

СТРУКТУРНЫЕ БЕЛКИ КОРОНАВИРУСА SARS-COV-2: РОЛЬ, ИММУНОГЕННОСТЬ, СУПЕРАНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА И ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ

С.Д. Бруякин, Д.А. Макаревич

ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

В начале декабря 2019 г. первые случаи пневмонии неизвестного происхождения были выявлены в городе Ухань, провинция Хубэй, Китай. Высокопроизводительное секвенирование выявило новый бета-коронавирус, который в настоящее время называется новым коронавирусом 2019 года (SARS-CoV-2). Гипервоспаление при коронавирусной инфекции (COVID-19) может вызывать цитопению, коагулопатию, повреждение тканей, дисфункцию печени и активацию макрофагов, а также имеет признаки реактивного гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза. Сверхпродукция воспалительных цитокинов может вызвать дисфункцию органов и, в конечном итоге, смерть. Эти симптомы и связанные с ними лабораторные показатели похожи на синдром токсического шока, усиление цитотоксического адаптивного иммунного ответа, при связывании патогенных суперантигенов с молекулами МНСII и рецепторами Т-клеток (TCR). В статье изучены структурные белки коронавируса, которые участвуют в развитии такой реакции иммунной системы человека, и раскрыта молекулярная организация и антигенные свойства этих белков. Описана роль структурных молекул в патогенезе коронавирусной инфекции, а также возможности их использования в качестве компонентов вакцин и перспективных лигандов для эфферентных методов лечения этой патологии.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, S1-белок, антиген, суперантиген, структура вируса, патогенез COVID-19.

DOI 10.19163/1994-9480-2021-2(78)-18-27

STRUCTURAL PROTEINS OF THE SARS-COV-2 CORONAVIRUS: ROLE, IMMUNOGENICITY, SUPERANTIGENIC PROPERTIES AND POTENTIAL USE FOR THERAPEUTIC PURPOSES

S.D. Bruyakin, D.A. Makarevich

GNU «Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Belarus

In early December 2019, the first cases of pneumonia of unknown origin were detected in Wuhan City, Hubei Province, China. High throughput sequencing has identified a novel beta coronavirus, currently called the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2). Hyperinflammation in coronavirus infection (COVID-19) cause cytopenia, coagulopathy, tissue damage, liver dysfunction and macrophage activation, and also has signs of reactive hemophagocytic lymphohistiocytosis. Overproduction of inflammatory cytokines can cause organ dysfunction and ultimately death. These symptoms and associated laboratory parameters strongly resemble toxic shock syndrome, an increase in the cytotoxic adaptive immune response, when pathogenic superantigens bind to MHCII molecules and T-cell receptors (TCR). The article examines structural proteins of the coronavirus, which are involved in the development of such a response of the human immune system, discloses the molecular organization and antigenic properties of SARS-CoV-2 proteins. The role of structural molecules in the pathogenesis of coronavirus infection, as well as the possibility of their use as components of vaccines and promising ligands for efferent methods of treating this pathology, is described.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, S1-protein, antigen, superantigen, virus structure, pathogenesis of coronavirus infection.

Антигенными свойствами обладает любая молекула, способная специфически распознаваться элементами иммунной системы (Т- и В-клетками). Известно, что В-клетки нуждаются в помощи Т-клеток для выработки специфических антител. Т-хелперные клетки специфически связываются с антигенпрезентирующими клетками (АРС).

В то время как обычные АРС, такие как макрофаги, не проявляют специфичности связывания с антигеном (Аg), В-клетки имеют клонально распределенные антигенспецифические поверхностные рецепторы иммуноглобулинов. В-лимфоцит определяет и встраивает

Т-клеточные эпитопы в главный комплекс гистосовместимости II (МНС-II), для презентации лигандов Т-клеточному рецептору (TCR). Специализированные клоны Т-клеток, при помощи TCR, определяют предложенные лиганды. Поэтому, в отношении В-эпитопов В-клетка распознает Аg, а в отношении Т-эпитопов – презентует [1, 2].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить суперантигенные свойства белков коронавируса SARS-CoV-2 и выявить возможности использования для терапевтических целей.

Антигены и классификация. В зависимости от происхождения выделяют:

1. Экзоантигены – попадают в организм человека из окружающей среды.
2. Эндоантигены – образуются в организме в процессе метаболизма или патологического процесса.
3. Аутоантигены – это нормальные белки организма, которые в результате воздействия факторов внешней среды или аутоиммунных заболеваний распознаются иммунной системой как Ag [1].

Понятие суперантигена. Суперантигены (SAg) связываются непосредственно с рецептором TCR и MHC-II вне обычного антигенсвязывающего сайта, обходя, таким образом, процессинг Ag (рис. 1).

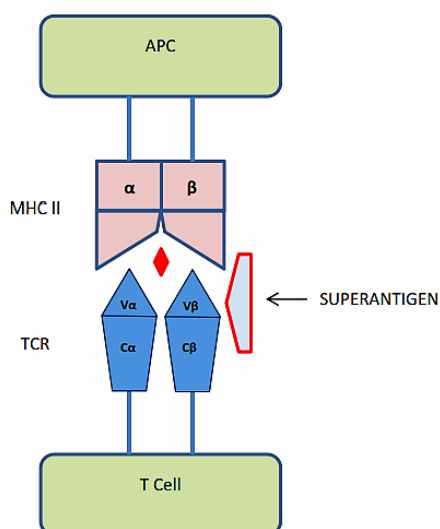


Рис. 1. Схема взаимодействия суперантигена с MHC-II и TCR [3]

SAg могут активировать до 25 % Т-клеток человека, в отличие от менее 0,01 % при классическом ответе. Поскольку количество Т-клеток, которые имеют общие вариабельные домены, велико, то большое количество Т-клеток (независимо от Ag специфичности) может быть активировано SAg. На начальной стадии иммунного ответа происходит выброс IL-2, INF-γ и TNF-α из активированных Т-клеток. Далее следует второй выброс цитокинов, продуцируемых макрофагами – IL-1, IL-6, IL-8 и TNF-α, наряду с хемокинами, лейкотриенами, простагландинами и белками системы комплемента. Все это в тяжелых случаях вызывает расширение сосудов и транссудацию жидкости из сосудов, что может привести к гипоперфузии тканей, шоку и полиорганной недостаточности.

Большинство микробных SAg, по-видимому, имеют общий сайт связывания MHC II (называемый родовым сайтом). Однако различия в аминокислотной последовательности свидетельствуют о том, что каждый SAg имеет сродство к конкретным аллелям MHC II

(например, некоторые бактериальные SAg проявляют большее сродство к HLA-DQ, а не к HLA-DR) [3].

Структура вируса: поверхностные белки, белки капсида, РНК. Коронавирусы относятся к отряду *Nidovirales*, семейству *Coronaviridae* и подсемейству *Orthocoronavirinae*. Коронавирусы содержат одноцепочечную положительно заряженную РНК и обладают одним из самых больших геномов среди всех РНК-вирусов. Две трети генома коронавируса на 5'-конце кодирует вирусные белки, участвующие в транскрипции вирусной РНК и репликации, а одна треть на 3'-конце кодирует структурные и группоспецифические вспомогательные белки. Основными структурными белками коронавирусов являются: *S* (*spike*), *E* (*envelope*), *M* (*membrane*) и *N* (*nucleocapsid*) (рис. 2). Эти биомаркеры играют центральную роль не только в диагностике заболевания, но и в понимании его патогенности [4].

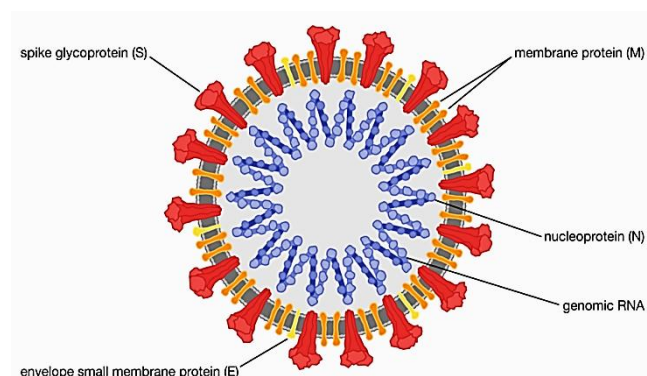


Рис. 2. Структура SARS-CoV-2 [5]

Белок «шип» (S белок). S белок состоит из 1300 а.к. и имеет размер 180–200 кДа, в структуре S белка выделяют внеклеточный N-терминальный домен (NTD), трансмембранный домен (TMD), закрепленный на вирусной мембране, и короткий внутриклеточный C-терминальный домен (CMD) [6]. До слияния с мембраной клетки S белок обычно существует в метастабильной конформации; как только вирус взаимодействует с клеткой-хозяином, происходит обширная структурная перестройка S белка, позволяющая вирусу сливаться с мембраной клетки-хозяина. S белок покрыт молекулами полисахарида, чтобы избежать иммунного ответа организма хозяина во время проникновения в клетку [7]. В структуре S белка можно выделить сигнальный пептид (аминокислоты 1–13), расположенный на N-конце, субъединицу S1 (14–685 остатков) и субъединицу S2 (686–1273 остатка); последние две области отвечают за связывание рецепторов и слияние мембран соответственно. В состав S1 субъединицы входят: NTD (14–305 остатков) и рецептор-связывающий домен (RBD, 319–541 остаток); S2 субъединица состоит из гибридного пептида (FP)

(788–806 остатков), последовательности гептапептидного повтора 1 (HR1) (912–984 остатка), HR2 (1163–1213 остатков), TMD (1213–1237 остатков) и домена цитоплазмы (1237–1237 остатков) [8]. Тримеры S белка визуально образуют характерный луковичный венец, окружающий вирусную частицу. Структура тримерного S белка SARS-CoV-2 была определена с помощью криоэлектронной микроскопии на атомном уровне, выявив различные конформации S1 субъединицы в открытом и закрытом состояниях [9, 10]. В нативном состоянии S белок неактивен. Во время вирусной инфекции протеазы клеток-мишеней расщепляют S белок, на S1 (рис. 3) и S2 белки [11], это необходимо для активации домена слияния мембран для проникновения вируса в клетки-мишени. Хотя сайт расщепления SARS-CoV S известен, сайт SARS-CoV-2 S еще не описан [12, 13].

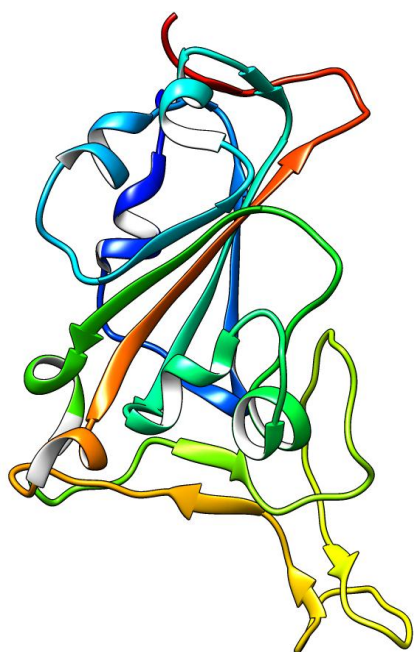


Рис. 3. S1 белок

Белок оболочки (Е белок)

Е белок – это небольшой гидрофобный белок, состоящий из 74–109 а.к. молекулярной массой 8,4–109 кДа. Он состоит из трех частей: NTD, TMD и CTD [14]. В структуре Е белка выделяют три сайта цистеина, которые специфичны к пальмитолитическому белку [15, 16]. Хотя точная функция пальмитолитического белка все еще вызывает споры, исследования роли этого белка в развитии коронавирусной инфекции (COVID-19) продолжаются. Изменения всех трех аминокислот в МНУ-CoV могут значительно ослабить вирус [17, 16]. Другая консервативная аминокислота в структуре Е белка – пролин, который расположен в мотиве β -coil- β СТ области. Он играет важную роль в фолдинге белка в комплексе Гольджи [16].

Е белок образует в клетке ионный канал, повышает активность виropорина, участвует в сборке вируса, а также опосредует экзоцитоз вирусных частиц [18]. PDZ-связывающий мотив (PBM) является важным белковым мотивом в СТ области, также он играет решающую роль в патогенности, разобщая передачу сигналов в клетке [19, 20]. Исследования показывают, что Е белок играет основную роль в передаче сигналов, например, F. De Maio и соавт. установили, что изменение нескольких аминокислот СТ области Е белка SARS CoV-2 повлияло на PALS1, который играет ключевую роль в контакте. В результате чего вирус стал более патогенным, чем другие коронавирусы [21].

Несколько пангеномных исследований, посвященных изучению последовательностей бета-коронавируса, показали, что две его функциональные особенности, включая ионный канал и PBM, строго сохраняются во всех кластерах основных генов в штаммах SARS-CoV и SARS-CoV-2. Эти особенности стимулируют «цитокиновый шторм», усиливают воспаление и, как следствие, увеличивается отек легких. Этот процесс вызывает острый респираторный дистресс-синдром и, в конечном итоге, смерть при инфекциях SARS-CoV и SARS-CoV-2. Существует множество лекарств, нацеленных на этот механизм, например, амантадин и гексаметиленаминорид (действующие на ионные каналы) и SB203580 (действие на PBM) [22].

Белок матрикса (М белок). Недавние исследования показали, что М белок SARS-CoV-2 идентичен М белкам MERS-CoV и SARS-CoV на 39,2 и 90,1 % соответственно [23]. М белок – трансмембранный гликопротеин, является важным структурным белком коронавирусов [24]. Это самый распространенный протеин на поверхности вируса, который придает ему форму. Согласно исследованиям, проведенным на двух вирусах SARS-CoV и MERS-CoV, М белок содержит 230 аминокислот и имеет молекулярную массу 25–35 кДа и является наименьшим структурным белком SARS-CoV-2.

Анализ *in silico* показал, что структура М белка SARS-CoV-2 аналогична прокариотическому белку, транспортирующему глюкозу, и имеет тройной спиральный пучок и единственный TMD. Исходя из этого, можно предположить, что М белок играет роль в проникновении вируса в клетку хозяина и созревании РНК-вирусов, но для подтверждения этой гипотезы необходимо провести множество исследований [25]. NTD и CTD представляют собой эктодомен и эндодомен соответственно. CTD обладает способностью связываться с РНК. Этот белок транслируется рибосомами, которые прикреплены к шероховатому эндоплазматическому ретикулуму. Почти у всех представителей *coronaviridae* амфипатическая область в конце третьей TMD хорошо сохранилась [24].

Нуклеопротеид (N белок)

N белок имеет молекулярную массу 43–50 кДа. Этот структурный белок спирального нуклеокапсида имеет сродство к РНК и несколькими аминокислотами (лизин и аргинин) [26]. В структуре N белка выделяют: NTD (сайт связывания РНК), CTD (домен димеризации), а также множество неупорядоченных фрагментов (богатых серином и аргинином) [27]. N белок выполняет функцию присоединения и сборки генома вирусной РНК к длинной спиральной структуре нуклеокапсида или матрице рибонуклеопротеида [27]; однако он очень чувствителен к протеазам [28]. Этот белок фосфорилируется в нескольких специфических положениях в различных коронавирусах, что приводит к изменению его функций, таких как специфичность к вирусной РНК, нарушения связывания моноклональных антител с поверхностью вируса, а также созревание и сборка вируса [29, 30, 31]. Однако причина фосфорилирования остается неясной. N белок также может участвовать в регуляции вирусной транскрипции и увеличивать продуктивность геномной репликации РНК в обратных генетических системах [32, 33].

Накапливающиеся данные показали, что N белок, который часто присутствует в цитоплазме зараженных клеток, приводит к остановке клеточного цикла в фазе G2 / M [34]. Кроме того, кристаллография белков показала, что структура N белка чрезвычайно различается в сайтах связывания РНК высоко патогенных коронавирусов (SARS-CoV-2, SARS-CoV и MERS-CoV) и коронавирусов со сравнительно низкой патогенностью (HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-NKU1 и HCoV-OC43) [35]. Поскольку белок N является поверхностным белком и менее вариабелен, чем S белок, его можно предложить в качестве кандидата на вакцину от SARS-CoV-2 [36, 37]. Анализ *in silico* показал, что влияние двух препаратов, глицирризиновой кислоты и фитохимического вещества Theaflavi, на N белок можно использовать как один из вариантов лечения [38].

Антигенные свойства структурных белков вируса SARS-CoV-2. M белок – своеобразный гликопротеин, отличающийся от всех других вирусных гликопротеинов своими структурными и биологическими особенностями. Несколько исследований указывают на то, что M белок, даже в значительной степени погруженный в вирусную мембрану, способен вызывать иммунный ответ [39, 40]. Хотя антигенные сайты на M белке не определены, предполагается, что его N-концевой гидрофильный эктодомен содержит основные антигенные детерминанты, ответственные за иммунологические реакции [41]. Было доказано, что незащищенная N-концевая область M белка вируса трансмиссивного гастроэнтерита является индуктором альфа-интерферона в лимфоцитах, хотя значение альфа-интерферона в процессе иммунного ответа к вирусной инфекции не определено [42].

Ванг и др. [43] протестировали несколько синтетических пептидов, полученных из M белка, на их иммунореактивность с образцами сыворотки от пациентов с SARS-CoV-2 и показали, что короткий пептид, подобный C-концевому эпитопу (остатки 137–158), слабо реагировал с большинством протестированных сывороток. Согласно некоторым исследованиям, синтетические пептиды, соответствующие N-концевым или C-концевым эпитопам M белка, были высоко реактивными с сыворотками пациентов инфицированными SARS-CoV-2 находящимися в фазе выздоровления, но не реагировали с контрольными сыворотками от здоровых доноров крови, что позволяет предположить их потенциальное применение для серологической диагностики SARS-CoV-2 [44].

N белки коронавирусов содержат несколько иммунодоминантных эпитопов и антигенных сайтов; однако они содержат общий эпитоп, расположенный в C-концевой области, который вызывает сильный иммунный ответ. Поскольку N белок SARS-CoV обладает схожими антигенными свойствами и высоким сходством последовательностей с другими N белками коронавирусов, полноразмерный N белок может перекрестно реагировать с антителами против других N белков коронавирусов, что ограничивает использование N белка SARS-CoV-2 для разработки диагностических тестов. Пептиды, по структуре подобные антигенным сайтам, могут служить идеальными антигенами для разработки сайт-специфических иммуно-тестов для серологической диагностики. Путем сравнения последовательностей N белка SARS-CoV с последовательностями других коронавирусов, короткий богатый лизином участок, соответствующий аминокислотам с K362 по Q381, оказывается уникальным для SARS-CoV [45, 46, 47].

E белок выполняет множество функций на различных фазах инфекции. Хотя он присутствует в относительно небольшом количестве копий на вирусную частицу, он показал иммуностимулирующую активность. Филогенетический анализ последовательностей E белков показывает, что коронавирус летучих мышей и коронавирусы панголинов являются наиболее похожими на SARS-CoV-2. Несмотря на очень высокий уровень идентичности, E белок SARS-CoV имеет меньшую гомологию последовательностей, чем E белок коронавируса летучих мышей и ящеров.

E белки кишечного коронавируса человека, а также коронавируса крупного рогатого скота и респираторного коронавируса собак имеют низкий процент идентичности. Тем не менее, они также имеют несколько общих эпитопов с SARS-CoV-2 в аминокислотной цепи E белка. Кроме того, структурное сравнение, выполненное между недавно выпущенной трехмерной структурой с высоким разрешением E белка SARS-CoV и прогнозируемой трехмерной моделью E белка

кишечного, бычьего и собачьего коронавирусов человека, подтверждает сохранение конформационной структуры мономера независимо от аминокислотной последовательности каждого белка.

Более того, структурное картирование предсказанных последовательностей эпитопов выявило смежное картирование некоторых из E доменов SARS-CoV-2, предполагающее наиболее иммуногенную часть E белка как в его мономерной, так и в гомопентамерной формах. Кроме того, структурное картирование некоторых исследованных эпитопов кишечного CoV человека, бычьего CoV и собачьего CoV продемонстрировало консенсус как в расположении последовательности в аминокислотной цепи, так и в их трехмерной укладке. Такие данные еще раз указывают на их потенциальную иммуногенность и возможное значение для разработки иммунодиагностических инструментов и профилактических исследований, даже несмотря на то, что они демонстрируют пониженную гомологию последовательностей с аналогом SARS-CoV-2 E [48].

S белки вирусов MERS-CoV и SARS-CoV вызывают устойчивый иммунный ответ [49, 50]. Некоторые исследования также показали, что эпитопы на S белке могут иметь потенциал для разработки на их основе вакцины против SARS-CoV-2 [51]. В других исследованиях были проверены экспериментально определенные эпитопы S белка SARS-CoV, и были идентифицированы соответствующие последовательности в SARS-CoV-2 [52]. Подобная стратегия использовалась в исследовании А. Grifoni [53]. Хотя S белок SARS-CoV-2 на 77,38 % идентичен S белку SARS-CoV, большинство антител против S белка SARS-CoV проявили слабую перекрестную реактивность к S белку SARS-CoV-2 [54], из этого следует, что S белок SARS-CoV-2 имеет существенно измененную структуру. В ходе биоинформатических исследований S белка SARS-CoV-2 обнаружены аминокислотные последовательности, имеющие антигенные свойства. Пептид Spike 333–338 имеет высокую антигенную активность. Примечательно, что этот пептид находится в RBD S белка SARS-CoV-2 [55]. Вероятно, антитела, распознающие этот эпитоп, также могут нейтрализовать вирус и предотвратить заражение. Эпитоп Spike 648–663 находится на 12 аминокислот выше сайта расщепления фурином, что является критическим для биогенеза SARS-CoV-2 [56].

Суперантигенные свойства S белка SARS-CoV-2.

S белок SARS-CoV-2 в своей структуре содержит сайт с высоким сродством к связыванию β-цепи TCR, содержащий вставку P681RRA684 (PRRA), уникальную для SARS-CoV-2. При этом TCR связывается на границе раздела между субъединицами S1 и S2 S белка, рядом с сайтом расщепления S1/S2. На границе раздела между S белком и доменом TCRVβ находится несколько сильных межатомных взаимодействий, включая остатки S680-R683 на S белке и R70-E74, и Q52, D56 на соответствующих CDR 3 и 2 на Vβ [57].

Согласно некоторым исследованиям PRRA имеет близкое структурное сходство с SAg *Staphylococcal enterotoxin B* (SEB), а также сходство последовательностей с нейротоксинами и вирусными SAg. Установлено, что вставка PRRA вместе с предшествующими семью аминокислотами образует мотив Y674-R685, гомологичный нейротоксинам из родов *Ophiophagus* (кобра) и *Bungarus*, а также нейротоксиноподобным областям из трех штаммов вируса бешенства [58, 59]. Этот сегмент также имеет близкое сходство с SAg мотивом гликопротеина gp120 ВИЧ-1 F164-V164.

Близкое сходство SAg последовательностей как с бактериальными, так и с вирусными SAg, и потенциальный SAg характера аминокислотного участка Y674-R685 S белка SARS-CoV-2, побудило ученых провести дальнейший анализ его локальной последовательности и структурных свойств. Анализ привел к интересному сходству последовательностей между частично перекрывающимся фрагментом T678-Q690 S белка и SAg пептидом SEB Y150-D161. Эта додекапептидная последовательность в SEB демонстрирует сильную консервативность среди широкого спектра стафилококковых и стрептококковых SAg [60, 61].

SAg пептид SEB Y150-D161 связывает рецептор CD28 [60], который обеспечивает костимуляторные сигналы, необходимые для активации и выживания T-клеток. Домены CD28 и TCRV имеют одну и ту же (иммуноглобулиновую) складку и механизм связывания.

Из-за гомологичного SAg сегмента SEB, связывающего CD28, ученые протестировали возможность связывания S белка SARS-CoV-2 E661-R685 с CD28, учитывая возможность того, что мишенью SAg сегмента S белка SARS-CoV-2 может быть CD28. Один и тот же сегмент может в равной степени связываться с CD28, что дополнительно подтверждает сильную склонность этого фрагмента стимулировать активацию T-клеток [62].

Существование потенциальных SAg, токсичных или фрагментов последовательностей, подобных молекулам межклеточной адгезии (ICAM) в SARS-CoV, было тщательно исследовано после пандемии 2003 года. S белок SARS-CoV-2 сохраняет SAg фрагменты, наблюдаемые в S белке SARS-CoV, включая ICAM-1-подобный мотив, участвующий в стабилизирующих взаимодействиях с TCRVα. Дальнейшие исследования привели к идентификации девяти участков последовательностей, включая три предшественника нейротоксина ботулина типа D или G, и два мотива, которые имеют большое сходство с молекулой межклеточной адгезии 1 (ICAM-1) [60]. Сравнительный анализ с последовательностью S белка SARS-CoV-2 показал, что семь из этих мотивов консервативны между SARS-CoV и SARS-CoV-2. Y279-C301, ICAM-1 (CD54) – подобный мотив, также участвует в ассоциации между S белком SARS-CoV-2 и связанным αβTCR.

Участие ICAM-1 имеет решающее значение для развития иммунных и воспалительных реакций. Взаимодействие ICAM-1-подобного мотива S белка SARS-CoV-2 с TCRV α в тандеме с взаимодействием вышеупомянутого предполагаемого SAg мотива (вокруг вставки PRRA) с TCRV α , вероятно, еще больше усиливает ассоциацию вируса с Т-клеткой, а именно, N280-E281-N282 и T286, принадлежащие ICAM-подобному фрагменту, тесно взаимодействуют с CDR TCRV α ; в основном T286 (S белок) находится в тесном контакте с S94 (CDR3), E281 (S белок) образует водородную связь с T51 (CDR2), а N280 и N282 (S белок) тесно связаны с R69.

Редкая мутация D839Y/E, недавно обнаруженная в штамме SARS-CoV-2 из Европы, способствует стабилизации взаимодействия с TCR. Интересно, что область связывания S белка SARS-CoV-2 содержит три остатка, которые, как недавно сообщалось, мутировали в новых штаммах из Европы и США [63, 64]: D614G, A831V и D839Y/N/E. Первые два потенциально могут взаимодействовать с MHCII; в то время как последний (D839, европейский штамм) имеет сродство к TCRV β и активно взаимодействует с аспарагином (N30). Его замена на глутамат в мутанте D839E увеличивает силу межмолекулярной (и тем самым вирус-Т-клеточной) ассоциации. Еще более сильные взаимодействия между S белком и TCRV β наблюдаются при замене D839 на тирозин: межфазные взаимодействия в этом случае дополнительно стабилизируются водородной связью между Y839 и D32; ароматическим (полярное π) взаимодействием между Y839 и N30; а также возможным электростатическим взаимодействием между лизином (K73) и серином (S97).

Роль структурных молекул вируса в патогенезе COVID-19. На молекулярном уровне взаимодействие вируса с клеткой начинается со связывания S белка с ангиотензин-превращающим ферментом 2 (ACE2), за которым следует слияние вирусной мембраны с мембраной клетки-хозяина. S белок активируется при помощи расщепления на S1 и S2 белки. В зависимости от последовательности сайта расщепления S1/S2 прайминговое расщепление может осуществляться различными протеазами клетки-хозяина, включая фурин, трансмембранную протеазу серинпротеаза-2 (TMPRSS-2), TMPRSS-4, катепсины, трипсин или человеческую трипсиноподобную протеазу [65]. Однако доступность конкретной протеазы в клетке-хозяине не может быть регулирующим фактором патогенности SARS-CoV-2, поскольку хорошо известно, что S белки модифицируют сайты расщепления протеазами, в результате разные протеазы могут выполнять расщепление S белка. Это один из механизмов, используемых SARS-CoV-2 для инфицирования [66]. Помимо этого, SARS-CoV-2 кодирует несколько белков, ослабляющих врожденные иммунные ответы, особенно активацию интерферона 1

в клетках-хозяевах, что приводит к усилению иммунопатогенеза. Thensp15 (также известная, как эндо-рибонуклеаза EndoU) жизненно важна для ограничения обнаружения вирусной РНК специфическими рецепторами распознавания цитоплазматических паттернов [67].

Вирусная мембрана, слитая с мембраной хозяина, приводит к проникновению SARS-CoV-2 в клетку-хозяина с помощью эндоцитоза через клатрин зависимые или клатрин независимые пути [68, 69]. Затем вирусный геном попадает в цитозольное пространство с помощью лизосомальных ферментов, а именно катепсином L и трипсином [70].

После высвобождения вирусного генома в цитозольное пространство клетки-хозяина вирус изменяет процесс транскрипции в свою пользу, нарушая процесс транскрипции клетки-хозяина. Синтезированные вирусные белки используются вместо белков клетки-хозяина, а также провоцируют развитие патогенетических реакций [71]. Репликация генома вируса происходит после попадания в 5' область продуктов генов oRf1a, oRF1b, pp1a и pp1ab [72]. Репликационно-транскрипционный комплекс (RTC) заключается в двумембранные везикулы (DMV), включает различные белки, такие как РНК-зависимая РНК полимеразы (nsp12), геликазы (nsp13), метилтрансферазы, модифицирующие кэп РНК (nsp14 и nsp16), и экзорибонуклеаза (nsp14) [72, 73].

RTC синтезирует кластер, включающий субгеномные РНК, с прерывистой транскрипцией. Некоторые ферменты, обрабатывающие РНК, такие как nsp14, являются характерными для всех РНК-вирусов, включая SARS-CoV, и, вероятно, обеспечивают функцию проверки RTC. RTC использует геном для синтеза геномов потомства и серии субгеномных мРНК, используя промежуточные соединения с отрицательной цепью. Структурные белки, такие как М, S и дополнительный белок, транслируются рибосомами, прикрепленными к мембране эндоплазматического ретикулума, а затем они транспортируются в промежуточный компартмент комплекс Гольджи. N белок покрывает геномы потомства путем инкапсидации этих компонентов вместе с компонентами, связанными с мембраной, создавая вирионы путем отпочкования от комплекса Гольджи. В конце концов, везикулы, которые включают вирусные частицы, объединяются с плазматической мембраной, высвобождая вирус.

Возможности использования белков вируса в качестве компонента вакцины. Более 180 вакцин-кандидатов, основанных на различных платформах, в настоящее время разрабатываются против SARS-CoV-2 [74]. Платформы можно разделить на «традиционные» подходы (инактивированные или живые вирусные вакцины), платформы, которые недавно привели к созданию лицензированных вакцин (рекомбинантные

белковые вакцины и векторные вакцины), и платформы, которые еще не привели к созданию лицензированной вакцины (РНК и ДНК-вакцины).

Инактивированные вакцины. Инактивированные вакцины производятся путем выращивания SARS-CoV-2 в культуре клеток, обычно на клетках Vero, с последующей химической инактивацией вируса [75]. Их можно производить относительно легко; однако их выход может быть ограничен продуктивностью вируса в культуре клеток и необходимостью производственных мощностей с высоким уровнем биобезопасности [76]. Примеры инактивированных вакцин-кандидатов включают CoronaVac (первоначально известную как PiCoVacc), которая разрабатывается Sinovac Biotech в Китае и дополнительно обсуждается ниже, а также несколько других кандидатов, которые разрабатываются в Китае компанией Bharat Biotech в Индии и Исследовательским институтом проблем биологической безопасности в Казахстане. Эти вакцины обычно вводятся внутримышечно и могут содержать квасцы (гидроксид алюминия) или другие адъюванты. Поскольку весь вирус представлен иммунной системе, иммунный ответ, вероятно, будет нацелен не только на S белок, но также и на M, E, N белки [75, 77].

Живые аттенуированные вакцины. Живые аттенуированные вакцины производятся путем создания генетически ослабленной версии вируса, который реплицируется в ограниченной степени, не вызывая заболевания, но вызывая иммунный ответ, подобный тому, который провоцирует естественная инфекция. Ослабление может быть достигнуто путем адаптации вируса к неблагоприятным условиям (например, рост при более низкой температуре, рост в нечеловеческих клетках) или путем рациональной модификации вируса (например, путем деоптимизации кодонов или путем удаления генов, отвечающих за противодействие распознаванию врожденным иммунитетом). Важным преимуществом этих вакцин является то, что их можно вводить интраназально, после чего они вызывают иммунные реакции слизистых оболочек, которые могут защитить верхние дыхательные пути – главный портал проникновения вируса. Кроме того, поскольку вирус реплицируется у вакцинированного индивидуума, иммунный ответ, вероятно, будет воздействовать как на структурные, так и на неструктурные вирусные белки посредством антител и клеточных иммунных ответов. Однако к недостаткам этих вакцин относятся проблемы безопасности и необходимость модификации вируса, что требует много времени, если проводится традиционными методами, и технически сложно, если используется обратная генетика. Только три живые аттенуированные вакцины в настоящее время находятся в стадии доклинической разработки, все из которых аттенуированы деоптимизацией кодонов, а одна вакцина разрабатывается в сотрудничестве между Codagenix и Институтом сыворотки Индии [78].

Рекомбинантные белковые вакцины. Рекомбинантные белковые вакцины подразделяют на 3 типа: в качестве антигена используют S белок; S1 белок; вирусоподобные частицы. Эти рекомбинантные белки могут экспрессироваться в различных системах экспрессии, включая клетки насекомых, млекопитающих, дрожжей и растений [79]; вполне вероятно, что вакцины на основе S1 белка также могут экспрессироваться в *Escherichia coli* [80]. Выход белка, а также тип и степень посттрансляционных модификаций варьируются в зависимости от системы экспрессии. В частности, для рекомбинантных вакцин на основе S белка такие модификации, как делеция многоосновного сайта расщепления, включение двух (или более) стабилизирующих мутаций [81, 82] и включение доменов тримеризации, а также способ очистки, могут влиять на силу иммунного ответа. Преимуществом этих вакцин является производство без контакта с живым вирусом. Кроме того, некоторые вакцины на основе рекомбинантных белков, такие как вакцина FluBlok от гриппа, были лицензированы, и в их производстве накоплен значительный опыт. Однако у таких вакцин есть и недостатки. S белок относительно сложно экспрессировать, и это, вероятно, повлияет на продуктивность и выход вакцины. S1 легче получить; однако это относительно небольшой белок, и, хотя сильные нейтрализующие антитела связываются с S1 белком, у него отсутствуют другие нейтрализующие эпитопы, которые присутствуют на S белке. Это может сделать вакцины на основе S1 белка более подверженными влиянию Ag дрейфа, чем вакцины, содержащие полноразмерный S белок. Многие рекомбинантные белковые вакцины-кандидаты против SARS-CoV-2 в настоящее время находятся в стадии доклинической разработки, а несколько вакцин на основе S и S1 белков прошли клинические испытания [79].

ДНК-вакцины. ДНК-вакцины основаны на плазмидной ДНК, которая может реплицироваться в больших количествах в бактериях. Обычно эти плазмиды содержат промоторы экспрессии и ген, кодирующий S белок, который экспрессируется у вакцинированного индивидуума. Большим преимуществом этих технологий является возможность крупномасштабного производства, используя *E. coli*, а также высокая стабильность плазмидной ДНК. Однако ДНК-вакцины часто демонстрируют низкую иммуногенность и должны вводиться с помощью векторов, чтобы сделать их эффективными [83].

РНК-вакцины. Наконец, РНК-вакцины появились относительно недавно. Подобно ДНК-вакцинам, генетическая информация об Ag доставляется вместо самого Ag, и затем Ag экспрессируется в клетках вакцинированного человека. Можно использовать мРНК (с модификациями), либо самореплицирующуюся РНК. Для мРНК требуются более высокие дозы, чем для самореплицирующейся РНК, которая амплифицируется

сама [84], РНК обычно доставляется через липидные наночастицы (LNP). РНК-вакцины показали большие перспективы в последние годы, и многие из них находятся в стадии разработки, например, против вируса Зика или цитомегаловируса. Были опубликованы многообещающие доклинические результаты для ряда кандидатов на РНК-вакцины. Преимущества технологии производства РНК-вакцин заключаются в том, что вакцину можно производить полностью *in vitro*. Однако технология является новой, и неясно, с какими проблемами можно столкнуться в плане крупномасштабного производства и стабильности при долгосрочном хранении (требуется замораживание). Кроме того, эти вакцины вводятся путем инъекции и поэтому вряд ли вызовут сильный иммунитет слизистой оболочки [81, 85].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе анализа литературных данных было установлено, что весь диапазон структурных белков SARS-CoV-2 обладает антигенными свойствами, но S_{ag}-последовательности обнаружены только у S белка. Поскольку S белок, после связывания ACE2 рецептора, определяет проникновение вируса в клетку, это свидетельствует о том, что S белок SARS-CoV-2 является основным фактором патогенеза COVID-19. Поэтому S белок является перспективным для разработки специфических пептидных лигандов *in silico*. Теоретически полученные лиганды можно использовать не только для создания биосорбентов, но и в качестве ингибиторов SARS-CoV-2.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ярилин А.А. / Yarilin A.A. Адаптивный иммунитет / Adaptivnyj immunitet [Adaptive immunity] // Иммунология. Учебник / *Immunologiya. Uchebnik* [Immunology. Textbook]. – 1999. – Гл. 3. – С. 430–512.
2. Lanzavecchia A. Antigen-specific interaction between T and B cells // *Nature*. – 1985. – Vol. 314, no. 11. – P. 537–539.
3. Scaglioni V., Soriano E.R. Are superantigens the cause of cytokine storm and viral sepsis in severe COVID-19? Observations and hypothesis // *Scand. J. Immunol.* – 2020. – Vol. 92, no. 6. – P. 1–5.
4. Gorbalenya A.E., et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2 // *Nat. Microbiol.* – 2020. – Vol. 5, no. 4. – P. 536–544.
5. Encyclopaedia Britannica, Inc. – URL: <https://www.britannica.com> (date of viewing: 12.01.2021).
6. Bosch B.J., et al. The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex // *J. Virol.* – 2003. – Vol. 77, no. 16. – P. 8801–8811.
7. Watanabe Y., et al. Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike // *Science*. – 2020. – Vol. 369, no. 6501. – P. 330–333.

8. Xia S., et al. Fusion mechanism of 2019-nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein // *Cell Mol. Immunol.* – 2020. – Vol. 17, no. 7. – P. 765–767.
9. Wrapp D., et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation // *Science*. – 2020. – Vol. 367, no. 6483. – P. 1260–1263.
10. Walls A.C., et al. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein // *Cell*. – 2020. – Vol. 181, no. 2. – P. 281–292.
11. Bertram S., et al. TMPRSS2 activates the human coronavirus 229E for cathepsin-independent host cell entry and is expressed in viral target cells in the respiratory epithelium // *J. Virol.* – 2013. – Vol. 87, no. 11. – P. 6150–6160.
12. Hoffmann M., et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor // *Cell*. – 2020. – Vol. 181, no. 2. – P. 271–280.
13. Du L., et al. Cleavage of spike protein of SARS coronavirus by protease factor Xa is associated with viral infectivity // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2007. – Vol. 359, no. 1. – P. 174–179.
14. Nieto-Torres J.L., et al. Subcellular location and topology of severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein // *Virology*. – 2011. – Vol. 415, no. 2. – P. 69–82.
15. Liao Y., et al. Biochemical and functional characterization of the membrane association and membrane permeabilizing activity of the severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein // *Virology*. – 2006. – Vol. 349, no. 2. – P. 264–275.
16. Tseng Y.-T., et al. SARS-CoV envelope protein palmitoylation or nucleocapsid association is not required for promoting virus-like particle production // *J. Biomed. Sci.* – 2014. – Vol. 21, no. 34. – P. 21–34.
17. Lopez L.A., et al. Importance of conserved cysteine residues in the coronavirus envelope protein // *J. Virol.* – 2008. – Vol. 82, no. 6. – P. 3000–3010.
18. Schoeman, D. Coronavirus envelope protein: current knowledge // *Virology*. – 2019. – Vol. 16, no. 1. – P. 69.
19. Hung, A.Y., Sheng M. PDZ domains: structural modules for protein complex assembly // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277, no. 8. – P. 5699–5702.
20. Javier, R.T., Rice A.P. Emerging theme: cellular PDZ proteins as common targets of pathogenic viruses // *J. Virol.* – 2011. – Vol. 85, no. 22. – P. 11544–11556.
21. Maio F. De, et al. Enhanced binding of SARS-CoV-2 Envelope protein to tight junction-associated PALSL1 could play a key role in COVID-19 pathogenesis // *Microbes and Infection*. – 2020. – Vol. 22, no. 10. – P. 592–597.
22. Alarm I., et al. Functional pangenome analysis suggests inhibition of the protein E as a readily available therapy for COVID-2019 // *BioRxiv* [Preprint]. – 2020.
23. Ahmed S.F., et al. Preliminary identification of potential vaccine targets for the COVID-19 coronavirus (SARS-CoV-2) based on SARS-CoV immunological studies // *Viruses*. – 2020. – Vol. 12, no. 3. – P. 254.
24. Ariel L. A., Blake J. L., Brenda G. H. A conserved domain in the coronavirus membrane protein tail is important for virus assembly // *J. Virol.* – 2010. – Vol. 84, no. 21. – P. 11418–11428.
25. Thomas S. The structure of the membrane protein of SARS-CoV-2 resembles the sugar transporter SemiSWEET // *Pathog. Immun.* – 2020. – Vol. 5, no. 1. – P. 342–363.

26. Chang C.-K., et al. Modular organization of SARS coronavirus nucleocapsid protein // *J. Biomed. Sci.* – 2006. – Vol. 13, no. 1. – P. 59–72.
27. Kumar A., et al. Characterization of nucleocapsid (N) protein from novel coronavirus SARS-CoV-2 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2020. – Vol. 527, no. 3. – P. 618–623.
28. Macnaughton M., et al. Ribonucleo protein-like structures from coronavirus particles // *J. Gen. Virol.* – 1978. – Vol. 39, no. 3. – P. 545–549.
29. Kuo L., Koetzner C.A., Masters P.S. A key role for the carboxy-terminal tail of the murine coronavirus nucleocapsid protein in coordination of genome packaging // *Virology.* – 2016. – Vol. 494. – P. 100–107.
30. Grunewald M.E., et al. The coronavirus nucleocapsid protein is ADP-ribosylated // *Virology.* – 2018. – Vol. 517. – P. 62–68.
31. Chen Y., et al. The phosphorylation of the N protein could affect PRRSV virulence in vivo // *Vet. Microbiol.* – 2019. – Vol. 231. – P. 226–231.
32. Hu Y., et al. The severe acute respiratory syndrome coronavirus nucleocapsid inhibits type I interferon production by interfering with TRIM25-mediated RIG-I ubiquitination // *J. Virol.* – 2017. – Vol. 91, no. 8. – P. 1–12.
33. Cong Y., et al. Nucleocapsid protein recruitment to replication-transcription complexes plays a crucial role in coronavirus life cycle // *J. Virol.* – 2020. – Vol. 94, no. 4. – P. 1–21.
34. Wurm T., et al. Localization to the nucleolus is a common feature of coronavirus nucleoproteins, and the protein may disrupt host cell division // *J. Virol.* – 2001. – Vol. 75, no. 19. – P. 9345–9356.
35. Kang S., et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein RNA binding domain reveals potential unique drug targeting sites // *Acta Pharm. Sin. B.* – 2020. – Vol. 10, no. 7. – P. 1228–1238.
36. Ahmed-Belkacem R., et al. Synthesis of adenine dinucleosides SAM analogs as specific inhibitors of SARS-CoV nsp14 RNA cap guanine-N7-methyltransferase // *Eur. J. Med. Chem.* – 2020. – Vol. 201. – P. 1–44.
37. Fu J., et al. Identification of a novel linear B-cell epitope on the nucleocapsid protein of porcine deltacoronavirus // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, no. 2. – P. 648.
38. Ray M., et al. Druggability for COVID-19 *in silico* discovery of Potential Drug Compounds against Nucleocapsid (N) Protein of SARSCoV-2 // *Genomics Inform.* – 2020. – Vol. 18, no. 4. – P. 1–13.
39. Fiscus S.A., Teramoto Y.A. Antigenic comparison of feline coronavirus isolates: evidence for markedly different peplomer glycoproteins // *J. Virol.* – 1987. – Vol. 61, no. 8. – P. 2607–2613.
40. Wesseling J.G., et al. Mouse hepatitis virus spike and nucleocapsid proteins expressed by adenovirus vectors protect mice against a lethal infection // *J. Gen. Virol.* – 1993. – Vol. 74, no. 10. – P. 2061–2069.
41. Rottier P.J.M. The coronavirus membrane glycoprotein // *The Coronaviridae / Stuart G. Siddell (ed.).* – New York, Plenum Press, 1995. – P. 115–139.
42. Charley B., Laude H. Induction of alpha interferon by transmissible gastroenteritis coronavirus: role of transmembrane glycoprotein E1 // *J. Virol.* – 1988. – Vol. 62, no. 1. – P. 8–11.
43. Wang J., et al. Immunoreactive synthetic peptides from the structural proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus // *Clin. Chem.* – 2003. – Vol. 49, no. 12. – P. 1989–1996.
44. Han X., et al. The expression of SARS-CoV M gene in *P. Pastoris* and the diagnostic utility of the expression product // *J. Virol. Methods.* – 2004. – Vol. 122, no. 1. – P. 105–111.
45. Casal J. I., et al. Identification of a common antigenic site in the nucleocapsid protein of European and North American isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus // *Adv. Exp. Med. Biol.* – Vol. 440. – P. 469–477.
46. Rodriguez M.J., et al. Epitope mapping of the nucleocapsid protein of European and North American isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus // *J. Gen. Virol.* – 1997. – Vol. 78, no. 9. – P. 2269–2278.
47. Wootton S., et al. Antigenic importance of the carboxy-terminal beta-strand of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus nucleocapsid protein // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* – 2001. – Vol. 8, no. 3. – P. 598–603.
48. Tilocca B., et al. Immunoinformatic analysis of the SARS-CoV-2 envelope protein as a strategy to assess cross-protection against COVID-19 // *Microbes Infect.* – 2020. – Vol. 22, no. 4–5. – P. 182–187.
49. Zhou Y., Jiang S., Du L. Prospects for a MERS-CoV spike vaccine // *Expert. Rev. Vaccines.* – 2018. – Vol. 17, no. 8. – P. 677–686.
50. Du L., et al. Intranasal vaccination of recombinant adeno-associated virus encoding receptor-binding domain of severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) spike protein induces strong mucosal immune responses and provides long-term protection against SARS-CoV infection // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 180, no. 2. – P. 948–956.
51. Bhattacharya, M. Development of epitope-based peptide vaccine against novel coronavirus 2019 (SARS-COV-2): Immunoinformatics approach // *J. Med. Virol.* – 2020. – Vol. 92, no. 6. – P. 618–631.
52. Ahmed S.F., Quadeer A.A., McKay M.R. Preliminary identification of potential vaccine targets for the COVID-19 coronavirus (SARS-CoV-2) based on SARSCoV immunological studies // *Viruses.* – 2020. – Vol. 12, no. 3. – P. 254.
53. Grifoni A., et al. A sequence homology and bioinformatic approach can predict candidate targets for immune responses to SARS-CoV-2 // *Cell Host Microbe.* – 2020. – Vol. 27, no. 4. – P. 671–680.
54. Tian X., et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody // *Emerg. Microbes Infect.* – 2020. – Vol. 9, no. 1. – P. 382–385.
55. Zhou P., et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin // *Nature.* – 2020. – Vol. 579, no. 7798. – P. 270–273.
56. Walls A.C., et al. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein // *Cell.* – 2020. – Vol. 181, no. 2. – P. 281–292.
57. Wrapp D., et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation // *Science.* – 2020. – Vol. 367, no. 6483. – P. 1260–1263.
58. Changeux J.-P., et al. A nicotinic hypothesis for Covid-19 with preventive and therapeutic implications // *C. R. Biol.* – 2020. – Vol. 343, no. 1. – P. 33–39.

59. Kozakov D., et al. The ClusPro web server for protein-protein docking // *Nat. Protoc.* – 2017. – Vol. 12, no. 2. – P. 255–278.
60. Li Y., et al. Structure-based preliminary analysis of immunity and virulence of SARS coronavirus // *Viral Immunol.* – 2004. – Vol. 17, no. 4. – P. 528–534.
61. Mateus J., et al. Selective and cross-reactive SARS-CoV-2 T cell epitopes in unexposed humans // *Science.* – 2020. – Vol. 370, no. 6512. – P. 89–94.
62. Arad G., et al. Binding of superantigen toxins into the CD28 homodimer interface is essential for induction of cytokine genes that mediate lethal shock // *PLoS Biol.* – 2015. – Vol. 13, no. 8. – P. 1–5.
63. Zhan S.H., Deverman B.E., Chan Y.A. SARS-CoV-2 is well adapted for humans. What does this mean for re-emergence? // *bioRxiv.* – 2020.
64. Schultheiß C., et al. Next-Generation sequencing of T and B cell receptor repertoires from COVID-19 patients showed signatures associated with severity of disease // *Immunity.* – 2020. – Vol. 53, no. 2. – P. 442–455.
65. Coutard B., et al. The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade // *Antivir. Res.* – 2020. – Vol. 176. – P. 1–5.
66. Sun P., et al. Understanding of COVID-19 based on current evidence // *J. Med. Virol.* – 2020. – Vol. 92, no. 6. – P. 548–551.
67. Hackbart, M., Deng X., Baker S.C., et al. Coronavirus endoribonuclease targets viral polyuridine sequences to evade activating host sensors // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2020. – Vol. 117, no. 14. – P. 8094–8103.
68. Wedrowska E., et al. Coronaviruses fusion with the membrane and entry to the host cell // *Ann. Agri. Environ. Med.* – 2020. – Vol. 27, no. 2. – P. 175–183.
69. Algarroba G.N., et al. Visualization of SARSCoV-2 virus invading the human placenta using electron microscopy // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2020. – Vol. 223, no. 2. – P. 275–278.
70. Hoffmann M., et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor // *Cell.* – 2020. – Vol. 181, no. 2. – P. 271–280.
71. Sing Fung, Ying Liao, Ding Xiang. Liu Regulation of stress responses and translational control by coronavirus // *Viruses.* – 2016. – Vol. 8, no. 7. – P. 184.
72. Perlman S., Netland, J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2009. – Vol. 7, no. 6. – P. 439–450.
73. Hao W., et al. Crystal structure of Middle East respiratory syndrome coronavirus helicase // *PLoS Pathog.* – 2017. – Vol. 13, no. 6. – P. 1–19.
74. Draft Landscape of COVID-19 Candidate Vaccines. – URL: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines> (date of viewing 26.09.2020).
75. Gao Q., et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2 // *Science.* – 2020. – Vol. 369, no. 6499. – P. 77–81.
76. Cui J., Li F., Shi Z.L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2019. – Vol. 17, no. 3. – P. 181–192.
77. Xia S., et al. Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBIBP-CorV: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 trial // *Lancet Infect. Dis.* – 2020. – Vol. 21, no. 1. – P. 39–51.
78. Broadbent A.J., et al. Evaluation of the attenuation, immunogenicity, and efficacy of a live virus vaccine generated by codon-pair bias de-optimization of the 2009 pandemic H1N1 influenza virus, in ferrets // *Vaccine.* – 2016. – Vol. 34, no. 4. – P. 563–570.
79. Amanat F., et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans // *Nat. Med.* – 2020. – Vol. 26, no. 7. – P. 1033–1036.
80. Chen J., et al. Receptor-binding domain of SARS-CoV spike protein: soluble expression in *E. coli*, purification and functional characterization // *World J. Gastroenterol.* – 2005. – Vol. 11, No. 39. – P. 6159–6164.
81. Corbett K.S., et al. SARS-CoV-2 mRNA vaccine design enabled by prototype pathogen preparedness // *Nature.* – 2020. – Vol. 586, no. 7830. – P. 567–571.
82. Hsieh C.L., et al. Structure-based design of prefusion-stabilized SARS-CoV-2 spikes // *Science.* – 2020. – Vol. 369, no. 7830. – P. 1501–1505.
83. Yu J., et al. DNA vaccine protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques // *Science.* – 2020. – Vol. 369, no. 6505. – P. 806–811.
84. Vogel A.B., et al. Self-amplifying RNA vaccines give equivalent protection against influenza to mRNA vaccines but at much lower doses // *Mol. Ther.* – 2018. – Vol. 26, no. 2. – P. 446–455.
85. Corbett K.S., et al. Evaluation of the mRNA-1273 vaccine against SARS-CoV-2 in nonhuman primates // *N. Engl. J. Med.* – 2020. – Vol. 383, no. 16. – P. 446–455.

Контактная информация

Макаревич Денис Александрович – к. б. н., ведущий научный сотрудник, государственное научное учреждение «Институт биоорганической химии» Национальной академии наук Беларуси, г. Минск, e-mail: demkarevich@yandex.ru