

Обзор
УДК: 616.988:577.112:616-092
<https://doi.org/10.21886/2219-8075-2022-13-4-45-52>

Структурные белки SARS-CoV-2

О. В. Дуванова, О. С. Чемисова, А. К. Носков

Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону, Россия

Автор, ответственный за переписку: Ольга Викторовна Дуванова, olga_duvanova@mail.ru

Аннотация. В обзоре изложена основная информация, имеющаяся в литературе, о структурных белках SARS-CoV-2 (S;N;E;M). Обсуждены вопросы, затрагивающие значимость этих белков в патогенезе, адаптации и жизненном цикле вируса. Структурные полифункциональные белки являются биомаркерами повышенной контагиозности и патогенности SARS-CoV-2, формируя его патогенетический и адаптационный потенциал. Полифункциональность структурных белков нового коронавируса позволяет ему быстро отвечать на флуктуации условий существования через использование альтернативных подходов для реализации механизмов, лежащих в основе его патогенетического потенциала. В настоящее время активно изучается структура, свойства, функции и роль структурных белков SARS-CoV-2, что является актуальным вектором исследования, позволяющим расшифровать механизмы, лежащие в основе его высокой контагиозности, патогенности, адаптации, а в перспективе оценить возможные пути образования его новых вариантов и разработать стратегию и тактику экстренного реагирования при появлении новых штаммов. Отмечена перспективность дальнейшего изучения структуры и свойств структурных белков для решения приоритетных задач настоящего времени по созданию современных отечественных вакцин и эффективных методов диагностики, лечения и профилактики нового коронавируса. Проанализированы литературные источники из различных баз данных электронных библиотек, таких как PubMed, e-library, КиберЛенинка и др.

Ключевые слова: полифункциональные белки, SARS-CoV-2, биомаркеры, контагиозность, патогенность

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Дуванова О. В., Чемисова О. С., Носков А. К. Структурные белки SARS-CoV-2. *Медицинский вестник Юга России*. 2022;13(4):45-52. DOI 10.21886/2219-8075-2022-13-4-45-52

Structural proteins of SARS-CoV-2

O. V. Duvanova, O. S. Chemisova, A. K. Noskov

Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia

Corresponding author: Olga Viktorovna Duvanova, olga_duvanova@mail.ru

Abstract. The review presents the basic information available in the publications on the structural proteins of SARS-CoV-2 (S;N;E;M). Issues affecting the importance of these proteins in the pathogenesis, adaptation, and life cycle of the virus are discussed. Structural multifunctional proteins are biomarkers of increased contagiousness and pathogenicity of SARS-CoV-2, forming its pathogenetic and adaptive potential. The multifunctionality of the structural proteins of the new coronavirus allows it to respond quickly to fluctuations in the conditions of existence through the use of alternative approaches to implement the mechanisms underlying its pathogenetic potential. Currently, the structure, properties, functions, and role of structural proteins of SARS-CoV-2 are being actively studied, which is a relevant vector of research that allows us to decipher the mechanisms underlying its high contagiousness, pathogenicity, adaptation. In the future, we will be able to evaluate possible ways of forming its new variants and develop a strategy and tactics of emergency response when new strains appear.

The prospects of further study of the structure and properties of structural proteins for solving the priority tasks of the present time on the creation of modern domestic vaccines and effective methods of diagnosis, treatment and prevention of a new coronavirus are noted.

The authors analyzed scientific publications from various databases of electronic libraries, such as PubMed, e-library, CyberLeninka, etc.

Keywords: polyfunctional proteins, SARS-CoV-2, biomarkers, contagious, pathogenicity

Financing. The study did not have sponsorship.

For citation: Duvanova O. V., Chemisova O. S., Noskov A. K. Structural proteins of SARS-CoV-2. *Medical Herald of the South of Russia*. 2022;13(4):45-52. DOI 10.21886/2219-8075-2022-13-4-45-52

Введение

Подобно появлению вируса гриппа А (H1N1) «испанка», вызвавшего пандемию в XX в. и унёсшего более 20 млн жизней, новый этиологический агент SARS-CoV-2

явился причиной пандемии XXI в., охватившей все континенты. Высокая контагиозность возбудителя, его сходство с SARS-CoV, а также быстрое распространение во многих странах мира объясняют повышенное

внимание исследователей к нему. Представители семейства *Coronaviridae* обладают широким набором признаков, обеспечивающих их патогенность, а изучение взаимодействия вируса с макроорганизмом неизбежно включает поиск и исследование у вирусного агента факторов и механизмов, лежащих в основе их высокого патогенетического потенциала. В последние годы уточнена биологическая функция структурных белков у многих коронавирусов, установлена их роль в патогенезе. Новый коронавирус представляет собой уникальную структуру, определяемую в первую очередь его белками, обладающими антигенными, иммуногенными свойствами, участвующими в распознавании клеток хозяина и взаимодействии с ними, определяющими тропизм вируса, являющимися триггерами, запускающими патологические процессы в организме. В фокусе внимания ученых всего мира не случайно находятся структурные белки SARS-CoV-2, детальное изучение которых поможет привести к решению многих стратегически приоритетных задач, стоящих перед Всемирной организацией здравоохранения, Роспотребнадзором и Министерством здравоохранения Российской Федерации, связанных с созданием современных отечественных вакцин и препаратов для диагностики, лечения и профилактики коронавируса.

Структурный белок S SARS-CoV-2

Новый вирус проявляет большую степень пластичности в отношении реализуемых им путей проникновения в клетки хозяина благодаря структурным (S, N, М, Е) белкам. Поверхностный спайковый (spike) трансмембранный гликопротеин S (replomer protein) с молекулярной массой 142 kDa и изоэлектрической точкой pI 6.24, кодируемый геном ORF2, является триммерным белком I класса. Интерес ученых всего мира к этому уникальному белку в настоящее время неслучаен и связан в первую очередь с тем, что spike является главным «инструментом» вируса, запускающим каскад событий, приводящих к обеспечению его высокой контагиозности, патогенности и выживаемости, влияя на течение и исход вирусной инфекции. Как зарубежными коллегами, так и российскими специалистами за короткий промежуток времени проведены фундаментальные исследования, ориентированные на изучение структуры, свойств и функций этого белка с использованием различных современных методических подходов [1–7].

S-белок состоит из нескольких функциональных доменов (эктодомена, трансмембранного и короткого цитоплазматического), а эктодомен в свою очередь — из двух функционально различных субъединиц (рецептор-связывающей субъединицы S1, ответственной за связывание вируса с рецептором клетки хозяина, и мембраносвязанной субъединицы S2, участвующей в слиянии вирусной и клеточной мембран). В нативном состоянии белок S существует как неактивный предшественник. При вирусной инфекции протеазы клеток-мишеней активируют белок S, изменяя его конформационное состояние и расщепляя на субъединицы S1 и S2, а трансмембранная сериновая протеаза типа II-TMPRSS2 используется в качестве праймера для спайкового белка, когда он связывается с рецептором. Справедливо было отмечено [8], что спайковый белок SARS-CoV-2

выполняет существенную роль в патогенезе вирусной инфекции по сравнению с SARS-CoV, используя разные клеточные рецепторы и протеазы для быстрого распространения. Помимо TMPRSS spike SARS-CoV-2 может протеолитически активироваться множеством других клеточных протеаз, включая катепсин В и L (эндосомальные цистеиновые протеазы), а также фурин, эластазу, фактор X и трипсин, способные к подобному «прайминговому» протеолизу, запускающему процесс входа вируса в клетки хозяина. Показано, что SARS-CoV-2 так же, как и SARS-CoV, использует рецептор ACE2 и, кроме того, содержит сайт расщепления фурина (Arg-Arg-Ala-Arg) между S1 и S2 субъединицами спайка, не обнаруженного в SARS-CoV, что фактически расширяет возможности трансмиссии SARS-CoV-2, учитывая, что фуриновая протеаза активно экспрессируется в дыхательных путях. Протеолиз является «ключом» к проникновению коронавируса, в связи с чем одним из подходов в стратегии борьбы с SARS-CoV-2 может быть поиск и создание его ингибиторов и этот вектор требует дальнейшего изучения. Специфическое взаимодействие между S1 и рецептором вызывает конформационное изменение в S2, приводящее к слиянию вирусной оболочки с клеточной мембраной и проникновению нуклеокапсида в цитоплазму клетки хозяина. Взаимодействие с рецептором является определяющим фактором тканевого тропизма коронавируса к клеткам-мишеням человека. Ранее выявлено, что некоторые коронавирусы используют ферменты клеточной мембраны в качестве рецепторов. Так, например, HCoV-229E использует аминопептидазу N, MERS-CoV-дипептидилпептидазу 4, HCoV-OC43, HCoV-HKU1 в качестве рецептора используют 9-О-ацетилированную сиаловую кислоту, а вирусы HCoV-NL63, SARS-CoV и SARS-COV-2-ACE2.

Рецептор-связывающая субъединица вируса SARS-COV-2 содержит RBD (рецептор связывающий домен) — крайне важный для вируса домен, обеспечивающий инфицирование, распознающий в качестве рецептора ACE2, фермент, являющийся карбоксипептидазой и кодируемый геном ACE2, расположенным на 22 хромосоме, подобно вирусу SARS-CoV, поражая одни и те же клетки [9]: эпителиальные клетки дыхательных путей, альвеол, эндотелиальные клетки сосудов, вызывая серьезные повреждения лёгких. Интересно отметить, что свободная энергия RBD у SARS-COV-2 ниже, чем у SARS-COV, как и его энергия сольватации, в результате чего взаимодействие SARS-COV-2 с ACE2 осуществляется гораздо легче и может быть следствием эволюции вируса или адаптации к организму хозяина. Кроме этого, RBD нового коронавируса более гибкий в отличие от аналогичного домена SARS-COV, для связи с ACE2 он должен преодолеть большую энтропию, исходя из чего комплекс RBD SARS-COV-2 становится нестабильным, что позволяет предположить вероятность снижения темпов роста пандемии при повышении температуры окружающей среды [10]. SARS-COV-2 может взаимодействовать кроме ACE2 с CD26, циклофилинами и эзрином [6].

Каждый протомер S-гликопротеина содержит 22 секвона с N-гликанами. На поверхности триммерного гликопротеина экспонировано 66 N-гликанов [11], участвующих в его конформационных изменениях.

Вирусное гликозилирование играет существенную роль в вирусной патофизиологии, опосредованно влияя на структуру и функции белков, а также формирование вирусного тропизма. Сайты гликозилирования находятся под селективным давлением, поскольку они способствуют уклонению от иммунной системы человека за счёт молекулярной мимикрии гликанов, защищая определённые эпитопы от нейтрализации антителами. Роль гликанов для нового вируса очевидна, хотя и для других коронавирусов продемонстрировано их участие в акклюзивировании (маскировке) эпитопов иммуногенных белков. В SARS-COV-2 обнаружено несколько уникальных сайтов гликозилирования по сравнению с гликопротеином S SARS-COV, что предполагает различия в экранирующей гликановой маскировке шиповых белков от защиты иммунной системы хозяина [6], способствуя проникновению вируса в клетки. Найдённые ранее особенности в структуре нейраминидазы (антигена и фактора патогенности) РНК-содержащего вируса гриппа WSN, выразившиеся в отсутствии сайта гликозилирования в положении 146 и наличии лизина на С-конце молекулы, по мнению Goto H., Kawaoka Y. (1998) и Webster R. G. (1999), явились одной из причин необычной патогенности пандемического вируса гриппа («испанки»).

Олигосахариды могут также влиять на праймирование и модуляцию доступа к протеазам хозяина [1,8] и распознавание антител. Гликаны также играют активную роль в проникновении вируса в клетки, стабилизируя конфигурацию комплекса RBD SARS-COV-2.

Аминокислотная последовательность белка S SARS-CoV-2 оказалась на 76% идентичной аминокислотной последовательности белка SARS-CoV и на 93% и 97% — BatCoV RaTG13 и Pangolin-CoV соответственно, что позволило предположить возможность spike-протеина взаимодействовать с аналогичными белками-мишенями. Однако, несмотря на высокую идентичность аминокислотных последовательностей, антигенность и эпитопы спайковых гликопротеинов коронавирусов различны, даже если они используют один и тот же белок-рецептор.

Сравнительный анализ аминокислотного состава структурных белков коронавирусов SARS-CoV-2 и SARS-CoV, проведённый в 2020 г. Харченко Е. П. [7] выявил в субъединице S1 спайкового белка нового вируса несколько крупных вставок, значительные изменения аминокислотного состава с преобладанием положительно заряженных аминокислот, что характерно для поверхностных белков вирусов, обладающих высокой контагиозностью (вирус гриппа, кори, краснухи, гепатитов А, Е и др.). Это позволило считать положительную полярность поверхностных белков вирусов молекулярным маркером их высокой контагиозности в связи с тем, что в S белке возросла доля основных аминокислот, таких как аргинин, лизин и гистидин, при снижении числа дикарбоновых аминокислот. Выявленное большее содержание лизина и аргинина, характерное для S-белка нового коронавируса, по сравнению с аналогичным белком SARS-CoV дополнительно создает сайты для действия клеточных трипсиновых протеаз, необходимых для его активации

и наиболее распространённых в органах и тканях, расширяя тропность и, следовательно, облегчая и ускоряя трансмиссивность вируса, что обуславливает его высокую контагиозность. Для субъединицы S2 показана консервативность, а количественное соотношение основных и кислых аминокислот оказалось близким к S2 субъединице SARS-CoV.

Результаты компьютерного анализа [12] выявили большое количество последовательностей в S белке SARS-CoV-2, гомологичных разным белкам человека, что может обуславливать «мозаичную» симптоматику заболевания с часто затяжным течением, системным поражением организма и цитокиновым штормом. Обнаружено также, что все структурные белки SARS-CoV-2 отличались высоким содержанием последовательностей, гомологичных белкам гемостаза и их высвобождение протеолизом не без оснований можно рассматривать как триггер повышенного тромбообразования при COVID-19. Эти данные ещё раз подчеркивают уникальность нового коронавируса, и, безусловно, они должны учитываться при создании современных вакцин и прогнозировании возможных рисков, связанных с их использованием.

В последнее время в разных странах отмечен рост числа вариантов SARS-CoV-2 с мутациями. Повышенное внимание к этой проблеме связано с опасениями повышения контагиозности вируса, а также снижения эффективности вакцин против вариантов с мутациями в рецептор-связывающем домене RBD белка spike. В общей сложности обнаружено более 12 тыс. мутаций в геноме SARS-CoV-2, большинство из которых являются однонуклеотидными полиморфизмами. Данные секвенирования показали, что SARS-CoV-2 накапливает в своем геноме две одиночных нуклеотидных мутации в месяц [13]. Еще в мае 2020 г. индийскими учёными обнаружена точечная мутация в рецептор-связывающем домене в положении 407. В этом сайте аргинин (положительно заряженная аминокислота) был заменён изолейцином (гидрофобной, разветвлённой аминокислотой). Эта мутация, изменяя вторичную структуру белка, потенциально может влиять на связывание вируса с рецептором [14]. Кроме того, в США циркулировал SARS-CoV-2 с мутацией D614G в S-белке, которая, как предполагается, привела к большей контагиозности вируса и повлияла на характер пандемии в этой стране [15]. Мутация D614G (23403A>G), расположенная в проксимальном соединении S1-S2, приводит к конформационным изменениям в структуре S-белка. Отрицательно заряженные аминокислоты образуют ионные и водородные связи через свои боковые цепи и стабилизируют белки, поэтому замена отрицательно заряженного аспартата неполярным глицином может вызвать разворачивание петли S-белка, делая сайт расщепления фурина (664-RRAR-667) более гибким, тем самым усиливая проникновение вируса [16–17]. В настоящее время мутация D614G встречается почти в каждой последовательности во всём мире [18].

В декабре 2020 г. были выявлены новые варианты SARS-CoV-2 в Великобритании (линия B.1.1.7) и Южной Африке (линия B.1.351), а в феврале 2021 г. — бразильский вариант (линия B.1.1.248). Новый вариант B.1.1.7 содержит 17 мутаций в геноме, многие из которых уже были обнаружены в других штаммах вируса по всему

миру. В спайк-белке были обнаружены вариант-специфические несинонимичные мутации и делеции, включая делецию 69–70, делецию 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H. Мутация N501Y приводит к замене в 501-й аминокислотной позиции спайкового белка аминокислоты аспарагин на тирозин находится внутри RBD и может увеличивать сродство к ACE2. Было обнаружено, что мутация N501Y связана с повышенной вирулентностью на модели мышей. С повышенной вирулентностью исследователи связывают также мутацию P681H, расположенную внутри RBD, а делецию спайк-белка в положении 69–70 связывают с уклонением от иммунного ответа [19].

Новый штамм 501.V2 в Южной Африке несёт три мутации в RBD: N501Y, K417N, E484K, из которых последние две снижают активность связывания антител с вирусом. Бразильская линия имеет 12 мутаций, в том числе N501Y, E484K и K417N [20]. Мутации E484K и K417N также приводят к конформационным изменениям в RBD S-белка и, как следствие, к снижению активности связывания антител с вирусом и изменению сродства к ACE2 [21]. Начиная с весны 2021 г. наблюдается интенсивное распространение линий B.1. 617.1 и B. 1.617.2 (впервые идентифицированы в Индии), несущих мутацию L452R. Появление мутации L452R с заменой гидрофобного остатка лейцина в положении 452 на полярный, высокогидрофильный остаток аргинина настораживает многих специалистов.

За последние годы были обнаружены многочисленные варианты SARS-COV-2 (альфа, бета, дельта и гамма и др.), каждый из которых содержал характерный набор мутаций. Вариант Омикрон (B.1.1.529), впервые обнаруженный в южной части Африки в ноябре 2021 г., быстро распространился в более чем 60 странах, включая Россию. В его спайковом белке обнаружено не менее 34 мутаций, в том числе по меньшей мере 15 в рецептор-связывающем домене (RBD) [22–23]. Выявлены мутации в RBD доменах G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493R, G496S, Q498R, N501Y и Y505H. Значение некоторых из них к настоящему времени определено: такие мутации, как K417N, S447N, E484A и Q493R, связаны с возможностью уклонения от иммунного ответа, а N501Y-мутация в рецептор-связывающем домене (RBD) способствует высокой скорости передачи SARS-CoV-2 [24] и встречается у нескольких вариантов, таких как B.1.1.7, B.1.351 и P.1. Однако другие мутации у варианта Omicron в RBD и других доменах требуют проведения дополнительных исследований. Повышение контагиозности и/или способности избежать иммунного ответа у штаммов вируса, связанное с мутациями в спайк-белке, требует углублённых исследований.

В настоящее время учёными всего мира белок Spike рассматривается как многообещающий антиген для разработки диагностических, лечебных и профилактических средств. Структурный полифункциональный S-белок играет существенную роль в поддержании жизненного цикла вируса (life style), его адаптации в различных условиях существования, являясь биомаркером высокой контагиозности и патогенности SARS-COV-2.

Структурный белок N SARS-CoV-2

Нуклеокапсидный белок N, кодируемый геном ORF9, является одним из наиболее важных структурных белков SARS-CoV-2, состоящим из 419 аминокислотных остатков с молекулярной массой около 46 kDa и pI 10.09.

Аминокислотная последовательность белка N SARS-CoV-2 оказалась на 90.5% идентичной аминокислотной последовательности белка SARS-CoV. Независимые исследования, проведённые несколькими лабораториями разных стран при изучении этого белка, позволили утверждать, что он является ключевым регуляторным белком-шапероном нового вируса. Он является капсидным белком, основная его функция заключается в упаковке (сборке) геномной РНК. Ранее у SARS-CoV была выявлена способность N протеина, а также белков ORF3 и ORF6 подавлять выработку интерферонов I типа и модулировать клеточный аппарат хозяина *in vitro*, влияя на жизненный цикл клетки хозяина [25]. SARS-CoV-2 в «гонке вооружений с иммунной системой человека» использует более совершенную стратегию уклонения от ответа иммунной системы, влияя на передачу сигналов для выработки интерферона (IFN-I) во время вирусной инфекции. Кроме того, повышенная экспрессия белка N может усиливать репликацию вируса [26]. Обнаружено ранее, что нуклеокапсидный белок SARS-CoV подвергается различным посттрансляционным модификациям за счёт ацетилирования и фосфорилирования, являясь субстратом для множества клеточных киназ. Кроме того, было доказано, что он может фосфорилироваться митоген-активированной протеинкиназой (MAP-киназой), циклин-зависимой киназой (CDK), гликоген-синтетазной киназой 3 (GSK3) и казеинкиназой 2 (CK2), а кроме этого способен ингибировать активность комплекса циклин-циклин-зависимая киназа (циклин-CDK). Сообщалось, что белок SARS-CoV N может взаимодействовать с многочисленными белками клетки хозяина, такими как фосфопротеин B23, хемокин Cxcl6, пируваткиназа и др. [27]. Актуальным в настоящее время видится сравнение различных взаимодействий белков клеток хозяина с белком N коронавируса, которое может предоставить ценную информацию о специфичности и эволюции взаимодействий между ними, что поможет сформировать представление о разработке противовирусных препаратов против коронавируса SARS-CoV-2, нацеленных на взаимодействие между белками клетки хозяина и белком N коронавируса. Белок N, как E- и M-белки, характеризуется консервативностью. Консервативность первичных структур этих белков не исключает изменение их конформаций, задаваемых вторичной и третичной структурами, так как для каждого из этих белков характерно множество синонимических замен в их мРНК. Вариации синонимических замен в кодонах способны изменять котрансляционное сворачивание белков в клетке, а у вирусов соответственно изменять свойства вирионов. Нуклеопротеины, как и поверхностные белки вирионов, являются определяющими в сохранении вируса в окружающей среде и поддержании их контагиозности. Обнаружено, что заметные изменения произошли в N-белке SARS-CoV-2. Он стал короче на 3 аминокислоты по сравнению с аналогичным белком SARS-CoV. Изменились количественные соотношения между гидрофобными аминокислотами. Несмотря на то,

что количественные соотношения дикарбоновых аминокислот изменились, это не повлияло на общее количество отрицательных групп в N-белке. При сохранности позиций и общего количества положительно заряженных аминокислот (аргинина, лизина и гистидина) изменения в их соотношении привели к снижению положительного заряда в N-белке, следствием чего может быть ослабление его связи с РНК и ускорение процессов репликации вирусов. Предполагается, что этот сдвиг можно рассматривать как возможный маркер усиления контагиозности и патогенности SARS-CoV-2 при более низкой температуре окружающей среды, что наблюдается и у нуклеопротеина (NP) H3N2 подтипа вируса гриппа А, отличающегося более высокой изменчивостью и патогенностью и часто преобладающего в эпидсезонах, вызывая высокую смертность. Сдвиг в соотношении и количественном содержании основных аминокислот в NP вирусов гриппа связан с их адаптацией к определенному виду организма. По данным сравнения аминокислотного состава нуклеопротеинов вирусов гриппа и коронавирусов проведенных в России в 2020 г. [7], в N-белке коронавирусов SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV и Bat Cov HKU3 в отличие от NP вирусов гриппа H3N2 и H1N1 содержание аргинина и лизина практически совпадают. В NP-белке у вирусов гриппа выявлено более высокое содержание положительно и отрицательно заряженных аминокислот, чем в N-белке коронавирусов. С учётом большей разницы между количеством положительно и отрицательно заряженными аминокислотами в N-белке SARS-CoV-2 по сравнению с NP вирусов гриппа снижение распространения нового коронавируса можно ожидать позднее, чем спад эпидемии гриппа (в конце весны или с наступлением лета). С повышением температуры окружающей среды в вирионах дестабилизируется связь N-белка с РНК, что может привести к изменениям, затрагивающим экспонирование полярных боковых групп некоторых аминокислот S-протеина. Это в итоге должно предотвратить выживание SARS-CoV-2 во внешней среде, по мнению Харченко Е.П.

Уникальной особенностью N-белка SARS-CoV-2 по сравнению с представителями *Coronaviridae* явилось отсутствие цистеина (C), что связано с особенностями укладки геномной РНК в вирионе.

Одним из наиболее важных шагов по ограничению вспышки любого вирусного заболевания является возможность в кратчайшие сроки диагностировать некоторые маркеры возбудителя SARS-CoV-2, в число которых может входить и N-белок. Его можно рассматривать как возможный диагностический инструмент для выявления SARS-CoV-2, поскольку известно, что, например, при SARS-CoV этот белок обнаруживается уже на первый день заражения и его считают при SARS-CoV-2 идеальной мишенью для обнаружения вирусных антигенов [28]. Также его целесообразно рассматривать и в качестве потенциального кандидата для конструирования современных вакцин, учитывая его стабильность.

С учётом значимости N-белка для процессов жизнедеятельности SARS-CoV-2, его участия в реализации патогенных свойств вирионов представляется актуальным дальнейшее углубленное изучение этого белка, а информация, полученная о его структуре и свойствах, поможет

расширить понимание биологии SARS-CoV-2 и повлиять на разработку более эффективных методов для его диагностики и лечения. N-белок SARS-CoV-2 — полифункциональный структурный белок, который целесообразно рассматривать в качестве биомаркера повышенной контагиозности и патогенности нового коронавируса, участвующего в формировании его адаптационного потенциала и поддерживающего его жизненный цикл.

Структурный белок E SARS-CoV-2

Интегральный мембранный белок E является одним из структурных белков SARS-CoV-2, состоящим из 75 аминокислот, pI 8.59, кодируемый геном QRF4 (E), молекулярная масса которого составляет около 5 kDa. Белок E выявлен только у представителей *Coronaviridae*. Показано, что белок E, являясь ярко выраженным гидрофобным белком-виropорином, играет важную роль в цикле репликации вируса, его сборке, высвобождении, проникновении, а также в патогенезе [29–30]. При ОРВИ и MERS E белок рассматривают как одну из детерминант патогенности [31]. Рекомбинантные варианты вируса MHV с делецией гена E обладали низкой репликационной активностью. Белок E, участвуя во взаимодействии вируса SARS-CoV с клетками хозяина и его белками, способен индуцировать апоптоз посредством каспазозависимого механизма, вызывать лимфопению и ингибировать стрессовую реакцию клеток хозяина, участвуя в сверхэкспрессии цитокинов [32–33]. Белки E SARS-CoV и SARS-CoV-2 идентичны на 94,7 % [29]. Несмотря на то, что белок E из SARS-CoV-2 отличается от SARS-CoV только тремя заменами и одной делецией, специалисты предположили, что такие изменения могут оказывать влияние на конформацию и свойства белка [30]. В структуре белка E SARS-CoV-2 отсутствуют такие аминокислоты, как гистидин (H), глицин (Q) и триптофан (W). А наличие консервативных остатков цистеина и пальмитоилирование важны для стабильности белков и функционирования вирионов [34]. Отмечено, что IC (ионный канал) и PBM (пептид-связывающий мотив) этот белок способен использовать для запуска цитокинового шторма, который активирует инфламмосомы, приводя к усилению отёка лёгких и в конечном счете — к ОРДС (острому респираторному дистрессиндromу), одной из основных причин смерти от SARS-CoV и SARS-CoV-2. Несмотря на то, что E-протеин содержится в количестве всего нескольких копий на вирион, он является важным фактором патогенности и справедливо считается «самым загадочным» белком, функции которого до сих пор не до конца изучены. Кроме того, у разных вирусов эти функции могут быть различными. Литературные данные свидетельствуют о том, что этот белок может являться привлекательной молекулярной мишенью для разработки лекарств с чётким расчётом их докинга. Между тем очевидно, что структурный белок E, являясь структурным полифункциональным белком, может претендовать на роль биомаркера патогенности нового вируса SARS-CoV-2.

Структурный белок M SARS-CoV-2

Интегральный структурный мембранный гликопротеин M SARS-CoV-2, кодируемый геном ORF5, состоит из 222 аминокислотных остатков с pI 9.51, молекулярная

масса которого составляет около 25 kDa. Аминокислотная последовательность белка М SARS-CoV-2 оказалась на 90,5% идентичной аминокислотной последовательности белка SARS-CoV. Подобно другим структурным белкам коронавируса, он играет центральную роль в его сборке, превращая клеточные мембраны в «мастерские» по сборке новых вирусных частиц [35], морфогенезу [36] почкованию [37], патогенезу [38], взаимодействуя с другими основными структурными белками коронавируса S, N и E [33]. Более того, у альфа-коронавирусов этот белок взаимодействует со спайк-белком на начальных этапах взаимодействия и внедрения в клетку. Данные Siu Y. L. еще в 2008 г. продемонстрировали, что структурные белки М, N, и Е являются ключевыми молекулами в сборке SARS-CoV, а белки Е и N должны коэкспрессироваться с белком М для эффективной сборки, транспортировки и высвобождения вирусных частиц. Показано, что белок М коронавируса SARS-CoV может вызывать апоптоз, а при SARS-CoV-2 — влиять на иммунную систему человека, ингибируя выработку интерферона [39]. В настоящее время проводятся исследования, направленные на создание ингибиторов, действующих на этапе сборки вирионов, снижающих точность процессов сборки вируса и изменяющих архитектуру вирусных частиц. Структурный полифункциональный белок М может рассматриваться как биомаркер патогенности нового вируса SARS-CoV-2.

Заключение

Решение вопросов, связанных с диагностикой, лечением, профилактикой и патогенезом нового коронавируса кроется в знании структуры и функции структурных и неструктурных вирусных белков. В настоящее время активно изучается структура, свойства, функции и роль

структурных белков SARS-CoV-2, что является чрезвычайно актуальным вектором исследования, позволяющим выяснить их истинный биологический потенциал действия и в перспективе оценить возможные пути образования его новых вариантов за счёт постепенных изменений свойств его поверхностных антигенов («дрейфа») или полной смены одного или двух поверхностных белков («шифта») и разработать стратегию и тактику экстренного реагирования при появлении новых штаммов.

Учитывая изложенные выше данные, мы можем сделать заключение о том, что структурные белки (антигены) нового коронавируса, являясь полифункциональными белками, могут служить биомаркерами высокой контагиозности и патогенности SARS-CoV-2, формируя его патогенетический и адаптационный потенциалы. Полифункциональность структурных белков S, N, М и Е нового коронавируса позволяет ему быстро отвечать на флуктуации условий существования через использование альтернативных подходов для реализации механизмов, лежащих в основе его патогенетического потенциала. Направление исследований в области изучения белков SARS-CoV-2 быстро развивается, что позволяет надеяться на то, что в ближайшем будущем удастся выявить структурно-функциональные связи в белках нового коронавируса, приблизиться к пониманию механизмов, лежащих в основе его высокой контагиозности, патогенности, адаптации, а полученные результаты использовать для решения стратегически приоритетных задач настоящего времени, направленных на создание современных отечественных вакцин и разработку эффективных методов диагностики, лечения и профилактики COVID-19, учитывая, что вирусные белки могут являться для этого основными молекулярными мишенями.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veers D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*. 2020;181(2):281-292.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>.
2. Ortega JT, Serrano ML, Pujol FH, Rangel HR. Role of changes in SARS-CoV-2 spike protein in the interaction with the human ACE2 receptor: An in silico analysis. *EXCLI J*. 2020;19:410-417. <https://doi.org/10.17179/excli2020-1167>.
3. Mercurio I, Tragni V, Busto F, De Grassi A, Pierri CL. Protein structure analysis of the interactions between SARS-CoV-2 spike protein and the human ACE2 receptor: from conformational changes to novel neutralizing antibodies. *Cell Mol Life Sci*. 2021;78(4):1501-1522. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03580-1>.
4. Song W, Gui M, Wang X, Xiang Y. Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2. *PLoS Pathog*. 2018;14(8):e1007236. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007236>.
5. Watanabe Y, Allen JD, Wrapp D, McLellan JS, Crispin M. Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike. *Science*. 2020;369(6501):330-333. <https://doi.org/10.1126/science.abb9983>.
6. Vankadari N, Wilce JA. Emerging WuHan (COVID-19) coronavirus: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):601-604. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1739565>.
7. Харченко Е.П. Коронавирус SARS-CoV-2: особенности структурных белков, контагиозность и возможные иммунные коллизии. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2020;19(2):13-30. Kharchenko E.P. The Coronavirus SARS-Cov-2: the Characteristics of Structural Proteins, Contagiousness, and Possible Immune Collisions. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(2):13-30. (In Russ.) <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30>
8. Pillay TS. Gene of the month: the 2019-nCoV/SARS-CoV-2 novel coronavirus spike protein. *J Clin Pathol*. 2020;73(7):366-369. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2020-206658>.
9. Li H, Zhou Y, Zhang M, Wang H, Zhao Q, Liu J. Updated Approaches against SARS-CoV-2. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64(6):e00483-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.00483-20>.
10. Шагунова П.О., Быков О.А., Свитич В.В. Ангиотензинпревращающий фермент 2. Подходы к патогенетической терапии COVID-19. *Журнал микробиологии*

- эпидемиологии и иммунобиологии. 2020;97(4):339-345.
Shatunova P.O., Bykov A.S., Svitch O.A., Zverev V.V. Angiotensin-converting enzyme 2. Approaches to pathogenetic therapy of COVID-19. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2020;97(4):339-345. (In Russ.).
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-4-6>
11. Kim CH. SARS-CoV-2 Evolutionary Adaptation toward Host Entry and Recognition of Receptor O-Acetyl Sialylation in Virus-Host Interaction. *Int J Mol Sci*. 2020;21(12):4549.
<https://doi.org/10.3390/ijms21124549>.
 12. Харченко Е.П. Коронавирус SARS-Cov-2: сложности патогенеза, поиски вакцин и будущие пандемии. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2020;19(3):4-20.
Kharchenko E.P. The Coronavirus SARS-Cov-2: the Complexity of Infection Pathogenesis, the Search of Vaccines and Possible Future Pandemics. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020;19(3):4-20. (In Russ.)
<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-3-4-20>
 13. Akkiz H. Implications of the Novel Mutations in the SARS-CoV-2 Genome for Transmission, Disease Severity, and the Vaccine Development. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:636532.
<https://doi.org/10.3389/fmed.2021.636532>.
 14. Saha P, Banerjee AK, Tripathi PP, Srivastava AK, Ray U. A virus that has gone viral: amino acid mutation in S protein of Indian isolate of Coronavirus COVID-19 might impact receptor binding, and thus, infectivity. *Biosci Rep*. 2020;40(5):BSR20201312.
<https://doi.org/10.1042/BSR20201312>.
 15. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell*. 2020;182(4):812-827.e19.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.043>.
 16. Easwarkhanth M, Al Madhoun A, Al-Mulla F. Could the D614G substitution in the SARS-CoV-2 spike (S) protein be associated with higher COVID-19 mortality? *Int J Infect Dis*. 2020;96:459-460.
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.05.071>.
 17. Haddad D, John SE, Mohammad A, Hammad MM, Hebbar P, et al. SARS-CoV-2: Possible recombination and emergence of potentially more virulent strains. *PLoS One*. 2021;16(5):e0251368.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251368>.
 18. Boehm E, Kronig I, Neher RA, Eckerle I, Vetter P, et al. Novel SARS-CoV-2 variants: the pandemics within the pandemic. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(8):1109-1117.
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.05.022>.
 19. Li X, Zhang L, Chen S, Ji W, Li C, Ren L. Recent progress on the mutations of SARS-CoV-2 spike protein and suggestions for prevention and controlling of the pandemic. *Infect Genet Evol*. 2021;93:104971.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104971>.
 20. Ibrahim IM, Elfiky AA, Elgohary AM. Recognition through GRP78 is enhanced in the UK, South African, and Brazilian variants of SARS-CoV-2; An in silico perspective. *Biochem Biophys Res Commun*. 2021;562:89-93.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.05.058>.
 21. Nelson G, Buzko O, Spilman PR, Niazi K, Rabizadeh S, Soon-Shiong PR. Molecular dynamic simulation reveals E484K mutation enhances spike RBD-ACE2 affinity and the combination of E484K, K417N and N501Y mutations (501Y.V2 variant) induces conformational change greater than N501Y mutant alone, potentially resulting in an escape mutant. *bioRxiv*. 2021.
<https://doi.org/10.1101/2021.01.13.426558>
 22. Cerutti G, Guo Y, Liu L, Liu L, Zhang Z, et al. Cryo-EM structure of the SARS-CoV-2 Omicron spike. *Cell Rep*. 2022;38(9):110428.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110428>.
 23. Li Q, Wu J, Nie J, Zhang L, Hao H, et al. The Impact of Mutations in SARS-CoV-2 Spike on Viral Infectivity and Antigenicity. *Cell*. 2020;182(5):1284-1294.e9.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.07.012>.
 24. Tian F, Tong B, Sun L, Shi S, Zheng B, et al. N501Y mutation of spike protein in SARS-CoV-2 strengthens its binding to receptor ACE2. *Elife*. 2021;10:e69091.
<https://doi.org/10.7554/eLife.69091>.
 25. Surjit M, Lal SK. The SARS-CoV nucleocapsid protein: a protein with multifarious activities. *Infect Genet Evol*. 2008;8(4):397-405.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2007.07.004>.
 26. Mu J, Fang Y, Yang Q, Shu T, Wang A, et al. SARS-CoV-2 N protein antagonizes type I interferon signaling by suppressing phosphorylation and nuclear translocation of STAT1 and STAT2. *Cell Discov*. 2020;6:65.
<https://doi.org/10.1038/s41421-020-00208-3>.
 27. Zeng Y, Ye L, Zhu S, Zheng H, Zhao P, et al. The nucleocapsid protein of SARS-associated coronavirus inhibits B23 phosphorylation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008;369(2):287-91.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.01.096>.
 28. Diao B, Wen K, Zhang J, Chen J, Han C, et al. Accuracy of a nucleocapsid protein antigen rapid test in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Clin Microbiol Infect*. 2021;27(2):289.e1-289.e4.
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.09.057>.
 29. Yoshimoto FK. The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19. *Protein J*. 2020;39(3):198-216.
<https://doi.org/10.1007/s10930-020-09901-4>.
 30. Bianchi M, Benvenuto D, Giovanetti M, Angeletti S, Ciccozzi M, Pascarella S. Sars-CoV-2 Envelope and Membrane Proteins: Structural Differences Linked to Virus Characteristics? *Biomed Res Int*. 2020;2020:4389089.
<https://doi.org/10.1155/2020/4389089>.
 31. Jimenez-Guardeño JM, Nieto-Torres JL, DeDiego ML, Regla-Nava JA, Fernandez-Delgado R, et al. The PDZ-binding motif of severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein is a determinant of viral pathogenesis. *PLoS Pathog*. 2014;10(8):e1004320.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004320>.
 32. Ruch TR, Machamer CE. The coronavirus E protein: assembly and beyond. *Viruses*. 2012;4(3):363-82.
<https://doi.org/10.3390/v4030363>.
 33. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virol J*. 2019;16(1):69.
<https://doi.org/10.1186/s12985-019-1182-0>.
 34. Alam I, Kamau AA, Kulmanov M, Jaremko Ł, Arold ST, et al. Functional Pangenome Analysis Shows Key Features of E Protein Are Preserved in SARS and SARS-CoV-2. *Front Cell*

- Infect Microbiol.* 2020;10:405.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00405>.
35. Neuman BW, Kiss G, Kunding AH, Bhella D, Baksh MF, et al. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *J Struct Biol.* 2011;174(1):11-22.
<https://doi.org/10.1016/j.jsb.2010.11.021>.
36. Kuo L, Hurst-Hess KR, Koetzner CA, Masters PS. Analyses of Coronavirus Assembly Interactions with Interspecies Membrane and Nucleocapsid Protein Chimeras. *J Virol.* 2016;90(9):4357-4368.
<https://doi.org/10.1128/JVI.03212-15>.
37. Siu YL, Teoh KT, Lo J, Chan CM, Kien F, et al. The M, E, and N structural proteins of the severe acute respiratory syndrome coronavirus are required for efficient assembly, trafficking, and release of virus-like particles. *J Virol.* 2008;82(22):11318-30.
<https://doi.org/10.1128/JVI.01052-08>.
38. Satarker S, Nampoothiri M. Structural Proteins in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. *Arch Med Res.* 2020;51(6):482-491.
<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.05.012>.
39. Zheng Y, Zhuang MW, Han L, Zhang J, Nan ML, et al Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) membrane (M) protein inhibits type I and III interferon production by targeting RIG-I/MDA-5 signaling. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):299.
<https://doi.org/10.1038/s41392-020-00438-7>.

Информация об авторах

Дуванова Ольга Викторовна, к.б.н., с.н.с. отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций, Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1702-1620>, olga_duvanova@mail.ru.

Чемисова Ольга Сергеевна, к.б.н., в.н.с., зав. отд. Музей живых культур с Центром патогенных для человека холерных вибрионов, Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>, chemisova_os@antiplague.ru.

Носков Алексей Кимович, к.м.н., директор, Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Вклад авторов:

Вклад авторов в написании работы равнозначен.

Конфликт интересов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors

Olga V. Duvanova, Cand. Sci. (Bio.), Senior Researcher of the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1702-1620>, olga_duvanova@mail.ru.

Olga S. Chemisova, Cand. Sci. (Bio.), V.N.S., Head of department. Museum of Living Cultures with the Center of Cholera Vibrios Pathogenic to Humans Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>, chemisova_os@antiplague.ru.

Noskov Alexey Kimovich, Cand. Sci. (Med.), Director, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Authors' contribution:

The contribution of the authors in writing the work is equivalent.

Conflict of interest.

Authors declares no conflict of interest.

Поступила в редакцию / Received: 29.03.2022

Принята к публикации / Accepted: 02.05.2022