SARS-CoV-2 вирусын геномын судалгаанууд ба S уургийн мутацийн үр нөлөө

Г.Чимэдлхамсүрэн, Я.Мөнхдэлгэр, Ц.Наранзул[2], Ж.Сарантуяа[1]

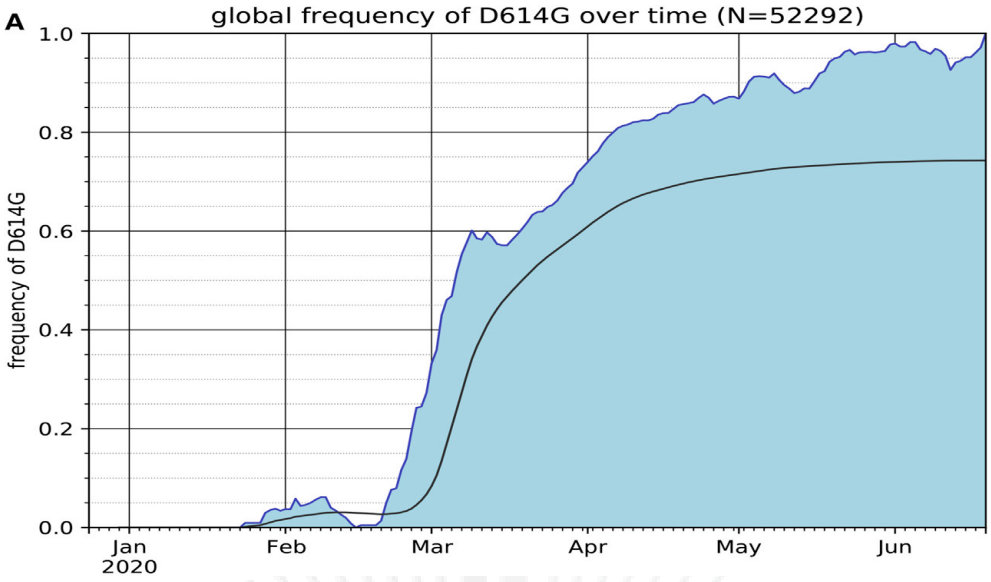
[1]Молекул биологи-Удамзүйн тэнхим, БАС, АШУҮИС
[2]Вирус судлалын лаборатори, ХӨСҮТ
sarantuya.j@mnums.edu.mn

КОВИД-19 (Coronavirus disease-19) нь одоогоор дэлхийн 218 оронд тархсан (2020 оны 12-р сарын 18-ны өдрийн байдлаар), нийт 72`851`747 өвчлөлийн тохиолдол бүртгэгдэж, 1`643`339 хүн уг өвчний улмаас нас бараад байна.[1] Уг өвчний үүсгэгч нь SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome virus) вирус юм. SARS-CoV-2 вирус нь *Coronaviridae*-ийн бүл, β-коронавирусын төрөлд багтах 30000 орчим нуклеотидын урттай эерэг утгат РНХ бүхий геномтой.

Судлаач Fan Wu нар 2019 оны 12 сард БНХАУ-ын Ухань хотын төв эмнэлэгт үйлчлүүлсэн Ковид-19-ын халдвартай хүнээс авсан дээжнээс SARS-CoV-2-ийн геномын бүтэн дараалыг тодорхойлж β-коронавирусын төрөлд багтах вирус болохыг тогтоосон.[2] Вирусын геномын дарааллын харьцуулсан судалгаануудын үр дүнгээр SARS-CoV-2 нь SARS-төст сарьсан багваахайн коронавирус (bat-SL-CoVZC45, bat-SL-CoVZXC21)-тэй 88% гомолог дараалалтай байсан ажээ. Уг судалгааны үр дүнд үндэслэн SARS-CoV-2-ийн жинхэнэ эзэн нь сарьсан багваахай бөгөөд Ухань хотын хүнсний захад зарж байсан амьтан завсрын эзэн болж түүгээр дамжин хүнд халдварласан байх өндөр магадлалтайг тогтоосон.[3] SARS-CoV-2-ын геномын дарааллыг NC_045512 (Нэр: NCBI_лавлагаа дараалал, Wuhan-Hu-1) дугаараар 2020 оны 1-р сарын 13-нд анхлан ген банкинд бүртгүүлсэн байдаг.[2] Цаашид SARS-CoV-2-ын геномын дарааллыг тогтоох, харьцуулах, SARS-CoV-2-ийн мутант хэв шинжүүдийг тодорхойлох олон судалгаанууд хийгдсэн. SARS-CoV-2-ийн геномын судалгааг халдварын тархалттай уялдуулан судлах нь тархварзүй, урьдчилан сэргийлэлт, оношилгоо, эмчилгээний маш олон талын ач холбогдолтой юм.

Mohd Imran Khan нар 13 орноос бүртгэгдсэн геномын дараалал харьцуулан судалгаа хийсэн ба зөвхөн тухайн улс оронд тохиолдох цөөн тооны мутациудыг тодорхойлсон. Тухайлбал, R408I, I671T, P2144S ба A2798V мутациуд Энэтхэг, F797C ба S221W мутациуд Испани, Өмнөд Солонгосоос бүртгэгдсэн дараалуудад өвөрмөц байжээ.[4] Takahiko Koyama нар 2020 оны 2-р сарын 1-ээс 5-р сарын 1-ний хооронд дэлхийн 68 орноос бүртгэгдсэн SARS-CoV-2-ын нийт 10`022 геномын дараалалд харьцуулсан судалгаа хийсэн. Судалгаагаар 2969 миссенс буюу аминхүчил өөрчлөгдөх мутаци, 1965 чимээгүй мутаци, кодлогч бус хэсэгт байрлах 484 мутаци тодорхойлсон. Эдгээрээс C3037T, C14408T, A23403G мутациуд хамгийн түгээмэл илэрсэн байна.[5] Daniele Mercatelli нарын судалгаагаар 2020 оны 6-р сарын 26-ныг хүртэл GISAID (Global Initiative On Sharing All Influenza Data) мэдээллийн санд бүртгэгдсэн SARS-CoV-2-ын 48`635 геномын дараалалд харьцуулалт хийхэд 353341 вариаци тодорхойлогдсон ба A23403G, C14408T, C3037T, C241T мутациуд 36000-аас дээш тооны дараалалд тохиолджээ.[6] Дээрх судалгаануудын үр дүнгээр A23403G, C14408T миссенс мутациуд хамгийн түгээмэл тархалттай байгааг харж болно. Тэгвэл дээр дурьдсан мутациуд Ковид-19-ын тархалт, вакцины үр дүн, эмчилгээ, оношилгоонд хэрхэн нөлөөлөх боломжтой талаар авч үзье.

A23403G (GAU>GGU) нь миссенс мутаци бөгөөд S генийн хэсэгт байрлах ба вирусын гадаргуугийн S уургийн 614-р байрлал дахь аспаргины хүчил (Asp) глицин (Gly)-ээр солигддог байна. Энэхүү мутацийг олон улсад D614G гэж тэмдэглэдэг. A23403G мутаци 2020 оны 1 сард БНХАУ, ХБНГУ-д анх бүртгэгдэж байсан. 2020 оны 6-р сарын 25-ны байдлаар GISAID мэдээллийн санд АНУ, Европ, Азийн зарим орнуудаас бүртгэгдсэн SARS-CoV-2-ын 52292 геномын дарааллуудын 74%-д D614G тодорхойлогдоод байгаа юм.[7] Цаашид ч вирусын тархалт нэмэгдэх тусам D614G мутант вирус хурдацтай тархах хандлагатай байна (зураг 1).

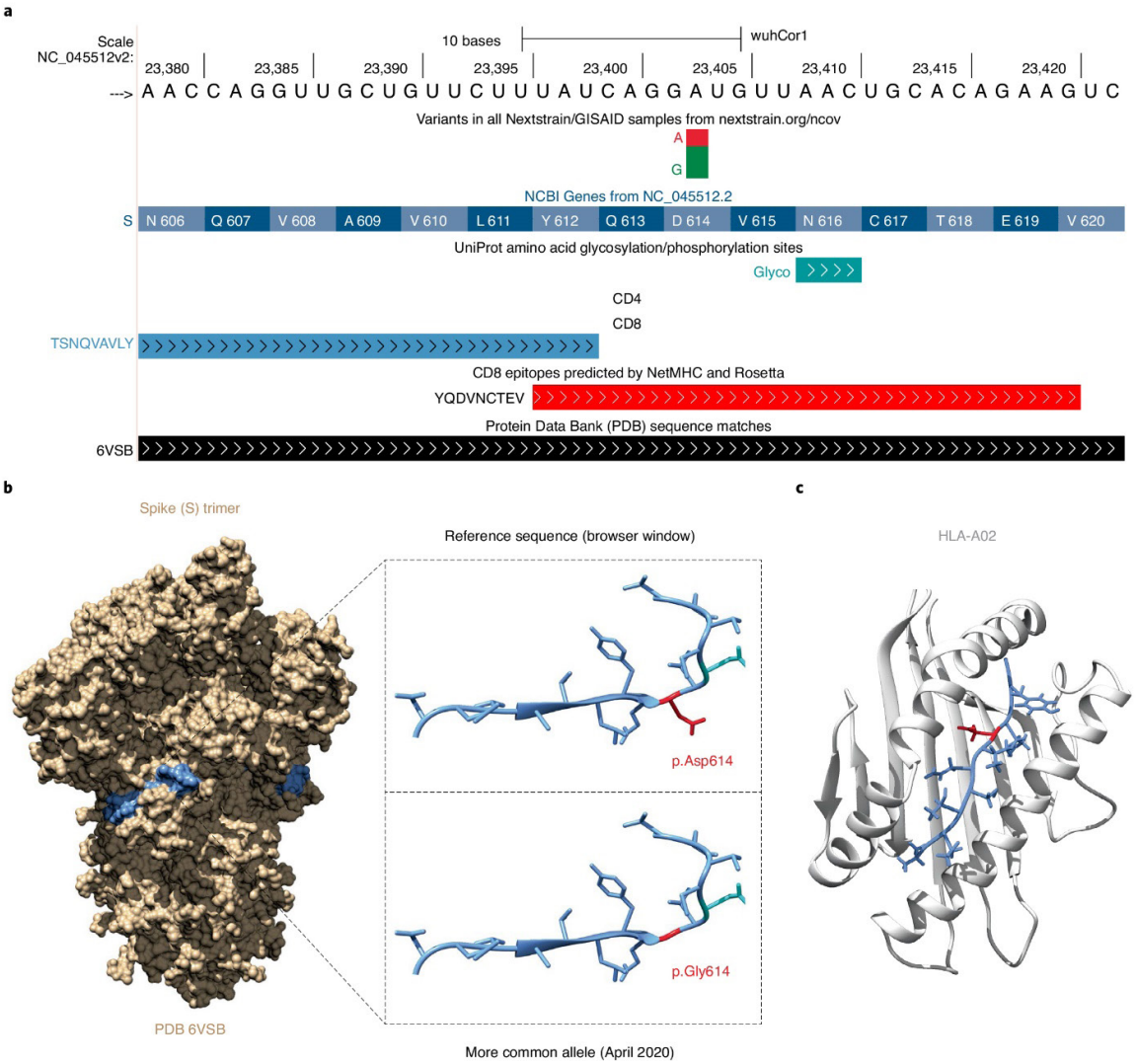


Зураг 1. 2020 оны 1-7.25 сар хүртлэх D614G мутацийн давтамж[7]

Тайлбар: GISAID мэдээллийн санд 2020 оны 7-р сарын 25-ныг хүртлэх хугацаанд бүртгэгдсэн SARS-CoV-2-ын геномын мэдээлэлд тулгуурлан D614G мутацийн давтамжийг тодорхойлж харуулав. Цэнхэр талбай нь бүртгэгдсэн нийт дарааллуудыг илтгэнэ. Хар шугамаар D614G мутацийн давтамжийг харуулав. Эх сурвалж: *Yurkovetskiy L, Wang X, Pascal KE, et al. Structural and Functional Analysis of the D614G SARS-CoV-2 Spike Protein Variant. Cell. 2020;183(3):739-751. e738*

SARS-CoV-2-ын D614G мутант хувилбар хурдацтай тархаж буйгаар эрдэмтэд байгалийн шалгаралтай холбон тайлбарладаг. Учир нь D614G мутаци бүхий SARS-CoV-2 нь эзэн эсэд халдварлах чадамж харьцангуй өндөр, дархлаанаас зугтах боломжийг нэмэгдүүлдэг хэмээн таамагладаг.[8,9] S уургийн бүтцийг судалсан судалгаануудын үр дүнгээс үзэхэд D614G мутаци нь хүний ACE2 хүлээн авуурт холбогдох домэйн хэсэгт байрлах бөгөөд p.Gly614 хэлбэр нь p.Asp614-тэй харьцуулахад эсийн ACE2 хүлээн авуурт холбогдох чадамжийг нэмэгдүүлдэг болохыг тогтоожээ.[7,10,11] Leonid Yurkovetskiy нарын судалгаагаар D614G мутаци нь ACE2 хүлээн авуур бүхий бай эсэд SARS-CoV-2-ын халдварлах чадамжийг нэмэгдүүлж байгаа нь тогтоогдсон. Wang нарын судалгаагаар D614G эсвэл D614G+ V341I, D614G + K458R, D614G + I472V, D614G + D936Y, D614G + S939F, D614G + S943T мутациудын хослол нь SARS-CoV-2 вирусын халдварлах чадамжийг 4-100 дахин нэмэгдүүлж байгааг тогтоожээ.[12] Харин SARS-CoV-2-ын S уургийн нийлэгжилт, боловсруулалт болон вирусын мембранд уураг байрлах үйл явцад нөлөөгүй байжээ.[7] Мөн Yixuan J. Hou нарын судалгаанд D614G мутаци вирусын эсэд халдварлах чадвар, рекликаци, халдвартай эсээс ялгарах вирусын тоо зэрэгт нөлөөтэй байгааг дурьджээ.[13] Тодруулбал, хүний хамрын хөндийн салстын эсэд D614G вирусын титр 24-72 цагуудад харьцангуй өндөр байсан байна. Мөн амьсгалын дээд замын эсүүдэд 48 цагийн дараах D614G вирусын титр харьцангуй өндөр байсан.[13]

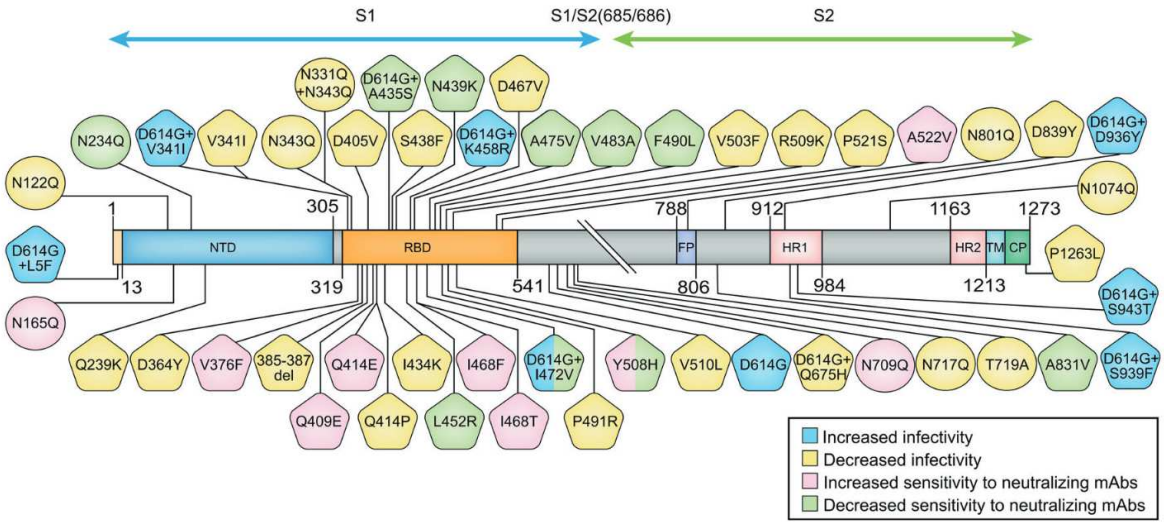
D614G мутаци нь S уургийн эпитоп дархлааны эсэд илчлэгдэх үйл явцад нөлөөтэй байж болох талаар зарим судалгаанууд хийгдсэн байна. Био-информатикийн судалгаагаар SARS-CoV-2-ын гадаргуугийн S уураг Т лимфоцит эс, В лимфоцит эсэд танигдах цөөн эпитоптой болохыг тогтоожээ.14 Jason D. Fernandes нар UCSC SARS-CoV-2 Genome Browser, NetMHC, Rosetta зэрэг программууд ашиглан SARS-CoV-2-ын геномын дараалалд судалгаа хийжээ. Судалгаагаар гадаргуугийн S уургийн загварчлалыг тодорхойлж, NetMHC программ ашиглан S уургийн дархлааны эсэд танигдах эпитопуудыг тодорхойлжээ. Зурагт харуулснаар S уургийн YQDVNCTEV пептид дараалал нь HLA-A*02:01 молекултай холбогдон комплекс үүсгэж илчлэгддэг. Энэхүү комплексийг CD8+ Т эс таньж дархлааны хариу урвал өрнөдөг. S уургийн пептид дарааллын YQDVNCTEV>Y-QGVNCTEV өөрчлөлт нь уг эпитопийн HLA-A*02:01-той холбогдоход нөлөөлж болохыг судалгааны үр дүнгээр харуулжээ.15 Мөн D614G мутаци S уургийн В лимфоцит эсэд танигдах эпитопийн GTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAI-HADQLTPTWRVYSTGS ба MHC II молекулын комплекс үүсэхэд нөлөөлөх боломжтой юм.14 Нөгөө талаас мутацийн улмаас В эсэд танигдах эпитопд өөрчлөлт гарснаар урьд SARS-CoV-2-ын халдвар авсан хүмүүс дахин халдвар авч өвчлөх боломжтой юм (зураг 2).



Зураг 2. Өгөгдлүүдийг нэгтгэн гаргасан гипотез [15]

А. *NC_045512 дараалын S уураг кодлогч хэсгийн нуклеотидын дараалал ба амин хүчлийн дараалал, эпитопуудыг тодорхойлж харуулав. Улаан өнгөөр YQDVNCTEV пептид эпитопийн дарааллыг харуулав. В. S уургийн тример бүтцийг харуулав. Хөх өнгөөр зургийн А хэсэгт тодруулан харуулсан амин хүчлийн дарааллыг харуулав.* **С.** *YQDVNCTEV пептид ба HLA-A*02:01 уургийн бүрдлийг харуулав. p.Asp614 (улаан) холбогдох ховил хэсэг рүү шигдсэн байна.*

Вакцин гарган авах судалгааны ажлууд 2020 оны эхэн үед бүртгэгдсэн SARS-CoV-2-ын геномын дараалалд тулгуурлан хийгдэж эхэлсэн.[16] Эдгээр вакцинуудын дийлэнх нь SARS-CoV-2-ын гадаргуугийн S уураг өвөрмөц эсрэгбие үүсгэхэд чиглэсэн байна.[17,18] Takahiko Koyama нарын 2020 оны 4-р сард нийтлэгдсэн өгүүлэлд S уургийн эпитопуудын кодлогч хэсэгт хэд хэдэн миссенс мутациуд тодорхойлсон ба эдгээр мутациуд нь Ковид-19-ийн вакцин, эсрэгбие эмчилгээний үр дүнд нөлөөлөх боломжтой хэмээн дурьджээ.[19] Drew Weissman нар SARS-CoV-2-ын вирусийн гадаргуугийн S уураг ба эсрэгбиеийн харилцан үйлчлэлийг D614G мутацитай холбон судалсан. Судалгааны үр дүнгээр p.Gly614 S уураг бүхий хуурамч вирус нь моноклон эсрэгбиетэй холбогдож задрах нь харьцангуй илүү байжээ. Өөрөөр хэлбэл D614G мутаци нь SARS-CoV-2 вирусын халдварлах чадамжийг нэмэгдүүлж байгаа боловч эсрэгбиеийн тусламжтай вирусыг устгах үйл явцад илүү өртөмхий болгож байгааг харуулж байна.[20] Энэ нь D614G мутаци вакцины үр дүнд сөрөг нөлөөгүй байгааг илтгэж байна.[20-22] Гэвч урт хугацаанд вакцин ямар үр дүнтэй байхыг бүрэн тодорхойлоогүй л байна. Учир нь цаашид SARS-CoV-2 вирусын тархалт өндөр хэвээр байвал зарим мутацийн давтамж нэмэгдэх, шинэ мутациуд үүсэх эрсдлүүд байна. Takahiko Koyama нарын судалгааны үр дүнгээр S уургийн дараалалд 394 миссенс мутаци бүртгэгдээд байна[5] (зураг 3).



Зураг 3. SARS-CoV-2 вирусын S уургийн аминхүчил өөрчлөгдөх мутациудын нөлөө

Тайлбар: Цэнхэр өнгөөр халдварлах чадамжийг нэмэгдүүлдэг мутаци, шар өнгөөр чадамжийг бууруулдаг мутаци, ягаан өнгөөр эсрэгбиеийн холбогдох мэдрэг байдлыг нэмэгдүүлэх мутаци, ногоон өнгөөр эсрэгбиеийн холбогдох мэдрэг байдлыг бууруулах мутациудыг тус тус тэмдэглэв. Эх сурвалж*: Wang L, Wang L, Zhuang H. Profiling and characterization of SARS-CoV-2 mutants' infectivity and antigenicity. Signal Transduction and Targeted Therapy. 2020;5(1):185.*

S уургийн миссенс мутациудаас эзэн эсийн хүлээн авуурт холбогдох S уургийн домэйн дээр байрлах N439K, S477N, V483A, V367F мутациудын давтамж нэмэгдэж байна.[9] Учир нь дээр дурьдсан мутациуд нь SARS-CoV-2-ын халдварлах чадамжийг нэмэгдүүлж байгаатай холбоотой, цаашид ч N439K, S477N, V483A, V367F мутациудын давтамж нэмэгдэх хандлагатай байна. Мөн Li нар N234Q, L452R, A475V, V483A, ба F490L мутациуд S уурагтай моноклон эсрэгбие холбогдох мэдрэг байдлыг бууруулах нөлөөтэй байгааг тогтоосон.[23] Дээр дурьдсан мутациуд нь T, B эсэд танигдах эпитопуудад байрлах учир вакцины үр дүн, SARS-CoV-2 вирусын эсрэг дархлаанд нөлөөлөх боломжтой юм.

Манай улсад вирусын цар тахлын үед эрчимтэй судалгаа шинжилгээ хийж, хяналт тавигдаж байгаа ба тахал эхэлж байх цаг хугацаанд эмнэлэгт хэвтэн эмчлүүлсэн өвчтний шинжлэгдэхүүнээс вирусын S уургийн генийн G107C, D614G, W1217C мутациуд тодорхойлогдоод байна[24].

Эцэст нь дүгнэхэд, SARS-CoV-2-ын геномын судалгааг цаашид тасралтгүй үргэлжлүүлж, бүс нутгаас хамаарсан, тархалт, давтамж нэмэгдэх хандлагатай мутаци, вариациудыг урьдчилан тодорхойлж түүнд чиглэсэн вакцин, вирусын халдварлах чадамж, дархлаа тогтолцооноос зайлсхийх боломж зэргийг судлах шаардлагатай байна.

Genome studies of the SARS-CoV-2 virus and the effect of S protein mutations

G.Chimedlkhamsuren[1], Ya.Munkhdelger[1], Ts.Naranzul[2], J.Sarantuya[1]

[1]Dept. Molecular biology and Genetics, School of Bio-Medicine,, MNUMS
[2]Virus research laboratory, NCID
sarantuya.j@mnums.edu.mn

COVID-19 (Coronavirus disease-19) is currently endemic in 218 countries with a total of 72`851`747 cases reported and 1`643`339 deaths due to the disease.

Researchers identified the complete genome sequence of SARS-CoV-2 from a sample of a person infected with Covid-19 at Wuhan Central Hospital in December 2019 and identified it as a β-coronavirus. Comparison of viral genome sequences studies have shown that SARS-CoV-2 has an 88% homologous sequence with SARS-like bat coronavirus (bat-SL-CoVZC45, bat-SL-CoVZXC21). Compared the genome sequences recorded and identified mutations R408I, I671T, P2144S, and A2798V were unique in the sequences recorded in India, F797C, and S221W in Spain and South Korea. A comparative study of a total of 10`022 genome sequences of SARS-CoV-2 was performed. The study identified 2,969 missions or mutations in amino acids, 1,965 silent mutations, and 484 mutations in the non-coding area. Of these, C3037T, C14408T, and A23403G mutations were the most common. According to Wang's study, a combination of D614G or D614G + V341I, D614G + K458R, D614G + I472V, D614G + D936Y, D614G + S939F, and D614G + S943T mutations increased the susceptibility of SARS-CoV-2 virus to 4-100.

Intensive research and monitoring is being carried out in Mongolia during the epidemic, and G107C, D614G, and W1217C mutations in the viral S protein gene have been identified in hospitalized patients at the time of the outbreak.

The SARS-CoV-2 genome study needs to be continued to identify mutations and variations that are regionally dependent, increasing in prevalence and frequency, and to target vaccines, viral infectivity, and the ability to avoid the immune system.

НОМЗҮЙ:

1. Coronavirus disease (COVID-19) Dashboard (Updated 2020/12/17 5:05 pm). World Health Organization; 2020. Available from: https://covid19.who.int/ [cited 2020 18 Dec].
2. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;579(7798):265-269.
3. Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet.* 2020;395(10224):565-574.
4. Khan MI, Khan ZA, Baig MH, et al. Comparative genome analysis of novel coronavirus (SARS-CoV-2) from different geographical locations and the effect of mutations on major target proteins: An in silico insight. *PLOS ONE.* 2020;15(9):e0238344.
5. Koyama T, Platta D, Parida L. Variant analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Bull World Health Organ.* 2020;98:495-504.
6. Mercatelli D, Giorgi FM. Geographic and Genomic Distribution of SARS-CoV-2 Mutations. 2020;11(1800).
7. Yurkovetskiy L, Wang X, Pascal KE, et al. Structural and Functional Analysis of the D614G SARS-CoV-2 Spike Protein Variant. *Cell.* 2020;183(3):739-751.e738.
8. Zhang L, Jackson CB, Mou H, et al. SARS-CoV-2 spike-protein D614G mutation increases virion spike density and infectivity. *Nature Communications.* 2020;11(1):6013.
9. Chen J, Wang R, Wang M, Wei G-W. Mutations Strengthened SARS-CoV-2 Infectivity. *J Mol Biol.* 2020;432(19):5212-5226.
10. Mansbach RA, Chakraborty S, Nguyen K, Montefiori DC, Korber B, Gnanakaran S. The SARS-CoV-2 Spike Variant D614G Favors an Open Conformational State. 2020:2020.2007.2026.219741.
11. Volz E, Hill V, McCrone JT, et al. Evaluating the Effects of SARS-CoV-2 Spike Mutation D614G on Transmissibility and Pathogenicity. *Cell.* 2020.
12. Wang L, Wang L, Zhuang H. Profiling and characterization of SARS-CoV-2 mutants' infectivity and antigenicity. *Signal Transduction and Targeted Therapy.* 2020;5(1):185.
13. Hou YJ, Chiba S, Halfmann P, et al. SARS-CoV-2 D614G variant exhibits efficient replication ex vivo and transmission in vivo. 2020;370(6523):1464-1468.
14. Grifoni A, Sidney J, Zhang Y, Scheuermann RH, Peters B, Sette A. A Sequence Homology and Bioinformatic Approach Can Predict Candidate Targets for Immune Responses to SARS-CoV-2. *Cell Host & Microbe.* 2020;27(4):671-680.e672.
15. Fernandes JD, Hinrichs AS, Clawson H, et al. The UCSC SARS-CoV-2 Genome Browser. *Nature Genetics.* 2020;52(10):991-998.
16. Lurie N, Saville M, Hatchett R, Halton J. Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed. *The New England journal of medicine.* 2020;382(21):1969-1973.
17. Jackson LA, Anderson EJ, Rouphael NG, et al. An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 — Preliminary Report. 2020;383(20):1920-1931.
18. Mulligan MJ, Lyke KE, Kitchin N, et al. Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature.* 2020;586(7830):589-593.
19. Koyama T, Weeraratne D, Snowdon JL, Parida L. Emergence of Drift Variants That May Affect COVID-19 Vaccine Development and Antibody Treatment. *Pathogens (Basel, Switzerland).* 2020;9(5).
20. Weissman D, Alameh M-G, de Silva T, et al. D614G Spike Mutation Increases SARS CoV-2 Susceptibility to Neutralization. 2020:2020.2007.2022.20159905.
21. McAuley AJ, Kuiper MJ, Durr PA, et al. Experimental and in silico evidence suggests vaccines are unlikely to be affected by D614G mutation in SARS-CoV-2 spike protein. *npj Vaccines.* 2020;5(1):96.
22. Dearlove B, Lewitus E, Bai H, et al. A SARS-CoV-2 vaccine candidate would likely match all currently circulating variants. 2020;117(38):23652-23662.
23. Li Q, Wu J, Nie J, et al. The Impact of Mutations in SARS-CoV-2 Spike on Viral Infectivity and Antigenicity. *Cell.* 2020;182(5):1284-1294.e1289.
24. Ц.Наранзул, С.Анхбаяр, Б.Дармаа, Монгол улсад тохиолдож буй КОВИД-19 халдварын өнөөгийн байдал, «Алхам урагш-2020» Эрдэм шинжилгээний бага хурал, АШУҮИС, илтгэлийн материал, хурлын цахим эмхэтгэл