

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30>

Коронавирус SARS-Cov-2: особенности структурных белков, контагиозность и возможные иммунные коллизии

Е. П. Харченко

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова» РАН

Резюме

Актуальность. Коронавирус SARS-Cov-2 является новым вирусом, обладающим способностью осуществлять трансмиссию воздушно-капельным путем, вызывая тяжелое течение атипичной пневмонии. Роль его структурных белков в патогенезе неизвестна. **Цель** — охарактеризовать особенности структурных белков 2019-nCoV и их изменения в связи с возникновением у него других путей трансмиссии и проанализировать возможность возникновения при его инфицировании гетерологичного иммунного ответа. **Материалы и методы.** Для компьютерного анализа были использованы доступные в Интернете базы данных первичных структур генома и белков коронавирусов SARS-Cov-2 и SARS-CoV. Сравнивали аминокислотный состав их структурных белков S, M, E и N и их генетические коды, с помощью алгоритма BLAST сопоставляли их первичные последовательности. Для выявления пептидного (иммуноэпитопного) родства S-белка с белками человека и вирусов был выполнен поиск гомологичных последовательностей в их белках. **Результаты.** Среди структурных белков SARS-Cov-2 первичные последовательности белков M, E и N оказались консервативными. В субъединице S1 белка-S выявлены несколько крупных вставок, значительные изменения аминокислотного состава с преобладанием положительно заряженных аминокислот, что характерно для поверхностных белков вирусов, обладающих высокой контагиозностью. Субъединице S2 свойственна консервативность и сохранение отрицательной полярности. S-белку свойственно пептидное (иммуноэпитопное) родство со многими белками человека и вирусов. **Заключение.** Особенности SARS-Cov-2 сопряжены со значительными изменениями в структуре S1 субъединицы его S-белка, которые потенциально могут быть ответственны за присущую вирусу высокую трансмиссивность и множество иммунных коллизий, отягчающих течение инфекционного процесса.

Ключевые слова: коронавирус SARS-Cov-2, структурные белки, генетический код, трансмиссивность, иммунные коллизии
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Харченко Е. П. Коронавирус SARS-Cov-2: особенности структурных белков, контагиозность и возможные иммунные коллизии/Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020; 19 (2): 13–30. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30>.

The Coronavirus SARS-Cov-2: the Characteristics of Structural Proteins, Contagiousness, and Possible Immune Collisions

EP Kharchenko

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, St. Petersburg, Russian Federation,

Abstract

Relevance. Coronavirus SARS-Cov-2 is a novel virus demonstrating the ability to be transmitted from human-to-human, via respiratory droplets or close contact, and cause the severe acute respiratory syndrome (SARS). The role of its structural proteins in the SARS pathogenesis is unknown. **Aim** is to characterize the features of the SARS-Cov-2 structural proteins and their changes associated with acquiring other way of transmission and analyze the possibility of heterologous immunity emergence in its infection. **Materials and method.** For the computer analysis and alignment, the gene sequences of SARS-Cov-2, SARS-CoV, MERS-CoV and bat CoV HKU3 reference strains were used from the Internet. From the primary structure of their genes it were translated their structural proteins: spike (S), envelope (E), membrane (M), and nucleocapsid (N). The genetic code of structural proteins was also defined. The search of homologous sequences in the SARS-Cov-2 S-protein, surface proteins of other viruses, and human proteins was made to find immune epitope continuum of protein relationships. **Results.** In the SARS-Cov-2 structural proteins amino acid sequences of M, E, and N-proteins are conservative. The S1 subunit of the S-protein contains some large insertions, significant changes of the amino acid content with the predominance of arginine and lysine which is typical for the surface glycoproteins in the viruses possessing high contagiousness. The S2 subunit is rather conservative and retain negative polarity. The S-protein exhibits the immune epitope relationships with many proteins of viruses and human which may be associated with immune collisions. **Conclusion:** The SARS-Cov-2 features are determined by marked changes of the S1 subunit structure in the S-protein which may be responsible for its contagiousness and many immune collisions aggravating infection process.

* Для переписки: Харченко Евгений Петрович, д. б. н., ведущий научный сотрудник Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореца, 44. +7 (812) 552-70-31, neuro.children@mail.ru. ©Харченко Е. П.

** For correspondence: Kharchenko Eugene P., Dr. Sci. (Biol.), leader researcher Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, 44 Torea pr., St. Petersburg, Russian Federation, 194223, +7 (812) 552-70-31, neuro.children@mail.ru. ©Kharchenko EP.

Key words: coronavirus, COVID-19, structural proteins, genetic code contagiousness, and immune collisions

No conflict of interest to declare.

For citation: Kharchenko EP. 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>.

Пандемия коронавирусной инфекции вновь напомнила человечеству о глобальном могуществе микроскопических творений живой природы. Особенность нового коронавируса (именуемого далее как SARS-Cov-2), отличающая его от предшественников, – трансмиссия от пораженного человека к другому разными путями, включая воздушно-капельный путь. Судя по информационным сводкам, смертность от SARS-Cov-2 существенно уступает по этому показателю другому представителю коронавирусов (MERS-CoV), вызывающему средневосточный респираторный синдром, а также вирусу, вызвавшему в 2002 г. вспышку тяжелого острого респираторного синдрома (обозначаемому далее как SARS-CoV).

Объяснение contagiозности SARS-Cov-2 можно было бы достигнуть прежде всего через сравнение его молекулярных характеристик с SARS-CoV и, в частности, их структурных белков, поскольку ими определяется устойчивость вирионов в окружающей среде. Успешная трансмиссия любого вируса возможна прежде всего при распознавании им рецепторов клеток хозяина и проникновении в клетку с последующей множественной репродукцией в ней, избегая иммунную систему (ИС) хозяина. Реализация трансмиссии воздушно-капельным путем и сохранение во внешней среде (даже на непродолжительное время) не возможна без устойчивости вируса к таким ее факторам, как ее влажность, температура и радиация. Устойчивость же обуславливается в значительной степени общими характеристиками структурных белков вирионов, например, особенностями их аминокислотного состава, соотношением отрицательно и положительно заряженных аминокислот или гидрофобностью.

Коронавирусы являются наиболее крупными среди РНК-содержащих вирусов, и поскольку методами глубокого секвенирования геномов разных вирусов подтверждено существование в природе множественной глубокой рекомбинации среди вирусов и между ними и их хозяевами, происшедшей, вероятно, при коинфицировании ими человека или в других общих для них хозяевах [1–3], то в случае SARS-Cov-2 можно ожидать существование в его структурных белках последовательностей, гомологичных белкам человека и других вирусов, патогенных для человека. Эти гомологичные последовательности могут составлять «ядро» иммунных эпитопов (ИЭ), узнаваемых обоими классами главного комплекса гистосовместимости (МНС I и II), и быть причиной гетерологичного иммунного

ответа, негативным проявлением которого являются коллизии ИС, отягощающие инфекционный процесс [4].

Цель данного сообщения – охарактеризовать особенности структурных белков SARS-Cov-2 и их изменения в связи с возникновением у него новых путей трансмиссии и проанализировать возможность возникновения при его инфицировании гетерологичного иммунного ответа.

Материалы и методы

Для сравнительного компьютерного анализа использовали данные по референсным штаммам следующих коронавирусов: SARS-Cov-2 (NC_045512.2), SARS-CoV (NC_004718.3), MERS-CoV (KC164505.2) и bat CoV HKU3 (Q3LZX4). У SARS-Cov-2 структурными являются 4 белка: спайковый (S), мембранный (M), малый мембранный (E) и нуклеокапсид (N). В их первичных структурах определяли аминокислотный состав. Выравнивание первичных последовательностей белков осуществляли с помощью алгоритма BLAST. С использованием специальной компьютерной программы по данным нуклеотидных последовательностей генов определяли генетический код каждого структурного белка SARS-Cov-2. Сравнению были также подвергнуты аминокислотные составы S-белка SARS-Cov-2 и поверхностных белков вирусов гриппа, кори, паротита, краснухи и ротавирусов.

С целью выявить вариабельность S-белка среди штаммов SARS-Cov-2, выделенных в начале пандемии, из 95 представленных (на момент написания статьи) в базе данных GISAID (<http://www.platform.gisaid.org>) нуклеотидных последовательностей их геномов, были вычленены последовательности, кодирующие S-белок. Далее для сравнительного анализа были отобраны 74 последовательности генов S-белка с полной расшифровкой всех позиций нуклеотидов, которые были транслированы компьютерной программой в аминокислотные последовательности с последующим сравнением их с первичной структурой S-белка референсного штамма SARS-Cov-2. Дополнительно с помощью специальной компьютерной программы по нуклеотидным последовательностям генов N- и S-белков SARS-Cov-2 определяли генетический код N-белка и S1 и S2 субъединиц S-белка (рис. 1).

Для анализа пептидного (иммуоэпитопного) родства S-белка SARS-Cov-2 с белками человека были использованы последовательности 12 000 белков человека, охватывающие все ткани и органы, клеточные органеллы и межклеточное вещество, ферменты путей синтеза и метаболизма,

Рисунок 1. Генетический код S1(слева) и S2 (справа) субъединиц SARS-Cov-2
Figure 1. The genetic code of SARS-Cov-2 S1(left) и S2 (right) subunits

TCT S 25	TGT C 14	TTT F 37	TAT Y 28
TCC S 8	TGC C 6	TTC F 12	TAC Y 8
TCA S 9	TGA Z 0	TTA L 15	TAA Z 0
TCG S 2	TGG W 7	TTG L 10	TAG Z 0
ACT T 33	AGT S 9	ATT I 18	AAT N 35
ACC T 5	AGC S 2	ATC I 6	AAC N 19
ACA T 18	AGA R 15	ATA I 10	AAA K 17
ACG T 2	AGG R 6	ATG M 4	AAG K 13
CCT P 21	CGT R 6	CTT L 17	CAT H 7
CCC P 3	CGC R 0	CTC L 4	CAC H 2
CCA P 13	CGA R 0	CTA L 6	CAA Q 16
CCG P 0	CGG R 2	CTG L 2	CAG Q 12
GCT A 21	GGT G 30	GTT V 31	GAT D 22
GCC A 3	GGC G 5	GTC V 14	GAC D 9
GCA A 12	GGA G 7	GTA V 8	GAA E 17
GCG A 1	GGG G 3	GTG V 4	GAG E 6

TCT S 12	TGT C 14	TTT F 22	TAT Y 12
TCC S 4	TGC C 6	TTC F 6	TAC Y 6
TCA S 17	TGA Z 0	TTA L 13	TAA Z 1
TCG S 0	TGG W 5	TTG L 10	TAG Z 0
ACT T 11	AGT S 8	ATT I 26	AAT N 19
ACC T 5	AGC S 3	ATC I 8	AAC N 15
ACA T 22	AGA R 5	ATA I 8	AAA K 21
ACG T 1	AGG R 4	ATG M 10	AAG K 10
CCT P 8	CGT R 3	CTT L 19	CAT H 6
CCC P 1	CGC R 1	CTC L 8	CAC H 2
CCA P 12	CGA R 0	CTA L 3	CAA Q 30
CCG P 0	CGG R 0	CTG L 1	CAG Q 4
GCT A 21	GGT G 17	GTT V 17	GAT D 21
GCC A 5	GGC G 10	GTC V 7	GAC D 10
GCA A 15	GGA G 10	GTA V 7	GAA E 17
GCG A 1	GGG G 0	GTG V 9	GAG E 8

а также белки ИС. При анализе родства S-белка с белками вирусов были использованы последовательности поверхностных белков из РНК- и ДНК-содержащих вирусов: эндогенные ретровирусы человека, вирус иммунодефицита человека 1 (ВИЧ-1), вирусы гриппа типов А и В, гепатитов А, В С и Е, кори, паротита, краснухи, полиомиелита, клещевого энцефалита, желтой лихорадки, лихорадок Денге, Эбола, Марбурга, бешенства, аденовирус, вирус папилломы, полиомавирус, все типы вируса герпеса, респираторно-синцитиальный вирус, GB вирус С, цирковирус, коксакивирус, аденоассоциированный вирус и ротавирусы.

Поиск родства осуществляли по пептидным фрагментам длиной в 9 (размер иммунного эпитопа, узнаваемого МНС I) и 14 аминокислот (размер иммунного эпитопа, узнаваемого МНС II). Последовательности фрагментов признавались родственными при наличии у них соответственно не менее 7 и 9 идентичных позиций. Источником первичных структур генов и белков и программы BLAST служили доступные в Интернете базы данных (www.ncbi.nlm.nih.gov, www.nextprot.org, <http://viralzone.expasy.org>). Названия белков вирусов и человека в таблицах приводятся по сигнатуре, приводимой в указанных источниках.

В статье используется международный код аминокислот: А – аланин, С – цистеин, D – аспарагиновая кислота, Е – глутаминовая кислота, F – фенилаланин, G – глицин, H – гистидин, I – изолейцин, K – лизин, L – лейцин, M – метионин, N – аспарагин, P – пролин, Q – глутамин, R – аргинин, S – серин, T – треонин, V – валин, W – триптофан, Y – тирозин. Для обозначения нуклеиновых оснований используется следующая аббревиатура: А – аденин, G – гуанин, C – цитозин, T – тимин.

Результаты и обсуждение

Приступая к изложению полученных результатов, следует сразу оговорить, что в статье намеренно не рассматривается проблема эволюции семейства В коронавирусов и происхождения принадлежащего ему SARS-Cov-2. Построение филогенетического дерева любой линии вирусов всегда связано с непреодолимыми трудностями, поскольку невозможно воссоздать полную картину происхождения сохранившихся на сцене жизни штаммов из-за бесследного исчезновения их предшественников. Построенные филогенетические деревья являются лишь слепами сложнейшей и непрекращающейся круговерти вирусов среди различных видов и адаптации к ним. Избранный нами подход – сопоставление характеристик структурных белков SARS-Cov-2 и SARS-CoV, возникновение которых разделяется примерно 17 годами, – позволил выявить их выраженные различия особенно по белку S, наиболее изменчивому у представителей различных родов *Coronavirinae* и рассматриваемому как ответственного за их трансмиссивность и адаптацию.

Что касается данных по сравнению нуклеотидных последовательностей отобранных 74 генов S-белков штаммов SARS-Cov-2 выделенных в начале пандемии в разных континентах, то в них вариативности (за исключением 1–2 замен аминокислот у некоторых штаммов, что можно отнести за счет обычно встречающихся ошибок секвенирования) не выявлено. Это подтверждает наличие у репликативной системы коронавирусов совершенной редактирующей способности, и, по существу, любой их штамм может быть использован для получения вакцины. Эту исключительная способность репликазы следует иметь в виду при поисках

Problem-Solving Article

Таблица 1. Аминокислотный состав и длина структурных белков коронавируса
Table 1. Amino acid content and length of coronavirus structural proteins

		K	R	H	D	E	P	C	L	I	V	A	Y	W	F	G	M	N	Q	S	T	
S	SARS-CoV-2	61	42	17	62	48	58	40	108	76	97	79	54	12	77	82	14	88	62	99	97	(1273 а.к.)
S	SARS-CoV	60	39	15	73	42	57	39	99	78	91	85	54	11	83	79	20	81	55	95	99	(1255 а.к.)
S	MERS-CoV	51	44	21	66	46	62	42	119	73	96	88	76	10	72	92	21	77	71	134	92	(1353 а.к.)
S1	SARS-CoV-2	30	29	9	31	23	37	20	54	34	57	37	36	7	49	45	4	54	28	55	58	(697 а.к.)
S1	SARS-CoV	31	23	9	44	17	37	20	45	38	53	38	35	6	53	43	8	46	21	54	58	(679 а.к.)
S2	SARS-CoV-2	31	13	8	31	25	21	20	54	42	40	42	18	5	28	37	10	34	34	44	39	(576 а.к.)
S2	SARS-CoV	29	16	6	29	25	20	19	54	40	38	47	19	5	30	36	12	35	34	41	41	(576 а.к.)
M	SARS-CoV-2	7	14	5	6	7	5	4	35	20	12	19	9	7	11	14	4	11	4	15	13	(222 а.к.)
M	SARS-CoV	6	15	3	6	7	5	3	31	18	16	19	9	7	11	15	7	13	5	12	13	(221 а.к.)
E	SARS-CoV-2	2	3	0	1	2	2	3	14	3	13	4	4	0	5	1	1	5	0	8	4	(75 а.к.)
E	SARS-CoV	2	2	0	1	3	2	3	14	3	14	4	4	0	4	2	1	5	0	7	5	(76 а.к.)

Примечание: длина белка приведена в скобках, а. к. – аминокислота
 Note: the protein length is in parentheses.

вакцины и прогнозирования будущих сценариев эпидемиологии коронавирусов.

Далее все сопоставления белков приводятся по отношению к белкам SARS-CoV. Данные таблицы 1 свидетельствуют о том, что все структурные белки SARS-Cov-2 подверглись изменениям в различной степени.

Наиболее консервативным оказался Е-белок, став короче, по сравнению с Е-белком SARS-CoV, на 1 позицию в С-концевой части. Белок М, напротив, стал длиннее на 1 аминокислоту, претерпев изменения особенно по содержанию гидрофобных аминокислот (лейцина, изолейцина и валина) и серина. Заметные изменения произошли в N-белке SARS-Cov-2. Он стал короче на 3 аминокислоты, в нем изменились количественные соотношения между гидрофобными аминокислотами. Хотя количественные соотношения дикарбоновых аминокислот изменились, но 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. Этот сдвиг можно рассматривать как возможный маркер усиления контагиозности и патогенности SARS-Cov-2 при более низкой температуре окружающей среды, так как наблюдается и у нуклеопротеина (NP) H3N2 подтипа вируса гриппа А, отличающегося более высокой изменчивостью и патогенностью и часто преобладающего в эпидсезонах, вызывая высокую смертность. Кроме того, сдвиг в соотношении и количественном содержании основных аминокислот в NP вирусов гриппа связан с их адаптацией к определенному виду. В частности, птичьих H1N1 и H3N2 подтипы

штаммов вируса гриппа, как и специфичные для них штаммы H5N1, H7N9 и H9N2, имели в NP иное содержание и соотношение основных аминокислот, по сравнению со штаммами H1N1 и H3N2, выделенными у человека, что объясняется более высокой температурой тела у птиц [5].

В таблице 2 приводятся данные аминокислотного состава NP вирусов гриппа и N коронавирусов, и их сопоставление представляет интерес прежде всего с точки зрения прогнозирования прекращения пандемии коронавирусной инфекции, поскольку нуклеопротеины, как и поверхностные белки вирионов, являются определяющими в сохранении вируса в окружающей среде и поддержании его контагиозности. Структура нуклеопротеина вирусов связана с особенностями хозяина, так как процессы репликации и транскрипции, сопряженные с диссоцированием нуклеопротеинов от РНК, имеют температурный оптимум, детерминированный температурой тела конкретного вида животного, под которую адаптируется аминокислотный состав нуклеопротеина поражающего его вируса гриппа.

В случае вирусов гриппа, как отмечено выше, отмечаются адаптационные изменения NP как у разных его подтипов, поражающих человека, так и у подтипов, поражающих других хозяев. У человека температура тела равна 36,6 °С, у свиней – 38–40 °С, а у птиц – 42,5 °С. Изменения NP вирусов гриппа проявляются преимущественно в синонимичных заменах заряженных аминокислот. При неизменности сумм соответственно положительно (лизина, аргинина, гистидина) и отрицательно (глутаминовой и аспарагиновой кислот) заряженных аминокислот и постоянстве их положения в первичной структуре в ходе адаптации к тому или иному виду менялись количественные соотношения в парах лизин/аргинин и глутаминовая кислота/аспарагиновая кислота, независимо от подтипа их

Таблица 2. Аминокислотный состав нуклеопротеинов вирусов гриппа и коронавирусов
Figure 2. Amino acid compositions in the nucleoproteins of influenza viruses and coronaviruses

Штамм/Strain	K	R	H	D	E	P	C	L	I	V	A	Y	W	F	G	M	N	Q	S	T
----- H3N2 -----																				
Hong Kong/01/1968	24	46	5	24	36	18	6	32	27	22	41	15	6	17	41	26	27	21	39	25
swine/Ohio/OH-17-25426/2017	22	49	7	22	37	16	6	34	29	24	40	13	6	18	42	21	26	21	40	25
duck/France/161005/2016	15	55	6	20	38	16	6	32	28	24	39	14	6	18	42	24	25	22	40	27
----- H1N1 -----																				
Brevig Mission/1/18	16	54	6	22	37	17	6	30	31	22	39	15	6	17	41	25	25	21	40	28
California/04/2009	21	50	7	23	36	16	6	32	28	26	40	13	6	17	42	23	26	21	40	25
swine/Indiana/A02429806/2019	20	51	7	22	37	16	6	32	28	24	40	13	6	17	41	24	26	21	40	27
mallard/Alberta/439/2017	14	54	6	21	35	16	6	31	29	23	38	13	6	18	39	23	27	20	36	26
----- коронавирусы/coronaviruses -----																				
SARS-CoV-2	31	29	4	24	12	28	0	27	14	8	37	11	5	13	43	7	22	35	37	32
SARS-CoV	29	31	5	22	14	31	0	26	11	11	34	11	5	13	45	7	25	34	35	33
MERS-CoV	29	26	7	20	13	34	0	26	12	17	33	10	6	14	38	7	32	23	34	30
Bat CoV HKU3	30	31	6	22	15	31	0	27	13	11	34	11	5	13	45	6	21	33	38	29

гемагглютинаина и нейраминидазы. У всех вирусов гриппа типа А в NP содержание аргинина значительно выше, чем лизина.

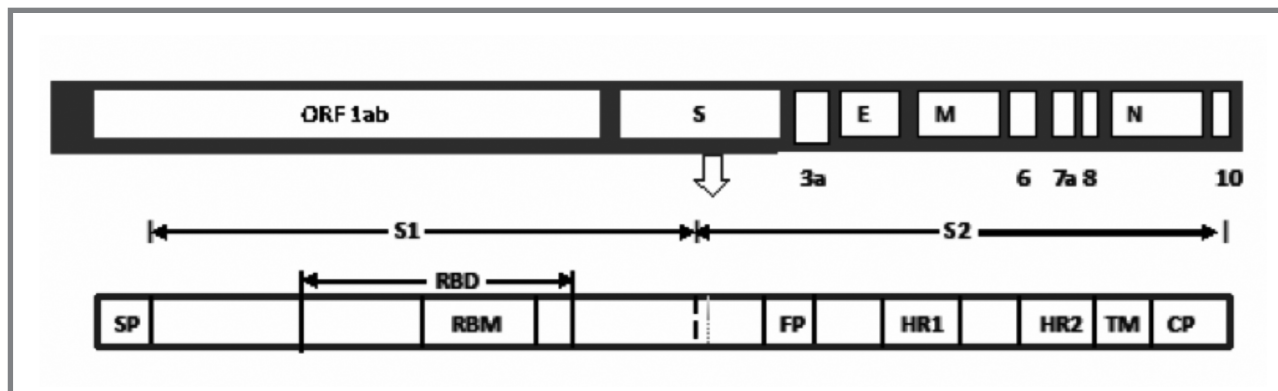
В отличие от NP вирусов гриппа, в N- белке коронавирусов содержание аргинина и лизина практически совпадают. Но у вирусов гриппа в NP более высокое содержание положительно и отрицательно заряженных аминокислот, чем в N-белке у коронавирусов, а разница между этими аминокислотами по содержанию существенно выше у N-белков коронавирусов: 24 против 11. Среди представленных в таблице 3 коронавирусов лишь MERS-CoV заметно отличается от трех других их представителей по N-белку. Если принять, что SARS-CoV-2 ведет свое происхождение от коронавирусов летучих мышей, наследуя структурные особенности их N-белка в своем N- белке и способность сохранять жизнеспособность в широком диапазоне температур как окружающей среды, так и организма хозяина, то следует ожидать, что длительность пандемического (эпидемического) сезона Covid-19, по сравнению с гриппом, будет более протяженной, стартуя медленно поздней осенью и продолжаясь до окончания весны. Сама же температура человеческого тела приходится на медиану физиологического интервала колебания температуры тела летучих мышей, что, вероятно, благоприятствовало прямому переносу коронавирусов летучих мышей на человека.

Как и у других представителей *Coronavirinae*, в N-белке SARS-CoV-2 отсутствует цистеин, что, по-видимому, связано с особенностями укладки геномной РНК в вирион. С наиболее крупными размерами геномной РНК у коронавирусов невозможно обойтись без ее укладки в виде множества налагающихся друг на друга динамических петлевых фигур. Наличие цистеинов в структуре N-белка и образование ими дисульфидных связей служили бы препятствием как при формировании плотной

упаковки рибонуклеопротеина в вирионе, так и при высвобождении его при репликации. В отличие от других структурных белков, запреты в составе гена N-белка на триплеты UGC и UGU, кодирующие цистеин, жестко ограничивает в нем мутации по триптофану, тирозину и фенилаланину; меньшие ограничения проявляются по содержанию серина, аргинина и глицина, кодируемых большим количеством триплетов.

Для описания особенностей изменения S-белка коронавируса обратимся сначала к рисунку 2, где приведена схема организации генома и его S-белка.

Последний функционирует в вирионе в виде тримера, и им осуществляется вход вируса в клетку через взаимодействие с клеточным рецептором. У SARS-CoV им является ангиотензин-конвертирующий фермент 2, распределенный в различных тканях человека [6]. Для выполнения своей функции S-белок подвергается серии структурных перестроек, позволяющих экспонировать его пептид слияния. Функционально в S-белке различают три области: эктодомен, связывающийся непосредственно с клеточным рецептором, индуцируя процесс слияния вириона с клеткой, трансмембранный и короткий цитоплазматический домены. В S-белке различают 2 субъединицы: S1 и S2. S1 субъединица формирует головку S-белка, и в ее С-концевой области располагается рецептор-узнающий домен, а в S2 субъединице – пептид слияния, к которому прилегают последовательно два гептадных повтора, трансмембранный и цитоплазматический домены. Под влиянием активации протеаз, локального сдвига pH и связывания ионов Ca^{2+} происходит расщепление S на S1 и S2 (ориентируясь на S-белок SARS-CoV, предполагаемый сайт расщепления в S-белке SARS-CoV-2 приходится на позицию 697) с экспонированием пептида слияния, реализующего образование эндосомы, включающей в себе вирус.

Рисунок 2. Схема организации генома коронавируса SARS-Cov-2 и доменов в его S-белке**Figure 2. Schematic representation of the genome organization (top) and functional domains of S-protein (bottom) for SARS-Cov-2**

Примечание. В верхней части приведена схема расположения в геноме SARS-Cov-2 последовательностей, кодирующих белки, в нижней – схема доменов S-белка. Обозначения: ORF1ab – полипротеин 1ab, S – спайковый, E – мембранный, M – мембранный, N – нуклеопротеиновый белок, 3a, 6, 7a, 8 and 10 – дополнительные белки, SP – сигнальный пептид, RBD – рецептор-связывающий домен, RBM – рецептор-связывающий мотив, FP – пептид слияния, HR – гептадный повтор, TM – трансмембранный домен, CP – цитоплазматический домен.

Notes: ORF1ab – orf1ab polyprotein, S – spike, E – envelope, M – membrane, and N – nucleocapsid, proteins, S1 and S2 are the subunits of the S protein, CP – cytoplasm domain, FP – fusion peptide, HR – heptad repeat, RBD – receptor-binding domain, RBM – receptor-binding motif, SP – signal peptide; TM – transmembrane domain, 3a, 6, 7a, 8 and 10, the accessory genes

Две функционально разные субъединицы в S-белке SARS-Cov-2 проявляют разные тенденции в изменении их первичной структуры. Длина S-белка увеличилась на 18 аминокислот, и на рисунке 3 видно, весь этот прирост приходится на S1 субъединицу. За исключением цистеина, пролина, тирозина и триптофана, доли большинства аминокислот в нем подверглись существенным изменениям (см. табл. 1). Особенно следует отметить возрастание доли основных аминокислот (аргинина, лизина и гистидина) при большем снижении числа дикарбоновых аминокислот. Для уточнения локализации этих изменений в таблице 1 приводятся дополнительно данные по аминокислотному составу каждой из субъединиц S-белков SARS-Cov-2 и SARS-CoV. Примечательно, что в S1 субъединице на 6 остатков возросла доля аргинина при уменьшении на 1 остаток лизина

и на 7 остатков уменьшилась доля дикарбоновых аминокислот. Результатом этих изменений в количественных соотношениях основных (без учета доли гистидина) и кислых аминокислот (59 : 54) S1 субъединица SARS-Cov-2 обрела положительную заряженность, свойственную поверхностным белкам вирусов с известной высокой контагиозностью: гриппа, кори, паротита и краснухи, гепатита А и Е, а также ротавирусов (табл. 3), и это дает основание предположить, что положительная полярность поверхностных белков вирусов служит молекулярным маркером их высокой контагиозности. Кроме того, в основном в S1 сосредоточены все существенные изменения по содержанию других аминокислот. Выявленные особенности первичной структуры S1 позволяют спрогнозировать отсутствие (либо слабое взаимодействие) перекрестного взаимодействия SARS-Cov-2 с антителами к SARS-CoV. В S2

Таблица 3. Аминокислотный состав поверхностных белков контагиозных вирусов.**Table 3. The amino acid content of the surface proteins in contagious viruses**

	K	R	H	D	E	P	C	L	I	V	A	Y	W	F	G	M	N	Q	S	T
в.краснухи (E1)/Rubella v., (E1)	9	24	17	16	21	47	24	34	11	40	55	16	15	13	46	3	12	17	22	39
в.краснухи (E2)/Rubella v., (E2)	1	19	20	10	4	30	15	28	2	14	36	6	9	6	30	6	6	9	10	21
в.краснухи (CP)/Rubella v., (CP)	3	41	6	16	17	40	2	20	3	12	32	4	7	6	29	5	5	15	17	20
в.паротита (HN)/Mumps v., (HN)	16	21	7	18	17	34	17	56	37	41	31	27	7	26	38	12	44	25	57	51
в.паротита (F)/Mumps v., (F)	19	17	8	14	18	16	14	57	61	37	48	16	2	15	17	9	38	36	61	35
в.кори (H)/Measles v., (H)	31	32	16	34	27	35	13	65	35	49	32	24	9	25	40	16	31	18	49	36
в.кори (F)/Measles v., (F)	22	30	8	18	24	20	15	67	50	37	40	20	2	8	47	12	25	25	53	33
в.гриппа (HA)/Influenza v., (HA)	42	18	15	26	35	20	15	46	37	36	34	27	10	19	40	7	41	15	47	36
ротавирус X (VP4)/Rotavirus, (VP4)	57	36	13	53	42	27	6	65	60	46	45	38	4	41	44	18	53	34	71	70
ротавирус C (VP4)/Rotavirus, (VP4)	35	32	9	47	23	24	5	55	58	47	38	40	12	33	35	18	66	27	82	58
в.гепатита A (VP2)/Hepatovirus A, (VP2)	8	8	9	9	12	10	2	21	13	20	13	10	3	10	15	2	8	14	16	19
в.гепатита A (VP3)/Hepatovirus A, (VP3)	10	11	5	13	7	13	7	15	14	20	17	10	4	16	11	7	13	13	18	22
в.гепатита E (CP)/Hepatovirus E, (CP)	10	49	12	30	23	53	4	66	22	44	70	24	7	18	52	9	23	25	55	64

Примечание: в скобках указана принятая аббревиатура поверхностных белков вирусов.

Note: the protein abbreviations (according to <http://www.nextprot.org>) are in parentheses.

Рисунок 3. Выравненные первичные структуры S-белков SARS-Cov-2 и SARS-CoV
Figure 3. The alignment of the coronavirus S sequences

```

1 MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTTRTQ--LPPAYTN--SFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQDLFL
1 MF+FL+ L L S ++ T P YT S RGVYYPD++FRS L+ TQDLFL
1 MFIFLLFLTLTSGSGLDRCTTFDDVQAPNYTQHTSSMRGVYYPDEIFRSDTLTLYLQDLFL
57 PFFSNVTWFHAIHVSNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFGTTLDSKTQS
61 PF+SNVT FH I+ F NPV+PF DG+YFA+TEKSN++RGW+FG+T+++K+QS
61 PFYSNVTGFHTIN-----HTFGNPVIPPFGDGIYFAATEKSNVVRGWVFGSTMNKKSQS
117 LLIVNNATNVVIKVFCEFOFCNDPFLGVYHKNKSWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPF
++I+NN+TNVVI+ C F+ C++PF V + ++ ++ +A NCTFEY+S F
114 VIIINNSTNVVIRACNFELCDNPFPAV----SKPMGTQTHMTLFDNAFNCTFEYISDAFS
177 MDLEGGKQGNFKNLREFVFNIDGYFKIYSKHTPINLVRDLPOGFSALEPLVDLPIGINIT
+D+ K GNFK+LREFVFNK DG+ +Y + PI++VRDLP GF+ L+P+ LP+GINIT
170 LDVSEKSGNFKHLREFVFNKDGFLYVYKGYQPIDVVRDLPSGFNTLKPIFKLPLGINIT
237 RFQTLALHRSYLTPGDSSSGWTAGAAAYVGYLQPRTEFLKYNENGTITDAVDCALDPL
F+ +L + +P W AAAY+VGYL+P TE+LKY+ENGTITDAVDC+ +PL
230 NFRAIL----TAFSPAQDI--WGTSAAAYFVGYLKPTTFMLKYDENGITITDAVDCSQNPL
297 SETKCTLSKFTVEKGIYQTSNFRVOPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASVYAWNRK
+E KC++KSF ++KGIYQTSNFRV P+ +VRFPNITNLCPFGEVFNAT+F SVYAW RK
284 AELKCSVKSFEIDKGIYQTSNFRVVPVSGDVVRFPNITNLCPFGEVFNATKFPVYAWERK
357 RISNCVADYSVLVNSASFSTFKCYGVSPTKLNLDLCTNVYADSFVIRGDEVROIAPGQTG
+ISNCVADYSVLVNS FSTFKCYGVS TKLNLDLCTNVYADSFV++GD+VRQIAPGQTG
344 KISNCVADYSVLVNSTFFSTFKCYGVSATKLNLDLCTSNVYADSFVVKGDVVRQIAPGQTG
417 KIADYNYKLPPDFTGCVIAWNSNNLDSKVGNGYNYLYRLFRKSNLKPFFERDISTEYQAG
IADYNYKLPPDDF GCV+AWN+ N+D+ GNYNY YR R L+PFFERDIS +
404 VIADYNYKLPPDDFMGCVLAWNTRNIDATSTGNYNYKYRYLRHGKLRPFFERDISNVFSPD
477 STPCNGVEGFNCYFPLOSYGFPQPTNGVGYQPYRVVLSFELLHAPATVCGPKSTNLVKN
PC NCY+PL YGF T G+GYQPYRVVLSFELL+APATVCGPK ST+L+KN
464 GKPCPT-PALNCYWPLNDYGFYTTTGIGYQPYRVVLSFELLNAPATVCGPKLSTDLKN
537 KCVNFNFNGLTGTGVLTESNKKFLPFOQFGRDIADTTDAVRDPOTLEILDITPCSFGGVS
+CVNFNFNGLTGTGVL T S+K+F PFOQFGRD++D TD+VRDP+T EILDI+PC+FGGVS
523 QCVNFNFNGLTGTGVLTPSSKRFQPFQFGRDVSDFTDSVRDPKTSEILDISPACFGGVS
597 VITPGTNTSNQAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCLIGAEHV
VITPGTN S++VAVLYQDVNCT+V AIHADQLTPT WR+YSTG+NVFQT+AGCLIGAEHV
583 VITPGTNASSEVAVLYQDVNCTDVSTAIHADQLTPTAWRIYSTGNVVFQTOAGCLIGAEHV
657 NNSYECDIPIGAGICASYQTQNSPRRARSVASQSIIAYTMSLGAENSVAYSNNSIAIPT
+ SYECDIPIGAGICASY T + RS + +SI+AYTMSLGA++S+AYSNN+IAIPT
643 DTSYECDIPIGAGICASYHTVS----LLRSTSQKSIVAYTMSLGAESSIAYSNNITIAIPT
717 NFTISVTEILPVSMTKTSVDCMYICGDSTECNLLQYGSFCTQLNRALTGLIAVEQDK
NF+IS+TTE++PVSM KTSVDC MYICGDSTEC+NLLQYGSFCTQLNRAL+GIA EOD+
699 NFSISITTEVMPVSMKTSVDCNMYICGDSTECANLLQYGSFCTQLNRALSGIAAEQDR
777 NTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGFNFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLDAGFIKO
NT+EVFAQVKQ+YKTP +K FGGFNFSQILPDP KP+KRSFIEDLLFNKVTLDAGF+KQ
759 NTREVFAQVKQMYKTPTLKYPFGGFNFSQILPDPLKPTKRSFIEDLLFNKVTLDAGFMKQ
837 YGDCLDIAARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAAIQI
YG+CLGDI ARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDMIA YT+AL++GT T+GWTFGAGAAIQI
819 YGECLDINARDLICAQKFNGLTVLPPLLTDDMIAAYTAALVSGTATAGWTFGAGAAIQI
897 PFAMQAYRFGNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNQSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNA
PFAMQAYRFGNGIGVTQNVLYENQKLIANQFN AI +IQ+SL++T++ALGKLQDVVNQNA
879 PFAMQAYRFGNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNKAISQIQESLTTTSTALGKLQDVVNQNA
957 QALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRDLKVEAEVQIDRLITGRLOSLQTYVTQQLIRAA
QALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRDLKVEAEVQIDRLITGRLOSLQTYVTQQLIRAA
939 QALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRDLKVEAEVQIDRLITGRLOSLQTYVTQQLIRAA
1017 EIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGHYHLSFPQAPHGCVVFLHVTVVPAQEKNT
EIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGHYHLSFPQ+APHGCVVFLHVTVVPAQEKNT
999 EIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGHYHLSFPQAPHGCVVFLHVTVVPSQERNFT
1077 TAPAICHGDKAHFPREGVFSNGTHWFVTORNFYEQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNT
TAPAICH+GKA+FPREGVFN NGT WF+TORNF+ PQIITTDNTFVSGNCDVVIGI+NNT
1059 TAPAICHEGKAYFPREGVFNNGTSWFITQRNFFSPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIINNT
1137 VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNES
VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNES
1119 VYDPLQPELDSFKEELDKYFKNHTSPDVLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNES
1197 LIDLQELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMTIIMLCMTSCCSCCLKGCCSCGSCCKF
LIDLQELGKYEQYIKWPWY+WLGFIAGLIAIVMTI+LCCMTSCCSCCLKG CSCGSCCKF
1179 LIDLQELGKYEQYIKWPWYVWLGFIAGLIAIVMTIILCCMTSCCSCCLKGACSCGSCCKF
1257 DEDDSEPVKGVKLHYT 1273 (a.k.)
DEDDSEPVKGVKLHYT
1239 DEDDSEPVKGVKLHYT 1255 (a.k.)

```

Примечание. Первая и третья строки – соответственно S-белки SARS-Cov-2 и SARS-CoV, вторая строка – «выровненная» последовательность.
Note: The first and third lines are the S-proteins of SARS-Cov-2 and SARS-CoV accordingly, the second line is its aligning sequence.

субъединице SARS-Cov-2 количественное соотношение основных и кислых аминокислот (44:56) близко к таковому для S2 субъединицы SARS-CoV(45:54), т. е. в ней сохранилась отрицательная полярность, а точнее – она даже усилилась, так как уменьшилась доля аргинина. С учетом меньших изменений в содержании других аминокислот S2 субъединицу можно рассматривать как более консервативную, чем S1 субъединицу.

Множество изменений в первичной структуре S1 субъединицы (протяженные вставки и замены, приобретение положительной полярности), затрагивающих и ее рецептор-связывающей домен, допускает предположение об изменении специфичности, которая могла бы проявляться в ее расширении, т. е. приобретением этим доменом способности узнавать нескольких рецепторов, что расширяет тропность и, соответственно, облегчает и ускоряет трансмиссивность и чем можно было бы объяснить высокую контагиозность SARS-Cov-2. Реальным примером того, что увеличение размеров распознающей молекулы влечет у нее полиреактивность, служат антитела с перекрестной нейтрализующей активностью, выделенные как у пораженных ВИЧ пациентов, так и у пациентов, перенесших грипп. Характерная особенность таких антител в аномальной структуре – более длинные переменные структуры Н-цепей, порождаемые множеством соматических мутаций их генов в герминальных центрах В-клеток [7,8]. Кроме того показано, что диверсификация V-области антител может реализоваться неканоническим путем – вставкой длинных пептидных фрагментов из других белков [9]. Необычность структуры S-белка SARS-Cov-2, по сравнению с таковой SARS-CoV, проявляется множеством протяженных вставок в ее S1 субъединице, что порождает сомнения о естественном их происхождении. Из 4 вставочных пептидов VSGTNGT был найден среди 12 000 белков человека только в ассоциированном с лизосомой гликопротеине 1; YYHK встречался лишь в одном белке вируса герпеса 8 и в 9 белках человека, пептиды ALHR и NSPR встречались во множестве белков человека и поражающих его вирусов. Оправданием их природного (вероятно, рекомбинантного) происхождения в S-белке SARS-Cov-2 может служить лишь протяженность эпохи (возможно, 15–17 лет) его эволюции от S-белка SARS-CoV.

Особенность генетического кода S-белка SARS-Cov-2 (как наиболее длинного среди поверхностных белков вирусов) – исключение из него триплетов CGA и CCA, кодирующих соответственно аргинин и пролин – отсутствующая в таковом у SARS-CoV. С целью уточнения, какие запреты приходятся на каждую субъединицу S-белка SARS-Cov-2, был выполнен анализ генетического кода обеих субъединиц. У S1 в генетическом коде исключены триплеты CCG (пролин), CGC и CGA (аргинин), а у S2 – GGG (глицин), TCG (серин), CGG и CGA (аргинин) (см. рис. 1). Следовательно,

выявленные исключения триплетов из генетического кода распространяются на весь S-белок либо избирательно на его субъединицы. В обоих случаях они служат для обеспечения структурно-функциональной консервативности S-белка. Помимо S-белков представителей *Coronavirinae*, исключение триплетов из генетического кода распространено в белках слияния класса I и у представителей *Orthomyxoviridae*, *Filoviridae*, *Pneumoviridae*, *Retroviridae*, *Arenaviridae* и *Paramyxoviridae*.

Для объяснения выявленных запретов нами выбран формат представления таблиц генетического кода (см. рис. 1), использованный для иллюстрации в нем инвариантностей [10]. В их левой половине сгруппированы квартеты триплетов одного корня, кодирующие только одну аминокислоту, а в правой – квартеты триплетов одного корня, кодирующие не одну аминокислоту. (За корень триплета приняты его первый и второй нуклеотиды.) На рисунке 1 видно, что все исключения касаются триплетов, расположенных в левой половине таблицы. Поскольку и у других вирусов исключения триплетов из генетического кода белков также связано с триплетами левой половины (т.е. с теми аминокислотами, которые кодируются 4 или 6 триплетами), то эту особенность можно рассматривать как правило исключения триплетов из генетического кода белков вирусов, геном которых принадлежит АТ-типу. Оно не распространяется на короткие белки, а также на те белки, в составе которых полностью исключен цистеин, как это имеет место в N-белке SARS-Cov-2. Редко исключаемыми оказываются и те триплеты серина, которые расположены в правой половине таблицы, но это не нарушает общее правило: исключаемыми являются триплеты тех аминокислот, которые кодируются 4 или 6 триплетами.

Одно из объяснений проявления исключений триплетов из генетического кода белков заключается в том, что они связаны с сохранением структурообразующего остова (каркаса) и функциональной идентичности белка, который подвержен частым и значительным изменениям, что характерно для поверхностных белков вирусов. Исключение триплетов свидетельствует, во-первых, об ограничении возникновения синонимических мутаций в пределах того квартета, из которого исключен или исключены триплеты. Во-вторых, налагается запрет мутирования в исключенный триплет триплетов других аминокислот, что находится в таблице генетического кода на одной вертикали или горизонтали, проходящие через исключенный триплет. Позиции этих аминокислот, по-видимому, являются важными для структурно-функциональной идентичности белка. Для их выявления полезно иметь в виду, что большинство мутаций совершается путем транзиций, что позволяет минимизировать при поиске число потенциальных аминокислот, на которые распространяется запрет мутирования. Однако приведенные объяснения

описывают лишь последствия исключения триплетов из генетического кода белка, не раскрывая, почему запрещенный триплет не может использоваться для кодирования той аминокислоты, в квартете триплетов которой введен запрет. Истинная же природа исключения триплета из квартета триплетов одного корня связана, вероятно, с разной ролью триплетов в мРНК при котрансляционном сворачивании белка. Исключение синонимического триплета, по-видимому, предотвращает варианты порождения биологически неактивных белков. Все же исключенные триплеты из генетического кода S1 и S2 субъединиц S-белка SARS-Cov-2 (как и у белков слияния класса I представителей выше упомянутых родов вирусов) характеризуются тем, что в них 2 или 3 составляющих их нуклеотида обязательно являются G и/или C. Поскольку комплементарное взаимодействие между C и G более сильное, чем между A и T, геном коронавирусов принадлежит к АТ-типу и штаммам SARS-Cov-2 не свойственна выраженная вариабельность первичной структуры S-белка, то эта особенность исключения триплетов из генетического кода S1и S2 SARS-Cov-2 связана, вероятно, с регуляцией локальной скорости элонгации трансляции.

Таким образом, в S-белке SARS-Cov-2 его S1 субъединица подверглась сильным изменениям при консерватизме S2 субъединицы, обусловленном реализацией универсальной функции формирования эндосомы с включенном в нее вируса, в то время как среди структурных белков SARS-Cov-2 белки E, M и N характеризуются консервативностью, определяемую их ролью в упаковке геномной РНК. Консервативность самих первичных структур этих белков не исключает изменение их конформаций, задаваемых вторичной и третичной структурами, поскольку для каждого из этих белков характерно множество синонимических замен в их мРНК. Вариации синонимических замен в кодонах, как известно, способны изменять котрансляционное сворачивание белков в клетке, и в случае вирусов соответственно изменять свойства вирионов. Последние могли бы проявляться в формообразовании вирионов, изменении характера упаковки генома или топографии иммунных эпитопов.

Наиболее эффективный путь предотвращения инфекционных болезней – вакцинация населения. Однако на сегодняшний день вакцина против SARS-Cov-2 пока не создана. Изменения аминокислотного состава S1 субъединицы придали ей положительную полярность, что позволяет высказать рекомендации по ее блокированию в вирусе, попавшего в дыхательные пути, используя естественные, особенно пищевые (например, лимон, ягоды), средства, органические кислоты которых закисляли бы окружение вируса. Локализованные в верхних отделах вирионы можно было бы блокировать чаепитием. Поскольку коронавирусы поражают преимущественно нижние отделы дыхательного

тракта, то эффективным средством их блокирования были бы ультразвуковые ингаляции слабых кислых растворов, не столь длительные, сколько частые, особенно в начальной стадии инфекции. Прием аскорбиновой кислоты, по-видимому, также может быть рекомендован для блокировании трансмиссии SARS-Cov-2. Закисление окружения вириона, нейтрализуя положительно заряженные аминокислоты, экспонированные к водной фазе, изменит конформацию S-белков в составе их тримеров, что будет блокировать их взаимодействие с клеточным рецептором. На стадии развившейся пневмонии эти рекомендации могут оказаться уже неэффективными и необходима симптоматическая терапия.

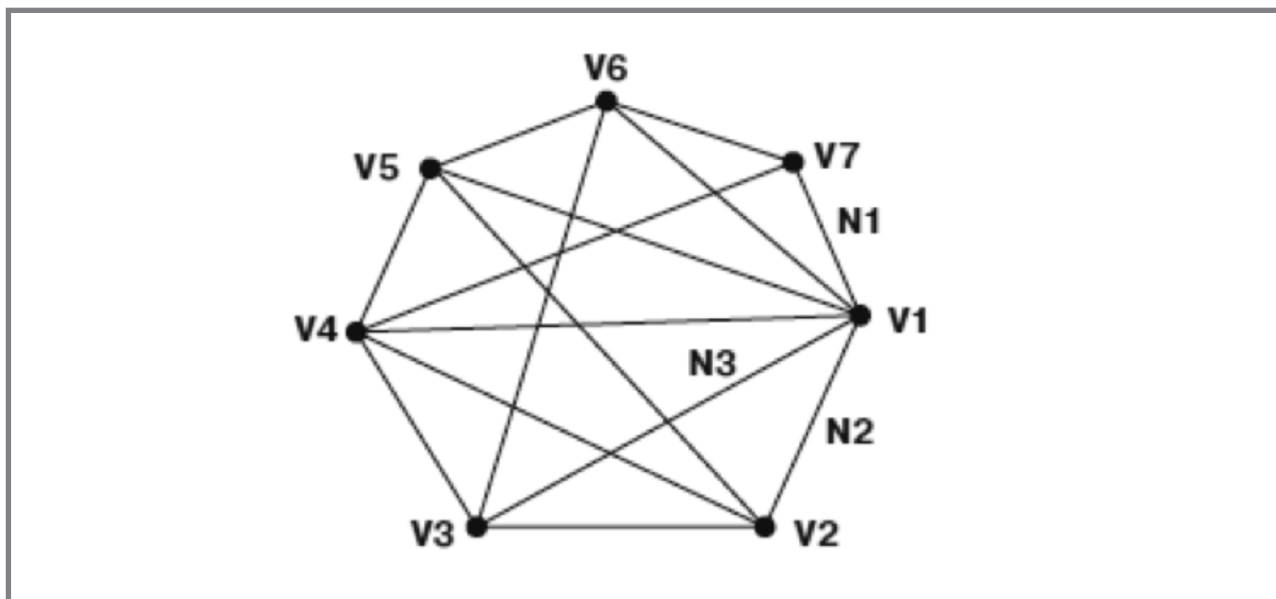
Что касается восприимчивости человека к SARS-Cov-2, то она определяется свойствами самого вируса противостоять ИС хозяина и подвержена влиянию как коллективных, так и индивидуальных факторов. В числе первых географические (температура, влажность, радиация), этногенетические, культуральные факторы и характер национальных программ вакцинопрофилактики, формирующих в государстве коллективный иммунитет населения. В индивидуальном плане она будет в первую очередь зависеть от возраста, состояния ИС, личной инфекционной и иммунной историей. Последние определяется количеством и составом воспринятых индивидуумом вакцинаций, перенесенными инфекциями и носительством возбудителей хронических инфекций, а в более широком плане и личным микробиомом особенно. В частности, наличие стрептококков в нижних отделах дыхательных путей может усугублять патогенез инфекционного процесса, вызываемого SARS-Cov-2. Тейхоевые кислоты клеточной оболочки грамположительных бактерий, как известно, являются полианионами, в то время как S1 субъединица SARS-Cov-2 имеет положительную полярность, что может благоприятствовать их ассоциированию друг с другом, поддерживать сохранение SARS-Cov-2 в дыхательных путях и провоцировать пневмонию смешанной этиологии (вирусной и бактериальной) аналогично тому, как это происходит, по-видимому, и в случае гриппозной инфекции, поскольку гемагглютинин вирусов гриппа характеризуется выраженной положительной полярностью.

Сейчас пришло уже понимание, что возникновение инфекционного заболевания и его клиническая картина есть результат сложного взаимодействия множества факторов, накладывающихся на патогенетические механизмы вновь вторгшегося в организм инфекционного агента. Множественность сценариев развития инфекционного заболевания в значительной степени может определяться существованием пептидного континуума родства белков (ПКРБ) человека и инфекционных агентов.

Консервативной особенностью эволюционной иерархии всех живых организмов и сопутствующих им вирусов является единство

Рисунок 4. Схематическое представление в виде графа пептидного (иммуноэпитопного) континуума родства белков

Figure 4. Schematic representation of peptide (immunoepitope) continuum of protein relationship as graph



механизмов их белок-синтезирующего аппарата и принципов структурной организации самих белков. Реализуемое в эволюции многообразие белковых последовательностей существенно меньше потенциально возможного. Основной способ увеличения размеров и числа белков, а также возникновения их разнообразия связан с генными дупликациями и их мозаичными комбинациями, причем большинство генов белков являются разорванными и составленными из разного числа экзонов и интронов [11]. При этом первичные структуры белков различных организмов (вирусов, прокариот, эукариот) обнаруживают блочное родство, то есть их последовательности родственны не по всей длине, а лишь по отдельным протяженным блокам, причем разветвленная сеть блочного родства охватывает белки, глубоко различающиеся по своим функциям. Это послужило основанием ввести понятие ПКРБ. Последний проявляется в полной мере как среди вирусов, так и между вирусами и человеком. Частным проявлением ПКРБ служит иммуноэпитопный континуум родства белков (ИЭКРБ), так как рассеянные гомологичные фрагменты в белках сравнимы с длиной иммунных эпитопов (ИЭ), презентируемых главными комплексами гистосовместимости (МНС) классов I и II соответственно Т- и В-лимфоцитам. Как известно, МНС I распознают пептиды длиной в 9 аминокислот, МНС II – в 14 аминокислот. Практически для каждого белка можно найти пептиды в 9 аминокислот из других белков, которые полностью «охватывали» бы его первичную структуру. В случае же пептидов длиной в 14 аминокислот «охватить» ими полностью первичную структуру крупных белков практически невозможно [3,11].

Распространенность ПКРБ (как и ИЭКРБ) на SARS-Cov-2 иллюстрируется наличием у него

в белках фрагментов, гомологичных белкам человека и патогенных для человека вирусов. В таблицах 4 и 5 приводятся некоторые примеры из большого числа гомологичных фрагментов длиной в 9 и 14 аминокислот S-белка и белков человека и других вирусов соответственно. Крупные размеры S-белка обуславливают его родство со множеством белков разных организмов, в том числе и с разными вирусами: эндогенным ретровирусом, со всеми вирусами герпеса, гепатитов В и С, гриппа, полиовирусом и вирусом краснухи. Особенно следует отметить наличие множества гомологичных последовательностей между S-белком SARS-Cov-2 и структурными белками респираторно-синцитиального вируса, что при общности обоих вирусов по тканевому тропизму и хозяевам позволяет объяснить их родство проявлением обоюдной генетической рекомбинации, хотя их геномные РНК имеют разные полярности. ПКРБ (как и ИЭКРБ) схематично можно было бы представить в виде графа, узлами которого (точки на графе) являются сами вирусные белки. Каждый узел (белок) в графе может быть идентифицирован длиной белка либо его первичной структурой. Соединяющие узлы графа ребра указывают на наличие у них родственных пептидов, а числовые значения N над ребрами (на рис. 4 в качестве примера условно представлены N только на 3 ребрах) отражают число таких родственных пептидов у соответствующей пары вирусных белков.

Проявление ИЭКРБ при инфекциях не будет простым и однонаправленным и зависит от отношения патоген–хозяин. Возбудители могут вызывать в организме необратимые или трудно обратимые состояния, не контролируемые ИС. Одна из причин – наличие у инфекционного патогена специальных механизмов, позволяющих ему избегать ИС

Таблица 4. Гомологичные фрагменты S-белка SARS-Cov-2 и белков других вирусов
Table 4. The homologous fragments of the SARS-Cov-2 S-protein and other virus proteins

P V A I H A D Q L (621-629)	S-белок, SARS-Cov-2/S protein , SARS-Cov-2
P V N I D A D Q L (387-395)	Gag полипротеин,ERV K 113/ Gag polypeptide,ERV K member 113
T Q E V F A Q V K (778-786)	S-белок, SARS-Cov-2/S protein , SARS-Cov-2
T Q S V Q A Q V K (733-741)	гликопротеин B, HHV 7/envelope glycoprotein B, HHV 7
A Q V K Q I Y K T (783-791)	S-белок, SARS-Cov-2/S protein , SARS-Cov-2
A Q V K T I F K T (132-140)	ДНК геликаза,HHV 6A/DNA replication helicase HHV 6A
S S S G W T A G A (254-262)	S-белок, SARS-Cov-2/S protein , SARS-Cov-2
S S S I W A A G A (212-220)	рибонуклеозид-дифосфат редуктаза,HHV2/ ribonucleoside-diphosphate reductase,HHV 2
L V L L P L V S S (5-13)	S-белок, SARS-Cov-2/S protein , SARS-Cov-2
L C D L P L V S S (471-479)	ранний фосфопротеин p84, HCMV/early phosphoprotein p84, HCMV
G G F N F S Q I L (798-806)	S-белок, SARS-Cov-2/S protein , SARS-Cov-2
S G F N F S Q I D (610-618)	гликопротеин оболочки,HHV 8/Envelope glycoprotein HHV 8 type
D I A D T T D A V (568-576)	S-белок, SARS-Cov-2/S protein , SARS-Cov-2
D L A D T K D A V (1614-1622)	денеддилаза, HHV 1/ deneddylase, HHV 1
F N G I G V T Q N (906-914)	S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
F N W T G V T Q N (141-149)	гемагглютинин,вирус гриппа H3N2/hemagglutinin, H3N2
T N S P R R A R S (678-686)	S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
T P S P R R R R S (189-197)	e антиген, вирус гепатита B/e antigen, HBV
E K G I Y Q T S N (309-317)	S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
E K G I L F T S N (1335-1343)	полипротеин, полиовирус/polypeptide, poliovirus
T A P A I C H D G (1077-1085)	S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
T A P A P C H A G (119-127)	E2-белок, вирус краснухи/E2 envelope protein,rubella virus
D C T M Y I C G D (737-745)	S-белок, SARS-Cov-2/S protein , SARS-Cov-2
D C T M L V C G D (2730-2738)	полипротеин, HCV/polypeptide, HCV

Notes: ERV- human endogenous retrovirus, HHV – human herpes virus, HCMV – human cytomegalovirus, HBV – hepatitis B virus, HCV – hepatitis C virus, H3N2 –influenza virus H3N2

Problem-Solving Article

Таблицы 5. Гомологичные фрагменты S-белка SARS-Cov-2 и белков человека

Table 5. The homologous fragments of the SARS-Cov-2 S protein and human proteins

Н	Л	М	С	Ф	Р	Q	С	А	Р	Н	Г	В	В	(1048-1061) S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
Н	Л	Р	С	Ф	Q	Q	С	А	Ф	Н	Р	В	В	(1312-1325) лизин-специфическая деметилаза 5a/Lysine-specific demethylase 5A
С	С	В	Л	Н	С	Т	Q	Д	Л	Ф	Л	Р	Ф	(45-58) S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
С	С	Р	Л	С	Л	Т	Q	Д	Е	Ф	Н	Р	Ф	(3-16) ядерный фактор 1 С типа/Nuclear factor 1 C-type
Т	Г	В	Л	Т	Е	С	Н	К	К	Ф	Л	Р	Ф	(549-562) S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
Т	И	Ф	Л	Т	Е	С	Н	К	С	В	Л	Q	Ф	(280–293) калиевый потенциал-зависимый канал/Potassium voltage gated channel subfamily B member 2
С	Л	С	С	Т	А	С	А	Л	Г	К	Л	Q	Д	(937-950) S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
С	Л	С	С	Т	А	Т	В	Л	Л	В	Л	Е	Д	(655-668) протокадгерин гамма C5/Protocadherin gamma-C5
Q	К	Е	И	Д	Р	Л	Н	Е	В	А	К	Н	Л	(1180-1193) S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
Q	Е	Е	И	В	Р	Л	Н	С	К	К	К	Н	Л	(478-491) интерсектин-2/Intersectin-2
Е	Л	Д	С	Ф	К	Е	Е	Л	Д	К	Y	Ф	К	(1144-1157) S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
Е	Л	А	С	Н	К	Е	W	Л	Д	К	И	Е	К	(1322-1335) спектрин бета-цепь/Spectrin beta chain
М	Ф	В	Ф	Л	В	Л	Л	Р	Л	В	С	С	Q	(1-14) S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
М	Д	Р	Ф	Л	В	Л	Л	Н	С	В	С	С	С	(1-14) Fas-ассоциированный белок с доменом смерти/FAS-associated death domain protein
Т	Р	Г	Д	С	С	С	Г	W	Т	А	Г	А	А	(250-263) S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
Т	Т	Г	С	С	С	С	Г	В	Т	Л	Г	И	А	(1635-1648)муцин-16/Mucin-16
Т	Г	Р	Л	Q	С	Л	Q	Т	Y	В	Т	Q	Q	(998-1011) S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
К	Г	Л	В	Q	А	Л	Q	Т	К	В	Т	Q	Q	(1142-1155) синтаза жирной кислоты/Fatty acid synthase
Т	Р	Г	В	Y	Y	Р	Д	К	В	Ф	Р	С	С	(33-46) S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
Т	Р	Г	Ф	Т	А	Р	С	К	Н	Ф	Р	С	С	(271-284) аносмин-1/Anosmin-1
С	Ф	К	Е	Е	Л	Д	К	Y	Ф	К	Н	Н	Т	(1147-1160)S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
Q	Ф	К	Е	Е	И	С	К	Р	Ф	К	С	Н	Т	(60-73) убиквилин-1/Ubiquilin-1
А	Т	К	М	С	Е	С	В	Л	Г	Q	С	К	Р	(1026-1039)S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
Т	Т	Д	Д	С	И	С	В	Л	Г	И	С	К	Р	(712-725) 6-фосфофруктокиназа тип C/6-phosphofructokinase type C

T T L D S K T Q S L L I V N (108-121) S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
 | | | | | | | | |
 S T L D S S T G S L L K T N (377-390) внутриядерный мембранный белок/Inner
 nuclear membrane Protein
 I T G R L Q S L Q T Y V T Q (997-1010) S-белок, SARS-Cov-2/S protein, SARS-Cov-2
 | | | | | | | | |
 I T E Y L A S L S T Y N D Q (10-23) интерлейкин-33/Interleukin-33

хозяина. Каждый вирус обладают своим набором механизмов «преодоления» ИС хозяина, дезактивирующих его врожденный и адаптивный иммунитет. В качестве триггеров, запускающих патологические реакции в организме могут, выступать как продукты транскрипции и репликации вирусного генома, так и вирусные белки. Особенность инфекций – нарушение выделительных процессов и накопление в организме продуктов распада вызвавшего ее агента, приводящие к РНК- и/или ДНКемии и пептидемии. Высвобождаемые при деградации фрагменты вирусных компонентов являются активными соучастниками дезорганизации ИС и полисистемного поражения организма в результате нарушения его глобального регуляторного континуума. (Под последним понимается совокупность всех регуляторных систем организма, способных реагировать на возникающие внешние и внутренние стимулы). Именно фрагменты протеолиза инъецированных в организм вакцин обуславливают их реактогенность и поствакцинальные осложнения, поскольку защитная реакция ИС на «несвое» проявляется в его уничтожении. Применительно к вирусным белкам защитная реакция ИС реализуется через последовательную протеолитическую деградацию их до аминокислот, и аргументом, подтверждающим существование такого сценария, могло бы быть выявление в вирусных белках фрагментов, гомологичных различным цитокинам, как возможных промежуточных продуктов их распада. Выщепление таких фрагментов из вирусных белков может происходить при участии как клеточных, так и вирусных протеаз. У коронавирусов протеазы запрограммированы в геноме.

Свойственное S-белку SARS-Cov-2 большее содержание лизина и аргинина, по сравнению с S-белком SARS-Cov, замечательно и тем, что он (как и N-белок) становится дополнительно мишенью клеточных протеаз трипсинового ряда, так как участниками их атаки в белках нередко служат дипептиды из аргинина и лизина, хотя описано немало отступлений от этого правила. По сравнению с другими протеазами, трипсиноподобные протеазы наиболее распространены в органах и тканях. Важным условием области доступности дипептидов из аргинина и лизина этим протеазам является отсутствие в качестве ближайшего соседа с карбоксильного конца пролина и локализация самого дипептида в такой области белка, которая не вовлечена в образование структур более сложного

порядка. Наличие в первичной структуре S-белка SARS-Cov-2 четырех дипептидов из аргинина и лизина потенциально увеличивают выщепление из него более разнообразного репертуара вирусных пептидов со своим спектром патофизиологического действия, влияющего на регуляторный континуум организма и определяющего специфику патогенеза инфекционного процесса. Не исключено, что и особенности метаболизма S-белка коронавируса, как наиболее сильно (по сравнению с их другими белками) варьирующего по своей первичной структуре, входят в число скрытых факторов, обуславливающих уникальность и разнообразие коронавирусов.

Для организма особенно опасные и тяжелые проявления вирусной инфекции связаны с иммуносупрессией и цитокиновым штормом. Последний характеризуется системной, потенциально летальной воспалительной реакцией и увеличением во много раз в циркуляции концентрации цитокинов, что ведет к развитию тяжелой клинической картины. Эта неконтролируемая активация ИС поддерживается, возможно, не только высвобождаемыми ее же клетками цитокинами, но и продуктами распада белков (гомологичными различным цитокинам) активно размножающихся в организме вирионов. Анализ показал, что S-белок SARS-Cov-2 содержит в своей первичной структуре множество фрагментов, гомологичных различным белкам ИС: интерлейкинам, интегринам, различным рецепторам и компонентам комплемента. Примечательно, что хотя S-белок SARS-Cov-2 длиннее S-белка SARS-CoV, в нем заметно меньше последовательностей, гомологичных белкам ИС, чем возможно объясняется меньшая от SARS-Cov-2 летальность.

Другая причина отягощения инфекционного процесса связана непосредственно с ИЭКРБ. В частности, максимальный уровень связности вирусных белков с белками человека по пептидам длиной в 9 аминокислот должен бы обуславливать слабую «видимость» их для CD8 Т-лимфоцитов, поскольку из организма элиминируются способные к их распознаванию CD8 Т-лимфоциты, и лишь частичную распознаваемость пептидов длиной в 14 аминокислот как чужеродных CD4 Т-лимфоцитами. Частичная распознаваемость ИЭ вирусных белков как чужеродных CD4 Т-лимфоцитами сужает их потенциал реагирования на вирус и объясняет феномен иммунной доминантности в аспекте способности ИС реагировать лишь на часть ИЭ из их

большого множества [11]. Индукция же иммунного ответа на вирус ведет к появлению в организме антител, способных распознавать и блокировать, соответственно, те белки хозяина, которые содержат родственные белкам вируса пептидные фрагменты, и к возникновению аутоиммунного заболевания.

Ярким примером проявления ПКРБ (и ИЭКРБ) служит гетерологичный иммунитет, под которым понимается феномен реактивации вторым неродственным вирусом Т- и В-клеток памяти, генерированных ранее в ответ на перенесенную инфекцию другим (первым) вирусом, когда белки обоих вирусов содержат гомологичные последовательности. (Гетерологичный иммунитет на инфекционный агент может быть обусловлен и предшествовавшими ему вакцинациями против других инфекционных агентов.) При этом влияние активированных Т- и В-клеток памяти может быть двояким. Если вновь синтезируемые антитела к первому вирусу способны нейтрализовать второй вирус, то это ослабляет инфекционный процесс, вызванный вторым вирусом. При отсутствии нейтрализующей активности наблюдается иммунная коллизия: цитокиновая дисрегуляция, проявляющаяся цитокиновым штормом и усилением воспаления и вызванным им гибелью клеток, отягощающими течение инфекции, вызванной вторым вирусом.

В числе других проявлений иммунных коллизий, вызываемых гетерологичным иммунным ответом, разрушение пула клеток памяти ИС, изменение клеточного репертуара ИС и паттернов иммунодоминантности эпитопов, предрасположенность к возникновению аутоиммунных болезней, селектирование вариантов вирусных ИЭ, избегающих иммунное узнавание, изменение патогенеза вирусной инфекции и специфики ее протекания, а также регуляции цитокинов для контроля инфекции [4,12–14]. При тяжелом течении инфекционного процесса есть основание заподозрить причастность к этому гетерологичного иммунного ответа. Сложности распознавания его связаны с необходимостью анализа репертуара Т- и В-лимфоцитов с идентификацией специфичности их рецепторов. Проведение такого анализа, как правило, невозможно в условиях обычной больницы. Поэтому патогенез гетерологичного иммунного ответа остается скрытым, и для клинициста он предстает явно чаще всего осложненным и тяжелым течением инфекционного процесса.

Выявленная биоинформационным анализом иммуноэпитопная связность S-белка коронавируса с белками других вирусов потенциально способна порождать разные формы течения вызываемого им респираторного синдрома, провоцируя в дополнение к нему обострение латентных либо хронических инфекций у пациента. Она охватывает разные вирусы (табл.4), и активация клеток

памяти, генерированных ИС на их присутствие в организме, способна порождать непредсказуемые сценарии иммунных коллизий гетерологичного иммунного ответа, худшим из которых является смертельный исход.

В этой связи нельзя не заметить, что, по сравнению со взрослыми, инфекционная история детей намного беднее, а иммунная (вакцинная) история «свежее», и проявление гетерологичного иммунитета у детей будет отличаться от такового у взрослых. Ранее эпидемиологические данные по проявлению гетерологичного иммунитета при вакцинации детей показали, что живые вакцины, подобно живой вакцине БЦЖ или аттенуированной коревой вакцине, имели протективный эффект, снижая заболеваемость и смертность от неродственных патогенов, что, возможно, связано со снижением чувствительности к инфекциям. Напротив, комбинированная вакцина против дифтерии, столбняка и коклюша ассоциировалась с вредными эффектами, как, например, с увеличением смертности от возбудителей, неродственных патогенам вакцины [15]. Вряд ли вызовет возражение мнение экспертов ВОЗ, признавших, что вакцины могут иметь гетерологичные (положительные и отрицательные) и неспецифические эффекты, и не представляется удивительным или неожиданным выявление связи между смертностью от COVID-19 в разных странах и тем, как давно и насколько широко в них применяли предназначенную для борьбы с туберкулезом вакцину БЦЖ [16]. Возможно, по этой причине у детей отмечается наименьшая уязвимость к поражению SARS-Cov-2, как и проявление связи прививки вакцины БЦЖ со снижением уровня заражения им населения.

Выявленный феномен с вакциной БЦЖ частично объясним концепцией ПКРБ (и ИЭКРБ) [11]. Геном микобактерий, из которых готовится вакцина БЦЖ, по крайней мере на 2 порядка больше, чем геном коронавирусов, и поэтому в составе белков микобактерий содержится множество фрагментов, гомологичных белкам коронавирусов. При инфицировании последними происходит активация иммунных клеток памяти, сформировавшихся в результате прививки вакцины БЦЖ и обладающих перекрестной специфичностью к белкам коронавирусов, т.е. против вируса включаются механизмы гетерологичного иммунитета. Им же можно было бы объяснить и эффективность поливалентных вакцин, состоящих из комбинации компонентов бактериального и вирусного происхождения и обеспечивающих защиту от совершенно разных по своей природе инфекций.

Для объяснения широкого протективного эффекта вакцины БЦЖ следует иметь в виду и вовлеченность в него других механизмов ИС. Изготавливаемая из туберкулезных микобактерий, вакцина БЦЖ содержит все классы биомолекул: нуклеиновые кислоты, белки, углеводы, липиды и комплексы из них, и поэтому сложная реакция

на нее связана с вовлечением не только механизмов адаптивной, но и врожденной ИС, которая реализует универсальные механизмы противостояния инфекциям. В частности, антитела, представленные 5 классами иммуноглобулинов, синтезируются разными линиями В-клеток и их индукция реализуется отличными механизмами. В противоположность В2-клеткам, осуществляющим тимус-зависимый (иммуногенный) синтез иммуноглобулинов с более высокой специфичностью и переключение синтеза с IgM на IgG, В1-клетки секретируют преимущественно IgM без гипермутирования зародышевых генов иммуноглобулинов, а сам синтез иммуноглобулинов является спонтанным и конститутивным и независимым от Т-клеток, что обусловило их название – естественные антитела. Независимо от их источника общим свойством иммуноглобулинов являются полиреактивность и аутореактивность, особенно в случае естественных антител [11]. Широта терапевтических эффектов вакцины БЦЖ объясняется, по-видимому, активацией инфекционным агентом порожденных БЦЖ иммунных клеток-памяти, синтезирующих полиреактивные естественные антитела. Помимо прямой нейтрализации и опсонизации инфекционного агента, естественные антитела через их Fc фрагменты связываются с Fc-рецепторами, расположенными на поверхности разных клеток ИС, запуская антитело-зависимое усиление цитотоксичности, фагоцитоза и связывания комплимента, т.е. активируют и рекрутируют эффекторные механизмы врожденной ИС.

При наличии у коронавирусов репликазы с редактирующей способностью и нефрагментарного генома вызывают сомнения по поводу отождествления их эпидемиологии с таковой вирусов гриппа и рассмотрения сценариев будущих ежегодных сезонных возвратов коронавирусных эпидемий прежде всего из-за резких различий в скорости мутирования генома обоих вирусов. Эти сомнения подкрепляются значительной разнесенностью SARS, MERS и Covid-19 по времени возникновения. Если на протяжении сезонной эпидемии гриппа социркулирует множество штаммов вируса гриппа с резко варьирующим числом мутаций в их генах гемагглютинаина, затрагивая более 300 позиций в его первичной структуре [17], то выполненный нами анализ показал удивительное сходство первичной структуры S-белков SARS-Cov-2 среди штаммов, выделенных в разных странах в начале пандемии. На протяжении пандемии возникают мутанты SARS-Cov-2, но маловероятно, что вариабельность первичной структуры их S-белков будет сопоставима с таковой гемагглютинаина вирусов гриппа. Не исключена возможность эпидемии (продолжение пандемии) Covid-19 в новом сезоне (и даже в нескольких сезонах), поражающей оставшуюся чувствительную к нему часть населения планеты, но потенциал контагиозности распространяющихся штаммов SARS-Cov-2 быстро

исчерпается из-за медленного мутирования гена его S-белка. Потребуется годы для обретения коронавирусом новшеств в S-белке, возрождающих их контагиозность. Но весьма вероятно, что коронавирусные нашествия будут наводиться к нам почаще, чем пандемии гриппа, судя по тому, что с 2002 г. по 2019 г. мир пережил 2 подавленные коронавирусные вспышки и сегодня преодолевает пандемию, а на период с 1918 по 2009 г. приходится только 4 пандемии гриппа. Из-за резких различий между вирусами гриппа и коронавирусами в скорости репродукции их геномов предсказуема разница в скорости распространения вызываемых ими эпидемий (пандемий). Геном вируса гриппа фрагментарный, и процесс репродукции всех его генов происходит одновременно, а позднее всего завершается репродукция самого длинного PB2 гена (2310 нуклеотидов) у вируса гриппа типа В. В отличие от вируса гриппа, геном коронавирусов – одноцепочечная (+) РНК длиной около 30 000 нуклеотидов, и, следовательно, время репродукции ее более чем на порядок выше, чем время репродукции гена PB2 вируса гриппа, что и объясняет более медленное распространение коронавируса, по сравнению с вирусом гриппа, особенно на начальной стадии эпидемии (пандемии), и более длинный у него инкубационный период. Эти особенности репродукции коронавирусов, как и состояние коллективного иммунитета, нельзя не учитывать при построении моделей распространения их эпидемий (пандемий).

Общность гемагглютинаина вируса гриппа и S1 субъединицы SARS-Cov-2 по преобладанию основных аминокислот над дикарбоновыми и высокому содержанию аминокислот с полярными боковыми группами, возможно, связана с распространением этих вирусов в осенний–зимний–весенний период, обеспечивающий в окружающей среде благоприятную гидрофильную среду для их поверхностных белков. С учетом большей разницы между количеством положительно и отрицательно заряженными аминокислотами в N-белке SARS-Cov-2, по сравнению с NP вирусов гриппа, снижение распространения SARS-Cov-2 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, а сопутствующее ему снижение влажности окружающей среды деформирует связность S-белков в составе спайков из-за лишения экспонированных полярных боковых групп аминокислот (ими так богата структура S-белка, см. табл. 1) водного окружения, что в итоге должно предотвращать выживание SARS-Cov-2 во внешней среде. Однако бессимптомные вирусоносители и пораженные SARS-Cov-2 останутся в этот период основными источниками трансмиссии SARS-Cov-2 при близких контактах с ними.

Иммунные коллизии, вызываемые коронавирусами, проявляются не только в особенностях

течения вызываемой ими инфекции, но и при разработке экспериментальных вакцин, основанных на их отдельных компонентах, в частности на S-белке [18,19]. Последний является главной мишенью в вакцинологии, и остро стоит проблема, какую выбрать стратегию для получения к нему вакцины. Существенные изменения в структуре S-белка SARS-Cov-2, по сравнению с SARS-Cov и MERS-CoV, дали старт поискам вакцины в различных направлениях, и в числе гипотетически рассматриваемых как наиболее перспективные мРНК- и ДНК-вакцины [20]. При всех известных достоинствах (связанных с быстротой и масштабом производства и безопасностью), например, мРНК-вакцин, технологии их применения к другим вирусам, как и клинические оценки их, не представляются созревшими. Помимо уже известных осложнений, связанных с их введением в организм [20], следует иметь в виду, что распределение в организме используемых для их доставки наноплатформ неконтролируемо и способно вызывать токсические эффекты, затрагивая различные функциональные системы [21].

Поиски с помощью современных биотехнологий вакцин, направленных по своей сути на индукцию неестественного иммунитета против тех вирусов, чьи антигенные детерминанты поверхностных белков подвержены быстрым изменениям (например вирусы гриппа или ВИЧ), пока не увенчались успехом из-за множества проблем и барьеров, которые предстоит долго преодолевать. Однако SARS-Cov-2 не в числе вирусов с быстро мутирующим геномом, что порождает надежды на возможный успех. Кроме того, S1 субъединица его S-белка обрела положительную полярность, свойственную поверхностным белкам других контагиозных вирусов, и к ним были разработаны эффективные вакцины по классическим пастеровским методам. Хотя в условиях пандемии быстрое производство ими вакцин в больших масштабах затруднительно, в исторической перспективе они оказались спасительными для человечества против многих инфекций. По-видимому, успех пастеровского подхода в получении вакцин (из убитых или слабо вирулентных живых возбудителей) предопределяется полнотой представленности в них ИЭ вириона и, соответственно, выработкой к ним поликлональных антител, обеспечивающих вовлечение разных защитных механизмов ИС, что трудно достичь посредством вакцин, полученных методами генной или белковой инженерии и лишь частично отображающих антигенный образ вириона [22].

В числе возможных осложнений от вакцины может быть образование антител к вирусным белкам, содержащим гомологичные белкам человека последовательности. Подтверждением реализации такого варианта патогенеза осложнений служат результаты вакцинации против пандемии гриппа 2009–2010 гг. Прививка вакциной Pandemrix (GlaxoSmithKline) обернулась резким возрастанием

частоты нарколепсии у детей и подростков в разных странах. Сопоставление характеристик разных вакцин показало существование возможной связи возникновения нарколепсии с высоким содержанием в вакцине Pandemrix (GlaxoSmithKline) нуклеопротеина вируса гриппа и образованием к нему антител, перекрестно реагирующих с рецептором гипокретина (орексина) 2. Как выяснилось, рецептор гипокретина 2 содержит в своей внеклеточной петле мотив, присутствующий и в составе нуклеопротеина [23]. Для исключения подобной ситуации с разрабатываемыми вакцинами против SARS-Cov-2, в S-белке которого такое обилие последовательностей, гомологичных белкам человека, необходим преклинический анализ специфичности индуцируемых ими антител на микропанелях с многотысячным набором образцов белков человека, которые стали доступными в последние годы. Эпоха эмпиризма в вакцинологии уходит в прошлое.

В случае использования S-белка SARS-Cov-2 как компонента вакцины, весьма вероятно, потребуется редуцировать представленность его ИЭ. Особенность его в том, что он, как и S-белки других коронавирусов, значительно крупнее поверхностных белков других вирусов (например, он длиннее гемагглютинина H1 вируса гриппа более чем 2,2 раза) и, как показано в данном исследовании, содержит множество фрагментов, гомологичных к разным белкам человека и вирусов (см. примеры в табл. 4 и 5). Поэтому велик риск индуцирования иммунного повреждения в организме и даже усиления инфекции S-белком, что уже было выявлено в эксперименте на хорьках при использовании рекомбинантной вакцины, экспрессирующей полномерный S-белок SARS-Cov [18,19]. Полезность результатов поисков вакцин к SARS-Cov и MERS-CoV в предшествующие годы не следует игнорировать: они помогут сократить поиски вакцин к SARS-Cov-2. В частности следует предвидеть с новыми вакцинами против SARS-Cov-2 и те же осложнения, которые возникли ранее с вакцинами против SARS-Cov (отягощение заболевания и иммунопатология, проявлявшаяся зозинофильной инфильтрацией и Th2 опосредованным повреждением альвеол) и были сходны с давно известными особенностями проявления поражений респираторно-синцитиальным вирусом детей и экспериментальных животных [24]. Это сходство осложнений, вызываемых вакциной на основе S-белка SARS-Cov и респираторно-синцитиальным вирусом, не случайно, поскольку, как показал наш анализ, не нуклеокапсид SARS-Cov-2, а преимущественно его S-белок содержит гомологичные последовательности с главным поверхностным гликопротеином, гликопротеином слияния и матричным белком респираторно-синцитиального вируса. Их множество порождает проблему: из каких фрагментов S-белка SARS-Cov-2 формировать мозаику ИЭ вакцины и как оптимально перекодировать ее

в мРНК- и ДНК-вакцины, на которые нацелились многие исследователи.

Что касается грозного осложнения коронавирусной инфекции – тяжелой пневмонии, то потенциально перспективными средствами терапии ее могли бы быть природные соединения с широким спектром биологических активностей, включая стимулирование ИС и репаративных процессов. Таковыми являются прежде всего регуляторные пептиды тимусного происхождения (тималин, тимоген и др) и опиатоподобные пептиды. Особенность последних в том, что представлены они в организме разными по своей длине молекулами и рецепторы к ним распространены в клетках разных органов, обуславливая их полифункциональность. Критическим фактором для их терапевтического использования, особенно для средних по длине пептидов, является нестабильность при введении в организм из-за уязвимости воздействию протеаз. Создание синтетических аналогов коротких опиатоподобных пептидов (энкефалинов) – гисторфина и каппорфина позволило придать им стабильность и резко повысить их биологическую активность. Замечательная особенность этих пептидов заключается в природе их происхождения: первый является концевым фрагментом гистона H4, а второй – фрагмент к-цепи иммуноглобулинов, что обеспечивает им иммунную совместимость и минимум противопоказаний [25]. Применительно к лечению пневмонии оптимальным путем введения регуляторных пептидов в организм были бы не инъекции, а ультразвуковые ингаляции их растворов, что позволило бы прямую доставку их к самим альвеолам.

Многочисленность рода *Coronaviridae* служит свидетельством распространенности коронавирусов, как и вирусов гриппа, среди многих животных, окружающих человека и являющихся

неиссякаемым резервуаром для возникновения новых их подтипов, которые потенциально могли бы поражать и человека. Время их возникновения и эпидемический потенциал молекулярных характеристик новых подтипов пока непредсказуемы, и вакцины из SARS-Cov-2 в отношении их, вероятно, не будут эффективными. Пока еще рано подводит итоги по пандемии SARS-Cov-2 и вызванных ею потерях, но уже сейчас можно извлечь урок относительно того, что прогнозирование и предупреждение будущих пандемий, вызываемых коронавирусами, как и пандемий гриппа, невозможно без регулярного мониторинга в глобальном масштабе виroma окружающих человека животных и биоинформационного анализа накапливаемых о нем данных и учета состояния коллективного иммунитета. Последний определяется национальными календарями профилактических прививок, которые потенциально способны формировать гетерологичный иммунитет с трудно предсказуемым спектром специфичности, способным проявляться и против новых инфекций. Биологическая основа многообразия проявления гетерологичного иммунитета обусловлена существованием во всей иерархии живых организмов ПКРБ [11].

От животных происходит перенос человеку возбудителей новых инфекций, и в них вызывают новые опасные штаммы возвращающихся инфекций, и вовсе не исключено грядущее «явление MERS-CoV-2 народу». Чтобы понять возникновение новых инфекционных угроз человечеству, спрогнозировать и предупредить биокатастрофы, мониторинг должен осуществляться непрерывно. Его реализация потребует от человечества меньших усилий, чем обуздание и ликвидация уже разразившейся инфекционной катастрофы, не знающей границ для своего распространения и сеющей социально-экономический хаос, унося множество человеческих жизней.

Литература

1. Koonin E, Dolja V, Krupovic M. Origins and evolution of viruses of eukaryotes: The ultimate modularity. *Virology*, 2015; 479–480: 2–25. doi: 10.1016/j.virol.2015.02.039
2. Steedman KM. Deep recombination: RNA and ssDNA virus genes in DNA virus and host genomes. *Annu. Rev. Virol.* 2015; 2: 203–217. doi: 10.1146/annurev-virology-100114-055127.
3. Харченко Е.П. Распространенность в геноме вирусов человека малых гомологичных и комплементарных фрагментов и возможная их роль. *Инфекция и иммунитет*. 2017. Т. 7, № 4. С. 393–404. doi: 10.15789/2220-7619-2017-4-393-404.
4. Selin LK, Wlodarczyk MF, Kraft AR et al. Heterologous immunity: immunopathology, autoimmunity and protection during viral infections. *Autoimmunity*. 2011; 44: 328–347. doi:10.3109/08916934.2011.523277.
5. Харченко Е.П. Вирус гонконгского гриппа: штрихи к портрету 50 лет спустя и будущая пандемия гриппа. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2020; 19 (1): 24–34. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-1-24-34>.
6. Song Z, Xu Y, Bao L, Zhang L et al. From SARS to MERS, Thrusting Coronaviruses into the Spotlight. *Viruses*. 2019; 11(1). pii: E59. doi: 10.3390/v11010059.
7. Kwong PD, Mascola JR. HIV-1 Vaccines based on antibody identification, b cell ontogeny, and epitope structure. *Immunity*. 2018; 48: 5: 855–871. doi: 10.1016/j.immuni.2018.04.029.
8. Bajic G, van der Poel CE, Kuraoka M et al. Autoreactivity profiles of influenza hemagglutinin broadly neutralizing antibodies. *Sci Rep*. 2019; 9 (1): 3492. doi: 10.1038/s41598-019-40175-8.
9. Kanyavuz A, Marey-Jarossay A, Lacroix-Desmazes S et al. Breaking the law: unconventional strategies for antibody diversification. *Nat Rev Immunol*. 2019; 19 (6): 355–368. doi: 10.1038/s41577-019-0126-7.
10. Харченко Е.П. Инвариантность генетического кода и возможный путь его эволюции. *Ж.эвол.биохим. и физиол.* Т.22, N 5, С.351–354.
11. Харченко Е.П. Иммуноэпитопный континуум родства белков и полиреактивность и аутореактивность антител // *Медицинская иммунология*. 2015. Т. 17, № 4. С. 335–346.
12. Sharma S, Thomas P.G. The two faces of heterologous immunity: protection or immunopathology. *J. Leukoc. Biol.*, 2014, vol. 95, pp. 405–416. doi: 10.1189/jlb.0713386.
13. Miller Z.T., Nguyen T.T., Daniels K.A. et al. Disparate epitopes mediating protective heterologous immunity to unrelated viruses share peptide-MHC structural features recognized by cross-reactive T cells. *J. Immunol.*, 2013, vol. 191, no. 10, pp. 5139–5152. doi: 10.4049/jimmunol.1300852.
14. Welsh R.M., Che J.W., Brehm M.A et al. Heterologous immunity between viruses. *Immunol. Rev.*, 2010, vol. 235, no. 1, pp. 244–266. doi: 10.1111/j.0105-2896.2010.00897.
15. Miller A., Reandelar M.J., Fasciglione K et al. Roumenova V., Li Y., Otazu G. H. Correlation between universal BCG vaccination policy and reduced morbidity and mortality for COVID-19: an epidemiological study. <https://doi.org/10.1101/2020.03.24.20042937>.
16. Gil A., Kenney L.L., Mishra R. et al. Vaccination and heterologous immunity: educating the immune system. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2015, vol. 109, no. 1, pp. 62–69. doi: 10.1093/trstmh/tru198.
17. Харченко Е.П. Оптимизация прогнозирования вакцинных штаммов гриппа. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2019; Т. 18. № 1. С.4–17. doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-1-4-17.

Problem-Solving Article

18. Czub, M., Weingartl, H., Czub, S. et al. Evaluation of modified vaccinia virus Ankara based recombinant SARS vaccine in ferrets. *Vaccine* 2005; vol. 23, pp. 2273–2279. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.01.033.
19. Weingartl, H., Czub, M., Czub, S. et al. Immunization with modified vaccinia virus Ankara-based recombinant vaccine against severe acute respiratory syndrome is associated with enhanced hepatitis in ferrets. *J. Virol.* 2004; vol. 78, pp. 12672–12676. doi: 10.1128/JVI.78.22.12672-12676.2004.
20. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW et al. mRNA vaccines – a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov.* 2018; vol. 17, no.4, pp.261–279. doi: 10.1038/nrd.2017.243.
21. Ge D, Du Q, Ran B et al. The neurotoxicity induced by engineered nanomaterials. *Int J Nanomedicine.* 2019; vol. 6, no.14, pp.4167–4186. doi: 10.2147/IJN.S203352.
22. Харченко Е. П. Поиски универсальной противогриппозной вакцины: возможности и ограничения. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика.* 2019; 18 (5):70–84. doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-5-70-84.
23. Ahmed S.S., Volkmut W., Duca J. et al. Antibodies to influenza nucleoprotein cross-react with human hypocretin receptor 2. *Sci. Transl. Med.*, 2015, vol. 7, no. 294: ra105. doi: 10.1126/scitranslmed.aab2354.
24. Jiang S, Bottazzi ME, Du L et al. Roadmap to developing a recombinant coronavirus S protein receptor-binding domain vaccine for severe acute respiratory syndrome. *2012 Expert Review of Vaccines.* 2012 Dec;11(12):1405–13. doi: 10.1586/erv.12.126.
25. Харченко, Е. П., Каликевич, В. Н., Соколова, Т. В., Шестак, К. И., Ардемасова, З. А. . Высокоактивные аналоги опиатоподобных пептидов гисторфина и калпорфина. 1989; Вопросы медицинской химии, Т. 35. № 2. С 106–109.

References

1. Koonin E, Dolja V, Krupovic M. Origins and evolution of viruses of eukaryotes: The ultimate modularity. *Virology*, 2015; 479–480: 2–25. doi: 10.1016/j.viro.2015.02.039.
2. Stedman KM. Deep recombination: RNA and ssDNA virus genes in DNA virus and host genomes. *Annu. Rev. Virol.* 2015; 2: 203–217. doi: 10.1146/annurev-virology-100114-055127.
3. Kharchenko E.P. Occurrence of small homologous and complementary fragments in human virus genomes and their possible role // *Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet*, 2017, vol. 7, no. 4, pp. 393–404. doi: 10.15789/2220-7619-2017-4-393-404
4. Selin LK, Włodarczyk MF, Kraft AR et al. Heterologous immunity: immunopathology, autoimmunity and protection during viral infections. *Autoimmunity.* 2011; 44: 328–347. doi:10.3109/08916934.2011.523277.
5. Kharchenko EP. The Hong Kong Influenza Virus: Treats to the Portrait after 50 Years and the Future Influenza Pandemic. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2020; 19 (1): 24–34 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-1-24-34>.
6. Song Z, Xu Y, Bao L, Zhang L, Yu P, Qu Y, Zhu H, Zhao W, Han Y, Qin C. From SARS to MERS, Thrusting Coronaviruses into the Spotlight. *Viruses.* **2019** Jan 14;11(1). pii: E59. doi: 10.3390/v11010059.
7. Kwong PD, Mascola JR. HIV-1 Vaccines based on antibody identification, b cell ontogeny, and epitope structure. *Immunity.* 2018; 48: 5: 855–871. doi: 10.1016/j.immuni.2018.04.029.
8. Bajic G, van der Poel CE, Kuraoka M et al. Autoreactivity profiles of influenza hemagglutinin broadly neutralizing antibodies. *Sci Rep.* 2019; 9 (1): 3492. doi: 10.1038/s41598-019-40175-8.
9. Kanyavuz A, Marey-Jarossay A, Lacroix-Desmazes Set al. Breaking the law: unconventional strategies for antibody diversification. *Nat Rev Immunol.* 2019; 19 (6): 355–368. doi: 10.1038/s41577-019-0126-7.
10. Kharchenko E.P. Invariations of the genetic code and possible path of its evolution. *J.evol. ...* 1986/ Vol. 22 (4), P.351–354. (In Russ.).
11. Kharchenko E.P. Immune Epitope continuum of the protein relationships, poly- and autoreactivity of antibodies [*Meditinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, vol. 17, no. 4, pp. 335–346. doi: 10.15789/1563-0625-2015-4-335-346 (In Russ.).
12. Sharma S., Thomas P.G. The two faces of heterologous immunity: protection or immunopathology. *J. Leukoc. Biol.*, 2014, vol. 95, pp. 405–416. doi: 10.1189/jlb.0713386.
13. Shen Z.T., Nguyen T.T., Daniels K.A. et al. Disparate epitopes mediating protective heterologous immunity to unrelated viruses share peptide-MHC structural features recognized by cross-reactive T cells. *J. Immunol.*, 2013, vol. 191, no. 10, pp. 5139–5152. doi: 10.4049/jimmunol.1300852.
14. Welsh R.M., Che J.W., Brehm M.A. et al. Heterologous immunity between viruses. *Immunol. Rev.*, 2010, vol. 235, no. 1, pp. 244–266. doi: 10.1111/j.0105-2896.2010.00897.x.
15. Miller A., Reandelar M.J., Fasciglione K. et al. Correlation between universal BCG vaccination policy and reduced morbidity and mortality for COVID-19: an epidemiological study. <https://doi.org/10.1101/2020.03.24.20042937>
16. Gil A., Kenney L.L., Mishra R. et al. Vaccination and heterologous immunity: educating the immune system. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2015, vol. 109, no. 1, pp. 62–69. doi: 10.1093/trstmh/tru198.
17. Kharchenko E. P. Optimization of the Predicting of the Influenza Vaccine Strains *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2019; 18 (1): 4–17. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-1-4-17>.
18. Czub, M., Weingartl, H., Czub, S. et al. Evaluation of modified vaccinia virus Ankara based recombinant SARS vaccine in ferrets. *Vaccine* 2005; vol. 23, pp. 2273–2279. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.01.033.
19. Weingartl, H., Czub, M., Czub, S. et al. Immunization with modified vaccinia virus Ankara-based recombinant vaccine against severe acute respiratory syndrome is associated with enhanced hepatitis in ferrets. *J. Virol.* 2004; vol. 78, pp.12672–12676. doi: 10.1128/JVI.78.22.12672-12676.2004
20. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW et al. mRNA vaccines – a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov.* 2018; vol. 17, no. 4, pp. 261–279. doi: 10.1038/nrd.2017.243.
21. Ge D, Du Q, Ran B et al, The neurotoxicity induced by engineered nanomaterials. *Int J Nanomedicine.* 2019; vol. 6, no.14, pp. 4167–4186. doi: 10.2147/IJN.S203352.
22. Kharchenko EP. The Search for a Universal Influenza Vaccine: Possibilities and Limitations. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2019; 18 (5): 70–84 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-5-70-84>.
23. Ahmed S.S., Volkmut W., Duca J. et al. Antibodies to influenza nucleoprotein cross-react with human hypocretin receptor 2. *Sci. Transl. Med.*, 2015, vol. 7, no. 294:ra105. doi: 10.1126/scitranslmed.aab2354.
24. Jiang S, Bottazzi ME, Du L et al. Roadmap to developing a recombinant coronavirus S protein receptor-binding domain vaccine for severe acute respiratory syndrome. *2012 Expert Review of Vaccines.* 2012 Dec;11(12):1405–13. doi: 10.1586/erv.12.126.
25. Kharchenko EP, Kalikhech VN, Sukolova TV et al. Highly active analogs of opiate-like peptides historphin and kapporphin. *Vopr Med Khim.* 1989; 35 (2): 106–109. PMID: 2500779.

Об авторе

- Евгений Петрович Харченко – д. м. н., ведущий научный сотрудник Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова, РАН. 194223, Россия, Санкт-Петербург, пр. Тореца, 44. +7 (904) 338-22-80, neuro.children@mail.ru

Поступила: 03.02.2020. Принята к печати: 20.04.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Author

- Eugene P. Kharchenko – Dr. Sci. (Biol.), leader researcher of I. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy Sciences. 194223, Russian Federation, St. Petersburg, Toreza pr., 44. +7 (904) 338-22-80, neuro.children@mail.ru

Received: 03.02.2020. Accepted: 20.04.2020.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.