

DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-122-127

УДК 616.98:578.2(470)

Н.А. Осина, Я.М. Краснов, Н.П. Гусева, Е.Г. Булгакова, И.В. Доманина, А.Д. Катышев,
Д.В. Уткин, О.В. Виноградова, Н.В. Кудряшов, Т.А. Полунина, Т.Ю. Красовская, С.А. Портенко,
С.А. Щербакова, В.В. Кутырев

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ГЕНОВАРИАНТОВ SARS-CoV-2 НА ТЕРРИТОРИИ ПРИВОЛЖСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ. СООБЩЕНИЕ 1

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Появление различных геновариантов вируса SARS-CoV-2, характеризующихся более высокой, по сравнению с исходными вариантами, способностью к распространению и более тяжелыми клиническими проявлениями, требует проведения молекулярно-генетического мониторинга штаммов, циркулирующих на территории Российской Федерации. **Цель** исследования – выявление геновариантов VOC SARS-CoV-2 на территории республик Башкортостан, Татарстан, Удмуртия и Самарской, Пензенской, Саратовской, Ульяновской, Оренбургской областей. **Материалы и методы.** Выявление геновариантов и определение типа мутаций осуществляли методом секвенирования фрагментов по Сэнгеру. **Результаты и обсуждение.** В работе исследовали 298 проб клинического материала, полученных из центров гигиены и эпидемиологии в республиках Башкортостан, Татарстан, Удмуртия, Самарской, Пензенской, Саратовской, Ульяновской, Оренбургской областях. В 17 % случаев наблюдали вариативность вируса SARS-CoV-2 по одному или нескольким маркерам: в трех пробах выявлен новый коронавирус линии B.1.1.7 «Британский»; в ряде случаев у обнаруженного в пробах вируса детектировали наличие только одной мутации – делеции Y144 или замены D138Y, E484K, N501Y, крайне редко двух мутаций – делеции Y144 и замены E484K. Показано наличие в 10 % случаев у детектированных SARS-CoV-2 делеции L141-G142-V143, локализованной в рецидивирующем делеционном регионе S-гена RDR2. Получены данные, указывающие на гетерогенность в макроорганизме популяции нового коронавируса с делецией L141-G142-V143, которая приводит к изменению антигенной структуры вируса, что, вероятно, позволяет ему уклоняться от иммунного ответа.

Ключевые слова: геноварианты, SARS-CoV-2, фрагментное секвенирование по Сэнгеру, генетический полиморфизм.

Корреспондирующий автор: Осина Наталия Александровна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Осина Н.А., Краснов Я.М., Гусева Н.П., Булгакова Е.Г., Доманина И.В., Катышев А.Д., Уткин Д.В., Виноградова О.В., Кудряшов Н.В., Полунина Т.А., Красовская Т.Ю., Портенко С.А., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Молекулярно-генетический мониторинг геновариантов SARS-CoV-2 на территории Приволжского федерального округа Российской Федерации. Сообщение 1. Проблемы особо опасных инфекций. 2021; 1:122–127. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-122-127

Поступила 02.03.2021. Принята к публ. 22.03.2021.

N.A. Osina, Ya.M. Krasnov, N.P. Guseva, E.G. Boolgakova, I.V. Domanina, A.D. Katyshev,
D.V. Utkin, O.V. Vinogradova, N.V. Kudryashov, T.A. Polunina, T.Yu. Krasovskaya, S.A. Portenko,
S.A. Shcherbakova, V.V. Kutyrev

Molecular-Genetic Monitoring of SARS-CoV-2 Genovariants in the Territory of the Volga Federal District of the Russian Federation. Communication 1

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Abstract. Emergence of various genovariants of the SARS-CoV-2 virus, which are characterized by a higher ability to spread and a more severe clinical manifestations compared to the initial variants, require molecular-genetic monitoring of strains circulating in the Russian Federation. **The aim** of the work was to identify the VOC SARS-CoV-2 genovariants in the territory of the Republics of Bashkortostan, Tatarstan, Udmurtia, and Samara, Penza, Saratov, Ulyanovsk, and Orenburg Regions. **Materials and methods.** The identification of genovariants and the determination of the type of mutations was carried out by the Sanger fragment sequencing method. **Results and discussion.** The study examined 298 samples of clinical material obtained from the Centers for Hygiene and Epidemiology in the Republics of Bashkortostan, Tatarstan, Udmurtia, Samara, Penza, Saratov, Ulyanovsk, and Orenburg Regions. In 17 % of cases, the variability of the SARS-CoV-2 virus was observed for one or more markers: in three samples, a new coronavirus of the B. 1.1.7 line (“British”) was detected; in a number of cases, only one mutation was detected in the virus found in samples – deletion Y144 or substitution D138Y, E484K, N501Y, and very rarely two mutations – deletion Y144 and substitution E484K. The presence of the L141-G142-V143 deletion localized in the recurrent deletion region RDR2 of the S-gene was shown in 10 % of the cases. The data obtained indicate the heterogeneity in macroorganism of the population of the new coronavirus with the deletion L141-G142-V143, which leads to a change in the antigenic structure of the virus, which probably allows the virus to evade the immune response.

Key words: genovariants, SARS-CoV-2, Sanger fragment sequencing, genetic polymorphism.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Natalia A. Osina, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Osina N.A., Krasnov Ya.M., Guseva N.P., Boolgakova E.G., Domanina I.V., Katsyhev A.D., Utkin D.V., Vinogradova O.V., Kudryashov N.V., Polunina T.A., Krasovskaya T.Yu., Portenko S.A., Shcherbakova S.A., Kutryev V.V. Molecular-Genetic Monitoring of SARS-CoV-2 Genovariants in the Territory of the Volga Federal District of the Russian Federation. Communication 1. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; 1:122–127. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-122-127

Received 02.03.2021. Accepted 22.03.2021.

Osina N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0954-5683>
 Krasnov Ya.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4909-2394>
 Guseva N.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3763-9708>
 Boolgakova E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2405-2684>
 Domanina I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4731-8089>
 Katsyhev A.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8260-4670>
 Utkin D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5903-7700>

Vinogradova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1923-6016>
 Kudryashov N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1717-8804>
 Polunina T.A., ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2234-2760>
 Krasovskaya T.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7663-5502>
 Portenko S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8334-9173>
 Shcherbakova S.A., ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1143-4069>
 Kutryev V.V., ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

Секвенирование генома вируса SARS-CoV-2 из клинических образцов является важным эпидемиологическим инструментом для мониторинга пандемии COVID-19 (в том числе для выявления новых мутаций в генах, ассоциированных с вирулентностью, инвазивностью и антигенностью) и последующего адекватного воздействия на новые геноварианты. К середине 2020 г. было отмечено глобальное распространение геновариантов вируса SARS-CoV-2, имеющих мутации D614G (ген S) и P314L (ген ORF1b), определяющие ускорение процесса связывания вируса с клеткой хозяина и проникновения в нее [1, 2]. Данные замены оказались устойчивыми, и, по всей вероятности, дальнейшая эволюция генома нового коронавируса будет развиваться на основе геновариантов вируса, содержащих эту пару единичных мутаций [3].

В конце 2020 г. появились геноварианты SARS-CoV-2, вызывающие, по определению ВОЗ, озабоченность (VOC SARS-CoV-2). Как известно, любые вирусы легко и быстро мутируют. При этом изменяется их вирулентность и отчасти антигенная структура, что затрудняет их диагностику и лечение. Мутабельность вируса SARS-CoV-2 ниже, чем у других вирусов, вызывающих острые респираторные заболевания, тем не менее накоплены многочисленные сведения о мутациях, изменяющих характер течения заболевания. Предполагается, что данные геноварианты обладают более высокой, по сравнению с исходными вариантами, способностью к распространению и вызывают более тяжелые клинические проявления. Одним из первых, описанных в 2020 г. VOC SARS-CoV-2, был геновариант, выявленный в Великобритании (202012/01, линия B.1.1.7) [4]. Позднее, в начале 2021 г., к нему добавился вариант 501Y.V2, линии B.1.351 «ЮАР», и вариант P.1, линии B.1.1.28 «Бразилия». В перспективе еще две линии могут быть добавлены к вариантам SARS-CoV-2, вызывающим озабоченность: CAL.20C/L452R (линия B.1.429/B.1.427 «США») и линия B.1.525 «Нигерия».

В связи с этим представляется актуальным молекулярно-генетический мониторинг геновариантов VOC SARS-CoV-2 на территории федеральных округов Российской Федерации. Выполнение таких исследований организовано в противочумных институтах и других научно-исследовательских учреждениях и государственных научных центрах Роспотребнадзора в рамках выполнения поручения Роспотребнадзора от 21.01.2021 № 02/1060-2021-27 «О проведении

секвенирования» и приказа Роспотребнадзора от 19.02.2021 № 56 «О совершенствовании молекулярно-генетического мониторинга штаммов возбудителя новой коронавирусной инфекции».

Цель исследования – выявление геновариантов VOC SARS-CoV-2 на территории республик Башкортостан, Татарстан, Удмуртия и Самарской, Пензенской, Саратовской, Ульяновской, Оренбургской областей методом секвенирования фрагментов по Сэнгеру.

Материалы и методы

В работе исследовали пробы клинического материала, полученные из центров гигиены и эпидемиологии (ФБУЗ ЦГиЭ) в республиках Башкортостан, Татарстан, Удмуртия и Самарской, Пензенской, Саратовской, Ульяновской, Оренбургской областях. Выделение РНК осуществляли методом нуклеопреципитации с помощью набора реагентов «Рибо-преп» (ЦНИИЭ, Россия) в соответствии с инструкцией к препарату. Обратную транскрипцию проводили с применением набора реагентов «Реверта» (ЦНИИЭ, Россия), используя рекомендации производителя. Выявление РНК нового коронавируса осуществляли с использованием набора реагентов «Вектор-ПЦРrv-2019-nCoV-RG» (ГНЦ ВБ «Вектор», Россия) в соответствии с инструкцией к препарату.

Для дифференциации геновариантов VOC вируса SARS-CoV-2 определяли наличие двух делеций: HV 69-70 (21765-21770) и Y144 (21991-21993), и пяти замен: D80A (A21801C), D138Y (G21974T), E484K (G23012A), N501Y (A23063T), A570D (C23271A). Нумерация нуклеотидных остатков приведена относительно нуклеотидной последовательности референс-штамма hCoV-19/Wuhan/WIV04/2019 (EPI_ISL_402124). Для выявления указанных мутаций осуществляли амплификацию фрагментов nCoV-2019_72, nCoV-2019_76, nCoV-2019_77 с помощью праймеров, аннотированных в протоколе ARTIC v.3, и определение их нуклеотидной последовательности по Сэнгеру.

Для проведения ПЦР использовали следующие праймеры:

nCoV-2019_72_LEFT 5'-acacgtggtgtttattacacctgac-3',
 nCoV-2019_72_RIGHT 5'-actctgaactcactttccatccaac-3',
 nCoV-2019_76_LEFT 5'-agggcaactggaaagattgct-3',
 nCoV-2019_76_RIGHT 5'-acacctgtgctgttaaacat-3',
 nCoV-2019_77_LEFT 5'-ccagcaactgtttgtggacctta-3',
 nCoV-2019_77_RIGHT 5'-cagcccctattaacagcctgc-3'.

Реакцию амплификации осуществляли с применением фермента SynTaq ДНК-полимеразы с ингибирующими активностью фермента антителами; ПЦР-Буфера-Б для Taq ДНК-полимеразы; смеси dNTP: концентрация каждого нуклеотида 25 ммоль; раствора хлорида магния в концентрации 25 ммоль производства ООО «Синтол» (Россия). В состав реакционной смеси входили праймеры в концентрации 12 пмоль каждый, дНТФ – 0,2 ммоль, ионы Mg^{2+} – 1,8 ммоль, ферменты – 2 ед. Амплификацию осуществляли на амплификаторе Mastercycler nexus (Eppendorf, Германия) по программе 95 °С – 5 мин; 10 циклов 95 °С – 60 с, 62 °С – 60 с, 72 °С – 60 с; 30 циклов 95 °С – 30 с, 60 °С – 30 с, 72 °С – 30 с; 72 °С – 5 мин.

В случае исследования проб, в которых выявлена РНК нового коронавируса в низкой концентрации ($C_t > 24$), проводили дополнительно преамплификацию данных образцов с использованием мастер-микса SsoAdvanced PreAmp для преамплификации («БиоРад», США). Работу осуществляли в соответствии с рекомендациями производителя, используя праймеры nCoV-2019_72_LEFT, nCoV-2019_72_RIGHT, nCoV-2019_76_LEFT и nCoV-2019_77_RIGHT в концентрации 8 пмоль каждый, количество кДНК – 10 мкл. Полученный преамплификат разводили ТЕ-буфером в соотношении 1:4 и использовали для постановки ПЦР с ферментом SynTaq ДНК-полимеразы, как указано выше.

Выявление амплифицированных фрагментов осуществляли с помощью электрофореза в 2 % агарозном геле, содержащем 0,5 мкг/мл этидия бромид. Электрофорез проводили в 1×ТАЕ-буфере (0,04 М

Трис-ацетат, 0,002 М ЭДТА) в присутствии этидия бромида при градиенте напряжения 8 В/см в течение 30–40 минут. Результаты учитывали с использованием гель-документирующей системы VersaDoc («БиоРад», США).

Очистку ампликонов осуществляли ферментативным способом с использованием экзонуклеазы I (20 ед./мкл) и щелочной фосфатазы термочувствительной, FastAP™(SAP, 1 ед./мкл). Работу выполняли в соответствии с рекомендациями производителя. Получение меченых ампликонов проводили с использованием набора BigDye® Terminator v3.1 Cycle (Thermo FS, США), как указано в инструкции к препарату. Секвенирование полученных фрагментов ДНК выполняли на генетическом анализаторе ABI 3500xL (Applied Biosystems, США), для выравнивания и анализа полученных последовательностей применяли программу MEGA 7.0.

Результаты и обсуждение

Всего в работе исследовано 311 проб клинического материала, содержащих SARS-CoV-2, забор которых осуществлялся в январе – марте 2021 г. на территории Приволжского федерального округа Российской Федерации. В 13 случаях осуществить анализ не представлялось возможным вследствие деградации молекул РНК. Результаты обнаружения мутаций в выявленных пробах SARS-CoV-2 представлены в таблице.

Вариабельность коронавируса по одному или нескольким указанным маркерам наблюдалась в 51 пробе (17 %). В двух пробах, забор ко-

Результаты молекулярно-генетического мониторинга проб клинического материала на наличие геновариантов нового коронавируса
Results of molecular-genetic monitoring of clinical material samples for the presence of novel coronavirus genovariants

Субъект Constituent entity	Количество исследованных проб (валидные) Number of samples examined (eligible)	Количество проб, содержащих SARS-CoV-2, в геноме которого выявлены The number of samples containing SARS-CoV-2, in which the genome was detected						
		делеция HV 69-70 deletion HV 69-70	делеция Y144 deletion Y144	замена D80A substitution D80A	замена D138Y substitution D138Y	замена E484K substitution E484K	замена N501Y substitution N501Y	замена A570D substitution A570D
Саратовская область Saratov Region	69	2	4	0	9	0	2	2
Самарская область Samara Region	38	0	0	0	8	0	0	0
Ульяновская область Ulyanovsk region	55	0	0	0	4	4	0	0
Пензенская область Penza Region	7	0	0	0	3	0	0	0
Оренбургская область Orenburg Region	11	0	0	0	0	0	0	0
Республика Татарстан Republic of Tatarstan	53	0	1	0	9	1	2	0
Республика Башкортостан Republic of Bashkortostan	51	1	1	0	2	1	1	1
Республика Удмуртия Republic of Udmurtia	14	0	0	0	2	0	0	0
Всего: Total:	298	3	6	0	28	6	5	3

торых осуществлялся в Саратовской области (г. Энгельс, г. Саратов), а также в одной пробе из Республики Башкортостан выявлен геновариант VOC SARS-CoV-2 линии B.1.1.7 «Британский» по наличию делеций HV 69-70 и Y144, замен N501Y и A570D. Одна из этих делеций – Y144 (21991-21993) – обнаружена у вирусов, выявленных в двух пробах, полученных на территории Саратовской области, и в одной – в Республике Татарстан. В последнем случае делеция была сопряжена с аминокислотной заменой E484K.

Наиболее многочисленными были находки у обнаруженных в исследуемых пробах SARS-CoV-2 единичных нуклеотидных замен D138Y (G21974T) – в 28 случаях (9,4 %). При этом процент выявления данного полиморфизма колебался от 4 до 43 % в зависимости от территории, где проводился забор материала. Однако для подтверждения территориальной зависимости необходимо увеличить число исследуемых проб, особенно на территориях, где мониторинг начался позднее (Пензенская и Оренбургская области, Республика Удмуртия).

Ни в одной из исследованных проб, содержащих новый коронавирус, не обнаружена замена D80A (A21801C). В шести случаях у выявленного нового коронавируса отмечена замена E484K (G23012A), в двух – только N501Y (A23063T) (Республика Татарстан).

Хотелось бы отметить, что нами в ряде случаев выявлено наличие у детектируемых SARS-CoV-2 делеции размером 9 п.н. (L141-G142-V143) (в среднем 10 %). Такой геновариант вируса обнаружен в материале, забор которого был осуществлен: в Республике Башкортостан – 1 из 51 (2 %), Оренбургской области – 1 из 11 (9 %), Саратовской области – 3 из 69 (5 %), Пензенской области – 2 из 7 (29 %), Ульяновской области – 7 из 55 (13 %), Самарской области – 16 из 38 (42 %). Причины превалирования в Самарской области проб, содержащих новый коронавирус с делецией L141-G142-V143, пока не ясны. Требуется углубленное изучение S-гена данного геноварианта, выявленного в Самарской области, в совокупности с анализом клинической картины заболевания.

Штаммы SARS-CoV-2, несущие делецию L141-G142-V143, депонированы в базу данных GenBank NCBI еще в 2020 г. Однако их количество было незначительным: MT772253.1 (Индия), LR883882.1 (Нидерланды), MT968055.1 и MW635141.1 (США). В то же время в январе – марте 2021 г. на основании анализа последовательностей вирусов, представленных в GenBank NCBI, выявление таких геновариантов значительно увеличилось – более 70 случаев. Находки по GenBank NCBI нового геноварианта SARS-CoV-2 отмечены в различных штатах США. Для более полного представления о распространенности этого генотипа коронавируса необходимо расширить спектр изучаемых последовательностей вируса с привлечением генетической базы данных GISAID.

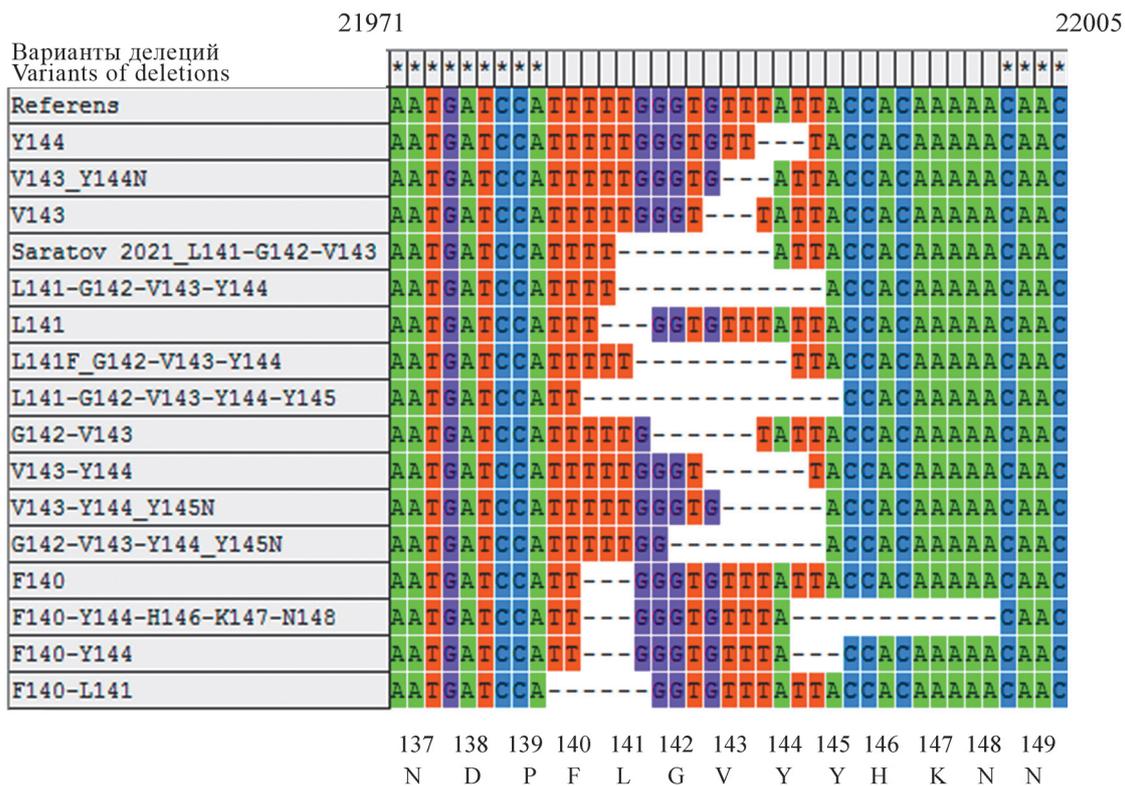
Делеция L141-G142-V143 локализуется в рецидивирующем делеционном регионе S-гена RDR2 (от англ. recurrent deletion region) нового коронавируса, описанном K.R. McCarthy *et al.* [5] на основании анализа собственных данных и нуклеотидных последовательностей, аннотированных в базе данных GISAID. Авторы показали наличие четырех таких областей в структуре S-гена, при этом делеция HV 69-70 расположена в RDR1, Y144 – в RDR2. Делеции в RDR 1 и 3 не изменяли антигенную активность S белка и не влияли на его связывание с антителами 4A8, а три делеции в RDR2 и одна делеция в RDR4 нарушали антигенную активность S белка и полностью исключали его связывание с антителами 4A8. Мутации в RDR2 области помогают вирусу уклоняться от иммунного ответа макроорганизма.

Нами проведен анализ гомологии фрагмента S-гена SARS-CoV-2, содержащего делеции в области RDR2, выявленные в данной работе и в представленных в базе данных GenBank NCBI (рисунок).

Из представленных на рисунке данных видно, что размеры делеций в RDR2 области S-гена SARS-CoV-2 варьируют от 3 до 15 п.н., при этом у одного штамма вируса может наблюдаться несколько делеций, чередующихся с гомологичной последовательностью. Часть представленных мутаций захватывает делецию Y144 совместно с другими расположенными рядом аминокислотами, а другая часть – только аминокислоты, граничащие с Y144 и P139. Для полной картины вариабельности RDR2 области S-гена SARS-CoV-2 необходимо продолжить анализ с привлечением нуклеотидных последовательностей нового коронавируса, представленных в базе данных GISAID.

С целью оценки гетерогенности популяции нового коронавируса, содержащего выявленную делецию L141-G142-V143, нами подобраны олигонуклеотидные праймеры так, чтобы один из них располагался в области делеции: 72S-9 f – 5'TACTAAGAGGTTTGATAACCC-3' и 72S-9 r – 5'TTTGTGGTAATAAACACCC-3'. Амплификацию с данными праймерами осуществляли так же, как при использовании праймеров nCoV-2019 72, nCoV-2019 76, nCoV-2019 77.

Установлено, что в четырех случаях при исследовании проб, содержащих SARS-CoV-2 с делецией L141-G142-V143, наблюдалось образование фрагмента размером 217 п.н., специфичного для вируса без данной делеции. В остальных пробах формирование ампликонов такого размера не отмечено. Полученные результаты указывают на большую вероятность гетерогенности популяции нового коронавируса, состоящую из исходных и мутантных вариантов, при циркуляции в одном макроорганизме. Для более детального изучения возможной гетерогенности представляется перспективной амплификация RDR2 области S-гена SARS-CoV-2 с указанной делецией при исследовании проб, в которых отмечены оба варианта вируса, с последующим клонированием полученных фрагментов и их изучением.



Вариабельность RDR2 области S-гена SARS-CoV-2 по данным анализа нуклеотидных последовательностей, полученных ранее и в данной работе, на примере г. Саратова, и представленных в базе данных GenBank NCBI:

цифрами снизу обозначены позиции аминокислот, Y – тирозин, N – аспарагин, V – цистеин, H – гистидин, K – лизин, D – аспарагиновая кислота, P – пролин, F – фенилаланин, L – лейцин, G – глицин; цифрами сверху – позиции нуклеотидов

Variability of the RDR2 region of the SARS-CoV-2 S-gene according to the analysis of the nucleotide sequences, obtained previously and during the current study by the example of Saratov and available in the GenBank NCBI database:

numbers indicate the positions of amino acids, Y – tyrosine, N – asparagine, V – cysteine, H – histidine, K – lysine, D – aspartic acid, P – proline, F – phenylalanine, L – leucine, G – glycine; the numbers at the top are the positions of the nucleotides

Таким образом, нами получены первые результаты по мониторингу геновариантов VOC SARS-CoV-2 на территории Приволжского федерального округа Российской Федерации. В трех пробах выявлен новый коронавирус линии B.1.1.7 «Британский», в ряде случаев у обнаруженного в пробах вируса детектировалось наличие только одной делеции Y144 или замен D138Y, E484K, N501Y, крайне редко двух типов мутаций: делеция Y144 и замена E484K. В 10 % случаев у исследованных вирусов SARS-CoV-2 выявлена делеция L141-G142-V143, локализованная в рецидивирующем делеционном регионе RDR2 S-гена. Самая высокая частота встречаемости этого геноварианта характерна для изолятов из Самарской области. Кроме того, получены данные, указывающие на возможность гетерогенности популяции вируса с такой делецией в макроорганизме. Так как делеция расположена в RDR2 области S-гена, мутации в которой приводят к изменению антигенной активности, гетерогенность популяции в данном случае, вероятно, отражает процесс образования штаммов с измененной антигенной структурой, уклоняющихся от иммунного ответа, способных к распространению в популяции реконвалесцентов.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Благодарность. Авторский коллектив выражает глубокую признательность сотрудникам ФБУЗ ЦГиЭ Роспотребнадзора в Саратовской, Самарской, Пензенской, Оренбургской, Ульяновской областях, в республиках Башкортостан, Татарстан и Удмуртия за отбор и доставку клинического материала на исследование.

Список литературы

1. Bhattacharyya Ch., Das Ch., Ghosh A., Singh A.K., Mukherjee S., Majumder P.P., Basu A., Biswas N.K. Global spread of SARS-CoV-2 subtype with spike protein mutation D614G is shaped by human genomic variations that regulate expression of TMPRSS2 and MX1 genes. *bioRxiv*. 2020. 05.04.075911. DOI: 10.1101/2020.05.04.075911.
2. Pachetti M., Marini B., Benedetti F., Giudici F., Mauro E., Storici P., Masciovecchio C., Angeletti S., Ciccozzi M., Gallo R.C., Zella D., Ippodrino R. Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant. *J. Transl. Med.* 2020; 18(1):179. DOI: 10.1186/s12967-020-02344-6.
3. Краснов Я.М., Попова А.Ю., Сафронов В.А., Федоров А.В., Баданин Д.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Анализ геномного разнообразия SARS-CoV-2 и эпидемиологических признаков адаптации возбудителя COVID-19 к человеческой популяции (Сообщение 1). *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 3:70–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-70-82.
4. Public Health England. Investigation of novel SARS-COV-2

variant: Variant of Concern 202012/01 (2020). [Электронный ре-сурс]. URL: <http://www.gov.uk/government/publications/investigation-of-novel-sars-cov-2-variant-variant-of-concern-20201201> (дата обращения 29.03.2021).

5. McCarthy K.R., Rennick L.J., Nambulli S., Robinson-McCarthy L.R., Bain W.G., Haidar G., Paul Duprex W. Recurrent deletions in the SARS-CoV-2 spike glycoprotein drive antibody escape. *Science*. 2021; 371(6534):1139–42. DOI: 10.1126/science.abf6950.

References

1. Bhattacharyya Ch., Das Ch., Ghosh A., Singh A.K., Mukherjee S., Majumder P.P., Basu A., Biswas N.K. Global spread of SARS-CoV-2 subtype with spike protein mutation D614G is shaped by human genomic variations that regulate expression of TMPRSS2 and MX1 genes. *bioRxiv*. 2020. 05.04.075911. DOI: 10.1101/2020.05.04.075911.

2. Pachetti M., Marini B., Benedetti F., Giudici F., Mauro E., Storici P., Masciovecchio C., Angeletti S., Ciccozzi M., Gallo R.C., Zella D., Ippodrino R. Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant. *J. Transl. Med.* 2020; 18(1):179. DOI: 10.1186/s12967-020-02344-6.

3. Krasnov Ya.M., Popova A. Yu., Safronov V.A., Fedorov A.V., Badanin D.V., Shcherbakova S.A., Kutyrer V.V. [Genomic diversity analysis of SARS-CoV-2 and epidemiological features of adaptation of COVID-19 agent to human population (Communication 1)]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly*

Dangerous Infections]. 2020; (3):70–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-70-82.

4. Public Health England. Investigation of novel SARS-CoV-2 variant: Variant of Concern 202012/01 (2020). (Cited: March 29, 2021). [Internet]. Available from: <http://www.gov.uk/government/publications/investigation-of-novel-sars-cov-2-variant-variant-of-concern-20201201>.

5. McCarthy K.R., Rennick L.J., Nambulli S., Robinson-McCarthy L.R., Bain W.G., Haidar G., Paul Duprex W. Recurrent deletions in the SARS-CoV-2 spike glycoprotein drive antibody escape. *Science*. 2021; 371(6534):1139–42. DOI: 10.1126/science.abf6950.

Authors:

Osina N.A., Krasnov Ya.M., Guseva N.P., Boolgakova E.G., Domanina I.V., Katyshev A.D., Utkin D.V., Vinogradova O.V., Kudryashov N.V., Polunina T.A., Krasovskaya T.Yu., Portenko S.A., Shcherbakova S.A., Kutyrer V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Осина Н.А., Краснов Я.М., Гусева Н.П., Булгакова Е.Г., Доманина И.В., Катышев А.Д., Уткин Д.В., Виноградова О.В., Кудряшов Н.В., Полунина Т.А., Красовская Т.Ю., Портенко С.А., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.