b влияет на функционирование митохондрий, а ORF9b активирует воспаление [17]. Многие функции этих белков остаются неизвестными ввиду недостаточной гомологии с известными белками [23].

#### МЕХАНИЗМ ПРОНИКНОВЕНИЯ ВИРУСА В КЛЕТКУ

Коронавирусы проникают в клетку по завершению двух последовательных событий: (1) вирусный S-белок взаимодействует со своим рецептором на поверхности клетки и (2) S-белок расщепляется клеточной протеазой до своей активной формы, способной стимулировать слияние вирусной и клеточной мембран.

Описано 4 рецептора, которые используются коронавирусами для связывания с клеткой организма-хозяина. S-белки коронавируса HCoV-229E, вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней (TGEV) и вируса инфекционного перитонита кошек (FIPV) взаимодействуют с аминокептидазой N (APN). Причём для превращения аминокептидазы свиньи в рецептор вируса человека HCoV-229E достаточно изменить участок всего из 8 а.о. в гипервариабельной области рецептор-связывающего домена (RBD) [36]. Молекула адгезии CEACAM1 является рецептором для входа вируса гепатита мышей (MHV), относящегося к роду *Betacoronavirus*. RBD S-белка этого вируса расположен в необычном для коронавирусов месте, в его *N*-концевом домене, где он функционирует как лектин, связывая остатки углеводов. Когда-то это позволило древнему коронавирусу расширить свой тропизм и повысить инфекционность. SARS-CoV, SARS-CoV-2 и некоторые SARS-родственные вирусы летучих мышей используют для входа в клетку ангиотензин-превращающий

фермент ACE2. MERS-CoV, верблюжий MERS-CoV и BatCoV-HKU4 используют белковый рецептор DPP4 [10].

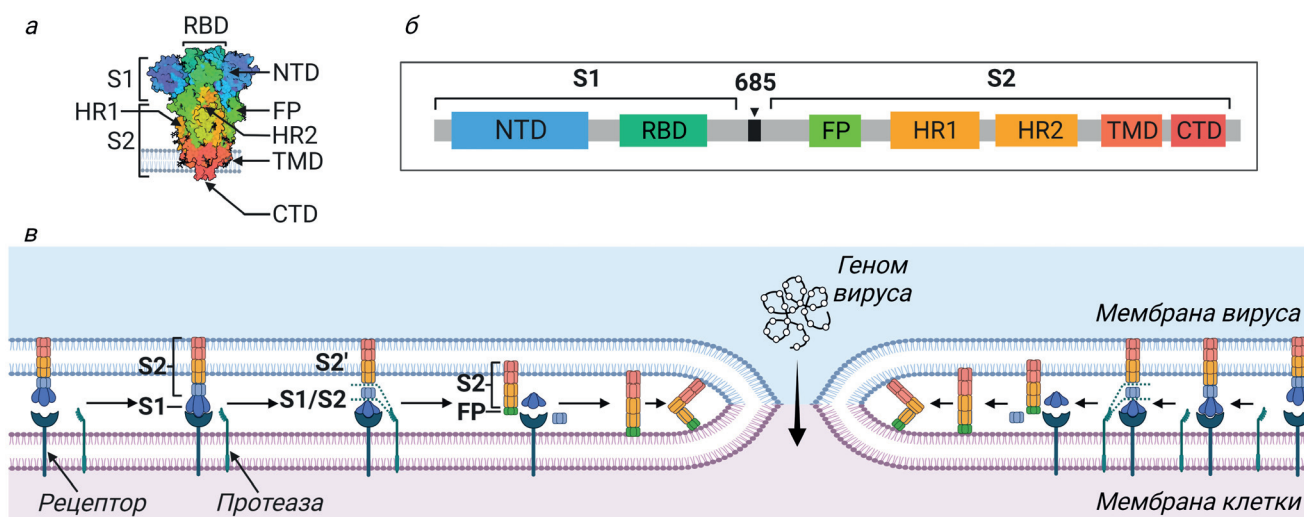
Три из указанных выше рецепторов (APN, ACE2 и DPP4) обладают пептидазной активностью. Однако показано, что протеолитическая активность этих молекул не важна для успешного связывания и проникновения коронавируса. Связывание RBD и рецептора происходит на внешней стороне рецептора, не затрагивая участок его каталитического центра. Но присутствие трансмембранных протеаз, например, TMPRSS2 (трансмембранная сериновая протеаза 2), критически важно [10].

S-Белок (180–200 кДа, 1273 а.о.) располагается на поверхности вириона в виде тримера, формируя выпуклую «головку» и «стебель». Каждый тример покрыт 66 гликанами, маскирующими вирус от узнавания иммунной системой хозяина и помогающими вирусу прикрепляться. Выделяют 2 субъединицы S-белка: S1 отвечает за связывание с рецептором, а S2 — за слияние вируса с мембраной клетки-хозяина. Основными доменами субъединицы S1 являются N-концевой домен (NTD) и RBD. Внутри домена RBD выделяют рецептор-связывающий мотив (RBM), который непосредственно связывается с рецептором. RBD-домены тримера S-белка могут существовать в двух различных конформациях: открытой (up-конформация, состояние доступности рецептору) и закрытой (down-конформация, со-

стояние недоступности к взаимодействию с рецептором) [37]. В субъединице S2 выделяют пептид слияния FP, два домена, содержащих гептадный повтор (HR1 и HR2), трансмембранный (TMD) и цитоплазматический (CTD) домены. На примере ACE2 показано, что с одним димером рецептора связывается 2 тримера S-белка, что ускоряет процесс проникновения вируса.

В нативной конформации субъединица S1 «обёртывает» субъединицу S2, которая образует центр белка. После отщепления субъединицы S1 внутри субъединицы S2 происходят масштабные перестройки, в том числе рефолдинг домена HR1, благодаря чему пептид слияния FP высвобождается и встраивается в мембрану клетки-хозяина [37].

S-Белок содержит 2 участка, последовательное расщепление которых приводит к его активации на клеточной поверхности. Первый участок, S1/S2, расположен на стыке двух субъединиц. У некоторых, но далеко не у всех коронавирусов, он узнаётся протеазами, расположенными на поверхности клетки, и катепсинами. MERS-CoV, IBV, SARS-CoV и SARS-CoV-2 являются примерами вирусов, у которых происходит расщепление по S1/S2 [38]. Относительно других коронавирусов SARS-CoV-2 имеет эволюционное преимущество — вставку полиосновного сайта расщепления в этом участке, а он является минимальным сайтом узнавания фуринами —



**Рис. 7.** Доменная организация S-белка и его участие в процессе слияния вирусной частицы с клеткой. Кристаллографическая (а) и первичная (б) структура S-белка SARS-CoV-2. Внутри субъединиц S1 и S2 выделяют следующие домены: NTD – N-концевой домен, RBD – рецептор-связывающий домен, пептид слияния FP, домены HR1 и HR2, трансмембранный (TMD) и цитоплазматический (CTD) домены. в – Схема взаимодействия клетки и коронавирусной частицы. S-Белок, расположенный на поверхности вирусной мембраны, находит на клеточной мембране соответствующий рецептор. После их взаимодействия друг с другом клеточная протеаза расщепляет S-белок по сайтам S1/S2 и S2'. Это приводит к высвобождению активированной субъединицы S2 с торчащим по направлению к клетке пептидом слияния FP. Пептид встраивается в мембрану клетки, домены HR1 и HR2 взаимодействуют друг с другом, «подтягивая» обе мембраны друг к другу

пептидазами, широко представленными на эпителиальных клетках. Это позволило SARS-CoV-2 использовать широкий спектр разных протеаз для активации процесса проникновения в клетку. Второй участок находится внутри субъединицы S2 и называется S2'. Его расщепление может проходить во внеклеточном пространстве или на поверхности клетки при участии сериновых протеаз, таких как трипсин, TMPRSS2 или нейтрофильная эластаза. При отсутствии расщепления S1/S2 активация S2' все ещё возможна катепсинами (катепсином L) в момент созревании вириона при прохождении эндоцитозного пути. То есть коронавирусы могут сливаться с плазматической мембраной клетки или эндосомами, используя ранний и поздний пути. Ранний путь предполагает расщепление сначала по S1/S2, а затем – по S2' внеклеточными и клеточными трансмембранными протеазами (трипсин, нейтрофильная эластаза, TMPRSS2), тогда как в позднем пути процессом руководят эндосомальные протеазы, такие как катепсин L [39].

После расщепления на участке S2' пептид слияния FP экспонируется наружу и происходит запуск слияния с мембраной клетки-хозяина. Затем возникают гидрофобные взаимодействия между доменами HR1 и HR2 субъединицы S2, в результате чего образуется структура, состоящая из 6 цепей, которая заставляет мембраны вируса и клетки сблизиться друг с другом, образуя пору. Пору увеличивается до тех пор, пока внутрь клетки не зайдёт генетический материал вируса (рис. 7).

### МУТАЦИИ SARS-CoV-2

Эволюция вируса происходит постоянно. Считается, что особенно интенсивно мутации возникают и закрепляются при длительной персистенции вируса в организме человека с ослабленным иммунитетом [40]. Мутации и их сочетание модулируют вирулентность или контагиозность, влияют на клиническую картину и тяжесть последствий Covid-19 (табл. 2).

На заре образования вариантов вируса SARS-CoV-2 мутация D614G в гене S-белка [52] способствовала быстрому распространению вируса и стала первой мутацией, сохранившейся во всех вариантах, появившихся после Уханьского [53]. D614G характеризуется заменой аспарагиновой кислоты на глицин в положении 614 в S-белке. Остаток 614 находится на границе раздела субъединиц S1 и S2 и может влиять на их взаимодействие и стабилизацию S-белка. Петля, разупорядоченная в

S-тримере D614, вклинивается между доменами внутри протомера в шипе G614. Это дополнительное взаимодействие, по-видимому, предотвращает преждевременную диссоциацию тримера G614, в результате которой S-белок становится более стабильным, чем в исходном варианте вируса. Наличие данной мутации связано с высокой вирусной нагрузкой у инфицированных пациентов и высокой инфекционностью на модели псевдотипированных по системе VSVΔ\*G/GFP вирусов *in vitro*. При этом наличие мутации D614G не коррелирует с тяжестью заболевания [54].

Для варианта Дельта описано 4 критические мутации, влияющие на характеристики вируса: D614G и G142D повышают аффинность к ACE2, а L452R и T478K обеспечивают высокую аффинность и неспособность антител нейтрализовать вирус (табл. 2). Эти мутации не уникальны и встречаются в других вариантах, но их сочетание в варианте Дельта может определять длительное и тяжёлое течение заболевания. В работе Zhang et al. [55], опубликованной в журнале Science, были описаны 2 характеристики варианта Дельта, объясняющие его более высокую трансмиссивность. Во-первых, даже при низких уровнях ACE2 слияние S-белка вируса варианта Дельта с клеткой происходит эффективно. Во-вторых, инфицирование клеток-мишеней вирусами этого варианта происходит значительно быстрее, чем вирусами других вариантов. Таким образом, при относительно коротком воздействии Дельта может быстро заражать гораздо большее количество клеток, что приводит к короткому инкубационному периоду и большей вирусной нагрузке во время инфекции [55].

Planas et al. [56] исследовали чувствительность вируса варианта Дельта к моноклональным антителам и антителам, присутствующим в сыворотке крови людей, переболевших Covid-19 или получивших вакцину от Covid-19. Было показано, что некоторые моноклональные антитела против N-концевого домена (NTD) и против RBD, включая бамланивимаб, утратили способность связываться с S-белком и больше не были способны нейтрализовать вирус варианта Дельта. Сыворотки, собранные у людей, переболевших Covid-19 в течение 12 мес. после появления симптомов, были в 4 раза менее эффективны против варианта Дельта по сравнению с вариантом Альфа (B.1.1.7). Сыворотки людей, получивших одну дозу вакцины Pfizer или AstraZeneca, показали едва заметное ингибирующее действие на вирус варианта Дельта. Сыворотки людей, получивших оба компонента вакцины,

**Таблица 2.** Мутации S-белка, характерные для VOC SARS-CoV-2 [41, 42] и влияющие на иммунный ответ и аффинность связывания с рецептором ACE2

Мутации	Обозначение вариантов									Уклонение от нейтрализующих антител <sup>3</sup>	Изменение аффинности связывания с ACE2 <sup>3</sup>
	Альфа <sup>1</sup>	Бета	Гамма	Дельта	Омикрон						
	B.1.1.7 <sup>2</sup>	B.1.351	P.1	B.1.617.2	BA.1	BA.2	BA.3	BA.4	BA.5		
L18F										[43]	
G142D										[44]	
del143/145										[44]	
del144/144										[45]	
R214_insEPE										[44]	
del242/244											
G339D										[44]	
S371L										[44]	↑ [40]
S373P										[44]	↑ [40]
S375F											↑ [40] ↓ [44]
D405N											↓ [46]
R408S										[44]	
K417N											↓ [45]
K417T										[44]	↓ [45]
N440K										[44]	↓ [46]
G446S										[47]	
L452R										[45, 64]	↑ [40]
S477N										[45, 48]	↑ [45], ↓ [46]
T478K										[44, 45]	↑ [40]
E484A										[44, 45]	↓ [46]
E484K											↓ [46]
F486L										[64]	↑ [64]
Q493R										[49]	↑ [40]
G496S											↑ [46]
Q498R											↑ [40]
N501Y										[49]	↑ [40, 44, 45]
D614G											↑ [50]
N764K										[44]	
V1176F											↑ [51]

Примечание. Ячейки с серым фоном – наличие у варианта мутации, которая изменяет ответ на нейтрализующие антитела или аффинность связывания с ACE2; ячейки с бесцветным фоном – отсутствие мутации. <sup>1</sup> – Обозначение ВОЗ; <sup>2</sup> – обозначение Pango, <sup>3</sup> – в столбце приведены ссылки на литературные источники, в которых описано влияние мутаций на способность вируса уклоняться от нейтрализующих антител или изменять аффинность к ACE2: повышать (↑) или понижать (↓) её.

показали нейтрализующий эффект в отношении этого варианта, но были примерно в 3–5 раз менее эффективны, чем против варианта Альфа [56]. В другом исследовании было показано, что введение двух доз вакцины даёт лучшую защиту, однако это также зависит от варианта вируса. Так, эффективность вакцины Pfizer против Дельта снижается до 88%, тогда как для Альфа её эффективность составляет 93,4%. Вакцинация препаратом AstraZeneca была эффективна на уровне 66,1% при Альфа-варианте и 59,8% – при варианте Дельта [57].

Повсеместное и быстрое распространение варианта Омикрон привело к значительной эволюции вируса в пределах этого VOC. Для мутаций этого варианта собрано особенно много сведений о возможности уклонения от нейтрализующих антител и изменениях аффинности к рецептору (табл. 2). В нем мы можем наблюдать значительное количество мутаций, расположенных в различных участках генома. В S-белке Омикрона число мутации составляет более 30 [58], из них более 10 расположены в RBD. По некоторым данным, существование большого количества мутаций в вирусе этого варианта указывает на его происхождение от людей с ослабленным иммунитетом [40].

Мутации с изменением аффинности внутри одного варианта/подварианта Омикрон зачастую имеют противоположный эффект и могут нейтрализовать друг друга, что может быть причиной довольно лёгкого течения Covid-19, вызванного этим вариантом. В то же время способность к уклонению от нейтрализующих антител могла привести к широкому распространению Омикрона: вариант B.1.1.529 в 3,3 раза более трансмиссивен, чем Дельта [59]. Многие мутации варианта Омикрон встречаются в ранее обнаруженных вариантах SARS-CoV-2. Уникальной мутацией подварианта BA.1 является инсерция R214\_insEPE. Данная инсерция, по-видимому, появилась в результате рекомбинации у людей, инфицированных одновременно несколькими коронавирусами. Была установлена идентичная последовательность в S-белке HCoV-229E, которую можно использовать для переключения матрицы [60].

Мутациями, встречающимися во всех подвариантах Омикрона, являются G142D (кроме BA.1, у которого G142), G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, S477N, T478K, E484A, Q498R, N501Y, Y505H, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, Q954H и N969K. Среди них мутации N501Y и Q498R, как предполагают, усиливают связывание с рецептором ACE2, а мутации H655Y, N679K и P681H увеличивают расщепление S-белка и облегчают передачу

вируса [42]. Мутация T91 E-белка, наблюдаемая во всех подвариантах Омикрона и расположенная в трансмембранном домене, может влиять на конфигурацию этого белка, обеспечивая более сильное закоривание вирусной мембраны [61]. У вариантов Бета и Омикрон было выявлено несколько критических сайтов связывания RBD с рецептором ACE2: K417N, E484K, Q493H, N501Y – для варианта Бета и Q493R, Q498R, N501Y – для варианта Омикрон. Предполагают, что мутации в этих сайтах могут привести к расширению тропизма этого вируса [62, 63].

S-Белок доминантных, на сентябрь 2022 г., подвариантов BA.4 и BA.5 идентичен и очень похож на спайковый белок BA.2. Отличие состоит в том, что эти два подварианта имеют делецию 69–70, кроме того, характерную для Дельта мутацию L452R, новую мутацию F486V, а также реверсную мутацию R493Q. В других частях генома имеются дополнительные мутации. Например, для подварианта BA.4 характерны мутации L11F – в ORF7b, P151S – в гене N-белка, делеция 141–143 – в nsp 1, тогда как BA.5 имеет мутацию D3N в гене M-белка [64].

Предполагают, что замены в S-белке в положениях 452, 486 и 493 изменяют связывание с ACE2 и влияют на взаимодействие с антителами. Мутации в положении L452 с заменами на R/M/Q встречались в вариантах Дельта, Каппа и Эпсилон, но также независимо возникли в нескольких подвариантах BA.2 в разных географических точках (например, L452Q в BA.2.12.1). Мутация в этом положении ослабляет способность антител нейтрализовать вирус [64]. Фенилаланин в положении 486 участвует в связывании вируса с рецептором ACE2. Мутация в этом положении приводит к снижению нейтрализующей активности антител классов I и II и поликлональной сыворотки. Предполагают, что именно F486 даёт большое преимущество вирусу при уклонении от действия нейтрализующих антител, включая антитела, нейтрализующие BA.1. То есть BA.4 и BA.5 приобрели механизм ещё более эффективного уклонения от действия антител, чем предыдущие подварианты [64]. Кроме того, BA.5 обладает наибольшей трансмиссивностью, согласно еженедельным сводкам ВОЗ по состоянию на сентябрь 2022 г., BA.2.12.1 и BA.2.75 также являются производными BA.2. В районе S-белка BA.2.12.1 присутствуют замены L452Q и S704F, а для BA.2.75 – K147E, W152R, F157L, I210V, G257S, D338H, G446S, N460K и реверсная мутация Q493R.

Спустя несколько месяцев после начала пандемии Covid-19 в инфицированных образ-

цах начали выявляться рекомбинантные геномы. В целом это было предсказуемо – у коронавирусов довольно часто происходит гомологичная и негомологичная рекомбинация. Гомологичная рекомбинация, как предполагают, идёт по общей схеме с отщеплением РНК-зависимой РНК-полимеразы от матрицы в процессе синтеза РНК и её присоединением к гомологичному участку матрицы другого генома с последующей элонгацией. Негомологичная рекомбинация может возникать между геномной РНК и субгеномными мРНК в результате коллапса транскрипционного комплекса во время прерывистой транскрипции. Для того, чтобы рекомбинационное событие имело место, необходима одновременная циркуляция в популяции двух и более подвариантов и появление внутри одной клетки разных геномов.

Впервые геном, производный двух разных вариантов SARS CoV-2 (20A и 20B по классификации NextStrain), был зафиксирован в феврале 2021 г. [65]. Впоследствии среди секвенированных последовательностей часто появлялись разные гибридные геномы. В исследовании Focosi и Maggi [66] можно ознакомиться с подробным описанием 40 вариантов зафиксированных гибридных геномов, полученных в результате рекомбинационных событий (гибриды Альфа–Дельта, Бета–Дельта, Дельта–Омикрон, разных подвариантов Омикрона). Рекомбинантный вариант XD представляет собой геном Дельта AY.4, в который «вклинилась» последовательность гена S-белка BA.1 (нуклеотиды в положениях с 21643 по 25581); XD содержит уникальную мутацию nsp 2: E172D [67]; гибрид XF также представляет собой рекомбинант варианта Дельта AY.4 и BA.1 с точкой разрыва вблизи конца nsp 3 (нуклеотид 5386), в нём фрагменты двух разных геномов расположены последовательно друг за другом; XE-рекомбинант объединяет геномы BA.1 и BA.2, при этом большая часть генома, включая ген S-белка, принадлежит BA.2. Появились гибриды и последних на сегодняшний день вариантов SARS-CoV-2, например, BA.2.12.1–BA.5; BA.2.76–BA.5.2; BA.5–BA.2–BA.5.1 [66].

В настоящее время считается, что эти варианты не представляют собой угрозу более высокой трансмиссивности или ухудшения течения заболевания (Global Virus Network, [gvn.org/covid-19](http://gvn.org/covid-19)). Это связано с тем, что волны пандемии последних вариантов вируса становятся все короче, минимизируя время совместной циркуляции разных вариантов; высокий индекс репродукции последних вариантов ставит высокую планку для рекомбинантных

форм; в связи с лёгким течением Омикрона время репликации вируса внутри организма ограничено, делая минимальной вероятность коинфекции или суперинфекции.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Механизмы репликации и транскрипции генов, взаимодействие белков коронавирусов с рецепторами человека ранее были изучены на примерах SARS-CoV и MERS-CoV. Но отсутствие препаратов для эффективной терапии коронавирусных инфекций позволяет нам заключить, что выявлены не все молекулярные механизмы функционирования коронавирусов. Исследование SARS-CoV-2 позволило улучшить наше понимание механизмов внедрения вируса в клетку, определить структуру и функции белков коронавируса, выявить ключевые мутации, влияющие на контагиозность и трансмиссивность вируса, на клинические проявления заболевания. Для SARS-CoV-2 была детально описана уникальная способность к сдвигу рамки считывания в процессе транскрипции своей геномной РНК, в результате чего увеличилась вариабельность синтезируемых белков. Данные белки способны «строить» внутриклеточные везикулы, где происходит репликация и транскрипция вирусной РНК, а также последующая сборка вирусных частиц. Формирование синцития ранее было показано для некоторых вирусов, например, для ВИЧ, вируса простого герпеса. Однако механизмы возникновения такой структуры во многом были не изучены до появления SARS-CoV-2. К примеру, было показано, что способность клеток к слиянию при формировании синцития определяется наличием уникальной для S-белка SARS-CoV-2 вставкой четырёх аминокислот (PRRA) на стыке субъединиц S1 и S2.

Критическое и многоролевое участие S-белка в патогенезе SARS-CoV-2 само по себе очень интересно. Он участвует в слиянии с клеткой, образовании синцития, уклонении от иммунного ответа, гликаны на его поверхности защищают вирус от быстрого распознавания иммунной системой. Нуклеотидные последовательности S-белка вирусов SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 во многом схожи. Тем не менее ответ организма человека на каждый из этих вирусов отличается. Пандемия Covid-19 дала нам возможность наблюдать воочию эволюцию вируса. Мы стали свидетелями того, как сильно различается исход заболевания от количества и сочетания мутаций

в вирусных вариантах. Аминокислотный состав S-белка определяет эффективность проникновения вируса в клетку, его патогенность, трансмиссивность и эволюцию.

На данный момент невозможно определить реальный объём мировых последствий, вызванных пандемией вируса SARS-CoV-2 как для системы здравоохранения, так и для социальной и экономической сфер в целом. Однозначно можно сказать, что ближайшее десятилетие мы будем наблюдать и исследовать последствия коронавирусной инфекции, оценивать изменения в медицинской статистике, изучать риски отложенных осложнений, таких как ожидаемое увеличение аутоиммунных и нейродегенеративных заболеваний; анализировать тенденции и риски для пациентов с хроническими и онкологическими заболеваниями, исследовать состояние здоровья беременных и детей, инфицированных SARS-CoV-2 в гестационный период. Особую группу исследований займут работы по оценке неврологических последствий, связанных с социальным дистанцированием, в том числе у детей и подростков. Кроме того, актуальным вопросом остаётся вероятность эволюции вируса SARS-CoV-2. Теоретическая возможность эволюции вируса и комбинации трансмиссивности SARS-CoV-2 и летальности MERS-CoV ставят перед мировым научным сообществом вопрос о глобализации и разработке новых методов

борьбы с вирусными инфекциями. Стала очевидна необходимость отслеживания и контроля форм коронавирусов в живой природе, необходимость реформы в процессах регистрации и внедрения медицинских изделий для инфекционных заболеваний, но самое главное – создания динамичной среды с доступом к новейшему научному инструментарию и высокоспециализированным научным и медицинским кадрам для быстрого реагирования на биологические вызовы в будущем.

**Вклад авторов.** Мифтахова Р.Р., Ризванов А.А., Шавалиев Р.Ф. – концепция и структура работы и редактирование текста; Мингалеева Р.Н., Нигматулина Н.А., Шарафетдинова Л.М., Ромозанова А.М., Габдулхакова А.Г., Филина Ю.В. – анализ литературы, написание текста; подготовка иллюстраций.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

**Дополнительная информация.** Рисунки, представленные в обзоре, выполнены с использованием сайта <https://biorender.com>.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Reagan, R. L., Yancey, F., and Brueckner, A. L. (1955) Studies of the avian infectious bronchitis virus (wachtel strain) in the cynomolgus monkey, *Poultry Sci.*, **34**, 1448, doi: 10.3382/ps.0341448.
2. Alharbi, S. N., and Alrefaei, A. F. (2021) Comparison of the SARS-CoV-2 (2019-nCoV) M protein with its counterparts of SARS-CoV and MERS-CoV species, *J. King Saud. Univ. Sci.*, **33**, 101335, doi: 10.1016/j.jksus.2020.101335.
3. Paul, D., Kolar, P., and Hall, S. G. (2021) A review of the impact of environmental factors on the fate and transport of coronaviruses in aqueous environments, *npj Clean Water*, **4**, 7, doi: 10.1038/s41545-020-00096-w.
4. Chan, T., Klaus, J., Meli, M. L., and Hofmann-Lehmann, R. (2021) SARS-CoV-2 infections in cats, dogs, and other animal species: Findings on infection and data from Switzerland, *Schweiz Arch. Tierheilkd*, **163**, 821-835, doi: 10.17236/sat00329.
5. Guan, Y., Zheng, B. J., He, Y. Q., Liu, X. L., Zhuang, Z. X., et al. (2003) Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China, *Science*, **302**, 276-278, doi: 10.1126/science.1087139.
6. Zhu, Z., Lian, X., Su, X., Wu, W., Marraro, et al. (2020) From SARS and MERS to COVID-19: a brief summary and comparison of severe acute respiratory infections caused by three highly pathogenic human coronaviruses, *Respiratory Res.*, **21**, 224, doi: 10.1186/s12931-020-01479-w.
7. Li, X., Giorgi, E. E., Marichannegowda, M. H., Foley, B., Xiao, C., et al. (2020) Emergence of SARS-CoV-2 through recombination and strong purifying selection, *Sci. Adv.*, **6**, doi: 10.1126/sciadv.abb9153.
8. Hassanin, A., Rambaud, O., and Klein, D. (2022) Genomic Bootstrap Barcodes and Their Application to Study the Evolution of Sarbecoviruses, **14**, 440, doi: 10.3390/v14020440.
9. He, B., Li, Z., Yang, F., Zheng, J., Feng, Y., et al. (2013) Virome profiling of bats from Myanmar by metagenomic analysis of tissue samples reveals more novel mammalian viruses, *PLoS One*, **8**, e61950, doi: 10.1371/journal.pone.0061950.



10. Millet, J. K., Jaimes, J. A., and Whittaker, G. R. (2021) Molecular diversity of coronavirus host cell entry receptors, *FEMS Microbiol. Rev.*, **45**, fuaa057, doi: 10.1093/femsre/fuua057.
11. Gómez, C. E., Perdiguero, B., and Esteban, M. (2021) Emerging SARS-CoV-2 variants and impact in global vaccination programs against SARS-CoV-2/COVID-19, *Vaccines (Basel)*, **9**, 243, doi: 10.3390/vaccines9030243.
12. Bai, Z., Cao, Y., Liu, W., and Li, J. (2021) The SARS-CoV-2 nucleocapsid protein and its role in viral structure, biological functions, and a potential target for drug or vaccine mitigation, *Viruses*, **13**, 1115, doi: 10.3390/v13061115.
13. Liu, D. X., Liang, J. Q., and Fung, T. S. (2021) Human coronavirus-229E, -OC43, -NL63, and -HKU1 (Coronaviridae), *Encyclopedia of Virology*, 428-440, doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.21501-X.
14. Schoeman, D., and Fielding, B. C. (2019) Coronavirus envelope protein: current knowledge, *Virol. J.*, **16**, 69, doi: 10.1186/s12985-019-1182-0.
15. Malone, B., Urakova, N., Snijder, E.J. et al. . (2022) Structures and functions of coronavirus replication–transcription complexes and their relevance for SARS-CoV-2 drug design., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **23**, 21-39, doi: 10.1038/s41580-021-00432-z.
16. Maclachlan, N. J., and Dubovi, E. J. (2016) *Fenner's Veterinary Virology*, Academic press.
17. Redondo, N., Zaldívar-López, S., Garrido, J. J., and Montoya, M. (2021) SARS-CoV-2 accessory proteins in viral pathogenesis: knowns and unknowns, *Frontiers in Immunology*, **12**, doi: 10.3389/fimmu.2021.708264.
18. Kim, D., Lee, J.-Y., Yang, J.-S., Kim, J. W., Kim, V. N., et al. (2020) The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome, *Cell*, **181**, 914-921.e910, doi: 10.1016/j.cell.2020.04.011.
19. Báez-Santos, Y. M., St John, S. E., and Mesecar, A. D. (2015) The SARS-coronavirus papain-like protease: structure, function and inhibition by designed antiviral compounds, *Antiviral Res.*, **115**, 21-38, doi: 10.1016/j.antiviral.2014.12.015.
20. Angelini, M. M., Akhlaghpour, M., Neuman, B. W., and Buchmeier, M. J. (2013) Severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural proteins 3, 4, and 6 induce double-membrane vesicles, *mBio*, **4**, e00524-13, doi: 10.1128/mBio.00524-13.
21. Wolff, G., Melia, C. E., Snijder, E. J., and Bárcena, M. (2020) Double-membrane vesicles as platforms for viral replication, *Trends Microbiol.*, **28**, 1022-1033, doi: 10.1016/j.tim.2020.05.009.
22. Medina-Enríquez, M. M., Lopez-León, S., Carlos-Escalante, J. A., Aponte-Torres, Z., Cuapio, A., et al. (2020) ACE2: the molecular doorway to SARS-CoV-2, *Cell Biosci.*, **10**, 148, doi: 10.1186/s13578-020-00519-8.
23. V'kovski, P., Kratzel, A., Steiner, S., Stalder, H., and Thiel, V. (2021) Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2, *Nat. Rev. Microbiol.*, **19**, 155-170, doi: 10.1038/s41579-020-00468-6.
24. Xia, B., and Kang, X. (2011) Activation and maturation of SARS-CoV main protease, *Protein Cell*, **2**, 282-290, doi: 10.1007/s13238-011-1034-1.
25. Yang, Y., Hussain, S., Wang, H., Ke, M., and Guo, D. (2009) Translational control of the subgenomic RNAs of severe acute respiratory syndrome coronavirus, *Virus Genes*, **39**, 10-18, doi: 10.1007/s11262-009-0357-y.
26. Brant, A. C., Tian, W., Majerciak, V., Yang, W., and Zheng, Z.-M. (2021) SARS-CoV-2: from its discovery to genome structure, transcription, and replication, *Cell Biosci.*, **11**, 136, doi: 10.1186/s13578-021-00643-z.
27. Denison, M. R., Graham, R. L., Donaldson, E. F., Eckerle, L. D., and Baric, R. S. (2011) Coronaviruses: an RNA proofreading machine regulates replication fidelity and diversity, *RNA Biol.*, **8**, 270-279, doi: 10.4161/rna.8.2.15013.
28. Kirchdoerfer, R. N., and Ward, A. B. (2019) Structure of the SARS-CoV nsp12 polymerase bound to nsp7 and nsp8 co-factors, *Nat. Commun.*, **10**, 2342, doi: 10.1038/s41467-019-10280-3.
29. Rona, G., Zeke, A., Miwatani-Minter, B., de Vries, M., Kaur, R., et al. (2021) The NSP14/NSP10 RNA repair complex as a Pan-coronavirus therapeutic target, *Cell Death Differ.*, **29**, 285-292, doi: 10.1038/s41418-021-00900-1.
30. Sola, I., Almazán, F., Zúñiga, S., and Enjuanes, L. (2015) Continuous and discontinuous RNA synthesis in coronaviruses, *Annu. Rev. Virol.*, **2**, 265-288, doi: 10.1146/annurev-virology-100114-055218.
31. Hussain, S., Pan, J., Chen, Y., Yang, Y., Xu, J., et al. (2005) Identification of novel subgenomic RNAs and noncanonical transcription initiation signals of severe acute respiratory syndrome coronavirus, *J. Virol.*, **79**, 5288-5295, doi: 10.1128/JVI.79.9.5288-5295.2005.
32. Nomburg, J., Meyerson, M., and DeCaprio, J. A. (2020) Pervasive generation of non-canonical subgenomic RNAs by SARS-CoV-2, *Genome Med.*, **12**, 108, doi: 10.1186/s13073-020-00802-w.
33. Leary, S., Gaudieri, S., Parker, M. D., Chopra, A., James, I., et al. (2021) Generation of a novel SARS-CoV-2 sub-genomic RNA due to the R203K/G204R variant in nucleocapsid: homologous recombination has potential to change SARS-CoV-2 at both protein and RNA level, *bioRxiv*, doi: 10.1101/2020.04.10.029454.
34. Davidson, A. D., Williamson, M. K., Lewis, S., Shoemark, D., Carroll, M. W., et al. (2020) Characterisation of the transcriptome and proteome of SARS-CoV-2 reveals a cell passage induced in-frame deletion of the furin-like cleavage site from the spike glycoprotein, *Genome Med.*, **12**, 68, doi: 10.1186/s13073-020-00763-0.
35. Wang, D., Jiang, A., Feng, J., Li, G., Guo, D., et al. (2021) The SARS-CoV-2 subgenome landscape and its novel regulatory features, *Mol. Cell*, **81**, 2135-2147.e5, doi: 10.1016/j.molcel.2021.02.036.
36. Kolb, A. F., Hegyi, A., and Siddell, S. G. (1997) Identification of residues critical for the human

- coronavirus 229E receptor function of human aminopeptidase N, *J. Gen. Virol.*, **78** (Pt 11), 2795-2802, doi: 10.1099/0022-1317-78-11-2795.
37. Jackson, C. B., Farzan, M., Chen, B., and Choe, H. (2022) Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **23**, 3-20, doi: 10.1038/s41580-021-00418-x.
38. Chan, Y. A. Z., Shing Hei (2022) The emergence of the spike furin cleavage site in SARS-CoV-2, *Mol. Biol. Evol.*, **39**, msab327, doi: 10.1093/molbev/msab327.
39. Stevens, C. S. O., Kasopefoluwa Y., and Lee, B. (2021) Proteases and variants: context matters for SARS-CoV-2 entry assays, *Curr. Opin. Virol.*, **50**, 49-58, doi: 10.1016/j.coviro.2021.07.004.
40. Kumar, S., Thambiraja, T. S., Karuppanan, K., and Subramaniam, G. (2022) Omicron and Delta variant of SARS-CoV-2: a comparative computational study of spike protein, *J. Med. Virol.*, **94**, 1641-1649, doi: 10.1002/jmv.27526.
41. Gangavarapu, K., Latif, A. A., Mullen, J. L., Alkuzweny, M., Hufbauer, E., et al. (2022) Outbreak.info genomic reports: scalable and dynamic surveillance of SARS-CoV-2 variants and mutations, *medRxiv*, doi: 10.1101/2022.01.27.22269965.
42. Desingu, P. A., Nagarajan, K., and Dhama, K. (2022) Emergence of Omicron third lineage BA. 3 and its importance, *J. Med. Virol.*, **94**, 1808-1810, doi: 10.1002/jmv.27601.
43. McCallum, M., De Marco, A., Lempp, F. A., Tortorici, M. A., Pinto, D., et al. (2021) N-terminal domain antigenic mapping reveals a site of vulnerability for SARS-CoV-2, *Cell*, **184**, 2332-2347.e16, doi: 10.1016/j.cell.2021.03.028.
44. Pastorio, C., Zech, F., Noettger, S., Jung, C., Jacob, T., et al. (2022) Determinants of spike infectivity, processing and neutralization in SARS-CoV-2 Omicron subvariants BA.1 and BA.2, *bioRxiv*, doi: 10.1101/2022.04.13.488221.
45. Harvey, W. T., Carabelli, A. M., Jackson, B., Gupta, R. K., Thomson, E. C., et al. (2021) SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape, *Nat. Rev. Microbiol.*, **19**, 409-424, doi: 10.1038/s41579-021-00573-0.
46. Kumar, S., Karuppanan, K., and Subramaniam, G. (2022) Omicron (BA. 1) and sub-variants (BA.1, BA.2 and BA.3) of SARS-CoV-2 Spike infectivity and pathogenicity: a comparative sequence and structural-based computational assessment, *bioRxiv*, doi: 10.1101/2022.02.11.480029.
47. Starr, T. N., Greaney, A. J., Addetia, A., Hannon, W. W., Choudhary, M. C., et al. (2021) Prospective mapping of viral mutations that escape antibodies used to treat COVID-19, *Science*, **371**, 850-854, doi: 10.1126/science.abf9302.
48. Liu, Z., VanBlargan, L. A., Bloyet, L.-M., Rothlauf, P. W., Chen, R. E., et al. (2021) Identification of SARS-CoV-2 spike mutations that attenuate monoclonal and serum antibody neutralization, *Cell Host Microbe*, **29**, 477-488.e4, doi: 10.1016/j.chom.2021.01.014.
49. Wright, D. W., Harvey, W. T., Hughes, J., Cox, M., Peacock, T. P., et al. (2022) Tracking SARS-CoV-2 mutations and variants through the COG-UK-mutation explorer, *Virus Evol.*, **8**, veac023, doi: 10.1093/ve/veac023.
50. Ozono, S., Zhang, Y., Ode, H., Sano, K., Tan, T. S., et al. (2021) SARS-CoV-2 D614G spike mutation increases entry efficiency with enhanced ACE2-binding affinity, *Nat. Commun.*, **12**, 848, doi: 10.1038/s41467-021-21118-2.
51. Majumdar, P., and Niyogi, S. (2021) SARS-CoV-2 mutations: The biological trackway towards viral fitness, *Epidemiol. Infect.*, **149**, e110, doi: 10.1017/S0950268821001060.
52. Morais, I. J., Polveiro, R. C., Souza, G. M., Bortolin, D. I., Sasaki, F. T., et al. (2020) The global population of SARS-CoV-2 is composed of six major subtypes, *Sci. Rep.*, **10**, 18289, doi: 10.1038/s41598-020-74050-8.
53. Zhang, J., Cai, Y., Xiao, T., Lu, J., Peng, H., et al. (2021) Structural impact on SARS-CoV-2 spike protein by D614G substitution, *Science*, **372**, 525-530, doi: 10.1126/science.abf2303.
54. Korber, B., Fischer, W. M., Gnanakaran, S., Yoon, H., Theiler, J., et al. (2020) Tracking changes in SARS-CoV-2 spike: evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus, *Cell*, **182**, 812-827.e19, doi: 10.1016/j.cell.2020.06.043.
55. Zhang, J., Xiao, T., Cai, Y., Lavine, C. L., Peng, H., et al. (2021) Membrane fusion and immune evasion by the spike protein of SARS-CoV-2 Delta variant, *Science*, **374**, 1353-1360, doi: 10.1126/science.eabl9463.
56. Planas, D., Veyer, D., Baidaliuk, A., Staropoli, I., Guivel-Benhassine, F., et al. (2021) Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization, *Nature*, **596**, 276-280, doi: 10.1038/s41586-021-03777-9.
57. Lopez Bernal, J., Andrews, N., Gower, C., Gallagher, E., Simmons, R., et al. (2021) Effectiveness of Covid-19 vaccines against the B.1.617.2 (Delta) variant, *N. Engl. J. Med.*, **385**, 585-594, doi: 10.1056/NEJMoa2108891.
58. Shen, X. (2022) Boosting immunity to Omicron, *Nat. Med.*, **28**, 445-446, doi: 10.1038/s41591-022-01727-0.
59. Nishiura, H., Ito, K., Anzai, A., Kobayashi, T., Piantham, C., et al. (2021) Relative reproduction number of SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) compared with Delta variant in South Africa, *J. Clin. Med.*, **11**, 30, doi: 10.3390/jcm11010030.
60. Venkatakrishnan, A., Anand, P., Lenehan, P. J., Suratekar, R., Raghunathan, B., et al. (2021) Omicron variant of SARS-CoV-2 harbors a unique insertion mutation of putative viral or human genomic origin, *OSF Preprints*, doi: 10.31219/osf.io/f7txy.
61. Abbas, Q., Kusakin, A., Sharrouf, K., Jyakhwo, S., and Komissarov, A. S. (2022) Follow-up investigation and detailed mutational characterization of the SARS-CoV-2 Omicron variant lineages (BA.1, BA.2, BA.3 and BA.1.1), *bioRxiv*, doi: 10.1101/2022.02.25.481941.

62. Pan, T., Chen, R., He, X., Yuan, Y., Deng, X., et al. (2021) Infection of wild-type mice by SARS-CoV-2 B.1.351 variant indicates a possible novel cross-species transmission route, *Signal Transduct. Target. Ther.*, **6**, 420, doi: 10.1038/s41392-021-00848-1.
63. Xu, Z., Liu, K., and Gao, G. F. (2022) Omicron variant of SARS-CoV-2 imposes a new challenge for the global public health, *Biosaf. Health*, **4**, 147-149, doi: 10.1016/j.bsheat.2022.01.002.
64. Tegally, H., Moir, M., Everatt, J., Giovanetti, M., Scheepers, C., et al. (2022) Emergence of SARS-CoV-2 Omicron lineages BA.4 and BA.5 in South Africa, *Nat. Med.*, **28**, 1785-1790, doi: 10.1038/s41591-022-01911-2.
65. Pedro, N., Silva, C. N., Magalhães, A. C., Cavadas, B., Rocha, A. M., et al. (2021) Dynamics of a dual SARS-CoV-2 lineage co-infection on a prolonged viral shedding COVID-19 case: insights into clinical severity and disease duration, *Microorganisms*, **9**, 300, doi: 10.3390/microorganisms9020300.
66. Focosi, D., and Maggi, F. (2022) Recombination in coronaviruses with a focus on SARS-CoV-2, *Viruses*, **14**, 1239, doi: 10.3390/v14061239.
67. Yamasoba, D., Kimura, I., Nasser, H., Morioka, Y., Nao, N., et al. (2022) Virological characteristics of SARS-CoV-2 Omicron BA.2 spike, *Cell*, **185**, 2103-2115.e19, doi: 10.1016/j.cell.2022.04.035.

## BIOLOGY OF THE SARS-CoV-2 CORONAVIRUS

### Review

**R. N. Mingaleeva<sup>1\*</sup>, N. A. Nigmatulina<sup>2</sup>, L. M. Sharafetdinova<sup>1</sup>, A. M. Romozanova<sup>1</sup>,  
A. G. Gabdulkhakova<sup>1</sup>, Yu. V. Filina<sup>1</sup>, R. F. Shavaliyev<sup>2</sup>, A. A. Rizvanov<sup>1</sup>, and R. R. Miftakhova<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Kazan (Volga Region) Federal University, 420008 Kazan, Russia; E-mail: rimma.mingaleeva@gmail.com

<sup>2</sup> Republican Clinical Hospital of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, 420064 Kazan, Russia

The new coronavirus infection Covid-19, which emerged in late 2019 in China, caused a severe social and economic crisis that affected the whole world. The high frequency of errors in the replication of RNA viruses, the zoonotic nature of transmission, and high transmissibility allowed betacoronaviruses to cause the third pandemic in the world since the beginning of 2003: SARS-CoV in 2003, MERS-CoV in 2012 and SARS-CoV-2 in 2019. The latest pandemic brought the scientific community together and provided a powerful impetus to the study of the biology of coronaviruses: new ways of penetration of the virus into the human body have been identified, the features of the replication cycle have been studied, and new functions of coronavirus proteins have been identified. It should be taken into account that the pandemic was accompanied by the need to obtain and publish results in a short time, which led to the emergence of an array of conflicting data and low reproducibility of research results. We systematized and analyzed the scientific literature, filtered the results according to the reliability of the methods of analysis used, and prepared a review describing the molecular mechanisms of the functioning of the SARS-CoV-2 coronavirus. The paper considers the organization of the genome of the SARS-CoV-2 virus, the mechanisms of its gene expression and the entry of the virus into the cell, provides information on key mutations that characterize different variants of the virus, and their contribution to the pathogenesis of the disease.

**Keywords:** SARS-CoV-2, Covid-19, S-protein, mutation, VOC