



**ПОЛИМОРФИЗМ РНК НОВОГО КОРОНАВИРУСА ИЛИ ЗАГАДКИ SARS-CoV-2 ДВА
... ДЕЛЬТА, ..., ОМИКРОН ... – ХВАТИТ ЛИ БУКВ ГРЕЧЕСКОГО АЛФАВИТА?**

¹Чемерис Д.А., ²Мавзютов А.Р., ³Зубов В.В., ⁴Гарафутдинов Р.Р., ⁵Халикова Е.Ю., ⁴Сахабутдинова А.Р.,

⁴Никоноров Ю.М., ⁴Чубукова О.В., ⁴Максимов И.В., ^{6,7}Алексеев Я.И., ⁶Герасимов К.Е.,

⁶Супонин Д.А., ⁴Баймиев Ан.Х., ⁴Кулуев Б.Р., ⁴Баймиев Ал.Х., ⁴Чемерис А.В.

¹ООО «Максим Медикал», Россия, 123423, Москва, ул. Народного Ополчения, д. 34, стр. 1

²Башкирский государственный медицинский университет, Россия, 450008, Уфа, ул. Ленина, 3

³Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук,
Россия, Пушкино, 142290, Институтская ул., 3

⁴Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, проспект Октября, 71

⁵Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

⁶ООО «Синтол», Россия, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, д. 42

⁷Институт аналитического приборостроения Российской академии наук,
Россия, 198095, Санкт-Петербург, ул. Ивана Черных, д. 31/33

Email: chemeris@anrb.ru

Резюме

Новая коронавирусная инфекция за два года пандемии привела к тому, что количество отдельных вирионов SARS-CoV-2, образовавшихся у больных и у бессимптомных носителей, превысило секстиллион (10^{21}) и в действие неизбежно должен был вступить закон диалектики перехода количества в качество в виде полиморфизма РНК этого коронавирусного квазивида. При этом у отдельных индивидов могут одновременно находиться отличающиеся по нуклеотидным последовательностям вирионы. С наибольшей вероятностью разнообразие коронавирусов растет за счет людей со слабым иммунитетом, в которых SARS-CoV-2 персистирует длительное время, подвергаясь мутациям, вызываемых как действием вакцин, так и лекарственными препаратами, что в итоге порождает появление опасных вариантов вируса, способствующих возникновению волн пандемии. Таких вызывающих обеспокоенность вариантов коронавирусов, которым Всемирная организация здравоохранения рекомендовала присваивать обозначения с помощью букв греческого алфавита, насчитывается пока пять – Альфа, Бета, Гамма, Дельта и Омикрон, причем последний, появившись совсем недавно, уже успел практически вытеснить все предыдущие варианты. Рассмотрены гипотезы, пытающиеся объяснить неожиданное появление накопившего очень большое количество мутаций Омикрона. Одной из наиболее правдоподобных версий является предполагающая незаметное эволюционирование этого коронавируса, ввиду того, что он не представлял поначалу какой-либо угрозы и не попадал в поле зрения специалистов, но после одной-двух заключительных мутаций, приобрел принципиально иную способность размножаться и массово инфицировать людей. Однозначного ответа - хватит ли букв греческого алфавита для обозначения новых вариантов SARS-CoV-2 сейчас пока нет. Но в любом случае, несмотря на ускользание Омикрона (и возможно новых вариантов, включая его производные) от протективных антител, возникающих при COVID-19 или в результате прививок, защитой от заболевания является вакцинирование, поскольку даже не будучи способными противостоять самому заражению, они затрудняют размножение вируса внутри организма человека и тем самым облегчают течение болезни. Однако необходимо создавать новые вакцины с учетом мутировавших вариантов SARS-CoV-2.

Ключевые слова: коронавирус, SARS-CoV-2, квазивид, Альфа, Бета, Гамма, Дельта, Омикрон, мутации, Spike белок, NSP14, экзорибонуклеаза

Цитирование: Чемерис Д.А., Мавзютов А.Р., Zubov В.В., Гарафутдинов Р.Р., Халикова Е.Ю., Сахабутдинова А.Р., Никоноров Ю.М., Чубукова О.В., Максимов И.В., Алексеев Я.И., Герасимов К.Е., Супонин Д.А., Баймиев Ан.Х., Кулуев Б.Р., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В. Полиморфизм РНК нового коронавируса или загадки SARS-CoV-2 два. ... Дельта, ..., Омикрон ... – хватит ли букв греческого алфавита? // *Biomics*. 2021. Т.13(4). С.409-433. doi: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-29

© Авторы

**RNA POLYMORPHISM OF NOVEL CORONAVIRUS OR ENIGMAS OF SARS-CoV-2 TWO.
... DELTA, ..., OMICRON ... WILL BE THERE ENOUGH LETTERS OF THE GREEK ALPHABET?**

¹Chemeris D.A., ²Mavzyutov A.R., ³Zubov V.V., ⁴Garafutdinov R.R., ⁵Khalikova E.Yu., ⁴Sakhabutdinova A.R.,
⁴Nikonorov Yu.M., ⁴Chubukova O.V., ⁴Maksimov I.V., ^{6,7}Alekseev Ya.I., ⁶Gerasimov K.E.,
⁶Suponin D.A., ⁴Baymiev An.Kh., ⁴Kuluev B.R., ⁴Baymiev Al.Kh., ⁴Chemeris A.V.

¹Maxim Medical LLC, 34-1 Narodnogo Opolcheniya str., Moscow, 123423, Russia

²Bashkir State Medical University, 3 Lenina Str., 450008, Ufa, Russia

³Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS, 3 Institutskaya str., Pushchino-na-Oke, 142290, Russia

⁴Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences,
71 Pr. Oktyabrya, 450054, Ufa, Russia,

⁵I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, 8-2 Trubetskaya str. Moscow, 119991, Russia

⁶Syntol LLC, 42 Timiryazevskaya str., 127550, Moscow, Russia

⁷Institute for Analytical Instrumentation RAS, 31/33 Ivana Chernyh str., 198095, St. Petersburg, Russia

Email: chemeris@anrb.ru

Resume

A new coronavirus infection in two years of the pandemic led to the fact that the number of individual SARS-CoV-2 virions formed in patients and in asymptomatic carriers exceeded a sextillion (10^{21}) and the law of the dialectic of the transition of quantity to quality in the form of RNA polymorphism of this coronavirus quasispecies inevitably had to come into effect. At the same time, virions differing in nucleotide sequences may simultaneously be present in individuals. Most likely, the diversity of coronaviruses is growing due to people with weak immunity, in whom SARS-CoV-2 persists for a long time, undergoing mutations caused by both the action of vaccines and drugs, which eventually generates the appearance of dangerous variants of the virus that contribute to the emergence of pandemic waves. There are five such Variant of Concern of coronaviruses, to which the World Health Organization recommended assigning designations using letters of the Greek alphabet, so far – Alpha, Beta, Gamma, Delta and Omicron, and the latter, having appeared quite recently, has already managed to practically displace all previous variants. Hypotheses trying to explain the unexpected appearance of an Omicron that has accumulated a very large number of mutations are considered. One of the most plausible versions is that it assumes the imperceptible evolution of this coronavirus, due to the fact that at first it did not pose any threat and did not come to the attention of specialists, but after one or two final mutations, it acquired a fundamentally different ability to multiply and massively infect people. There is no clear answer yet whether the letters of the Greek alphabet will be enough to designate new variants of SARS-CoV-2. But in any case, despite the escape of Omicron (and possibly new variants, including its derivatives) from protective antibodies, vaccination is the protection against COVID-19, since even without being able to resist the infection itself, they make it difficult for the virus to multiply inside the human body and thereby facilitate the course of the disease. However, it is necessary to create new vaccines taking into account mutated variants of SARS-CoV-2.

Keywords: coronavirus, SARS-CoV-2, quasispecies, Alpha, Beta, Gamma, Delta, Omicron, mutations, Spike protein, NSP14, exoribonuclease

Citation: Chemeris D.A., Mavzyutov A.R., Zubov V.V., Garafutdinov R.R., Khalikova E.Yu., Sakhabutdinova A.R., Nikonorov Yu.M., Chubukova O.V., Maksimov I.V., Alekseev Ya.I., Gerasimov K.E., Suponin D.A., Baymiev An.Kh., Kuluev B.R., Baymiev Al.Kh., Chemeris A.V. RNA polymorphism of novel coronavirus or enigmas of SARS-CoV-2 two. ... Delta, ..., Omicron ... Will be there enough letters of the Greek alphabet? *Biomics*. 2021. V.13(4). P. 409-433. doi: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-29 (In Russian)

© Authors

Введение

Немного странное, казалось бы, название данного труда на самом деле имеет под собой веские основания. Свою предыдущую статью по коронавирусу SARS-CoV-2 почти годичной давности [Мавзютов и др. (Mavzyutov et al.), 2021] мы озаглавили как «Загадки нового коронавируса SARS-CoV-2», в которой уделили внимание некоторым действительно загадочным моментам появления и распространения SARS-CoV-2, включая его персистенцию в организме и вопросы реинфекции, однако недавний вариант коронавируса Omicron, только появившись, преподнес новую загадку, на которую пока нет ответа и неясно будет ли он вообще. Поэтому было решено в названии данной обзорно-проблемной статьи опять употребить слово «загадки», пронумеровав их уже как «два», и заодно задаться вопросом - хватит ли букв греческого алфавита, с помощью которых не так давно предложено давать новым вариантам SARS-CoV-2 тривиальные обозначения, на что в Заключение попытаемся дать ответ.

С учетом того, что в организме больного COVID-19 в разгар заболевания одновременно может содержаться $10^9 - 10^{11}$ вирионов [Sender et al., 2021], помножив это количество на продолжительность болезни и число переболевших, а также бессимптомных носителей, превысившее в общей сложности, по всей видимости, уже миллиард человек, можно допустить, что за два года пандемии новой коронавирусной инфекции к настоящему времени во всем мире образовался целый сонм генетических копий вирусных частиц SARS-CoV-2 числом не менее секстиллиона (10^{21})¹. И в этом случае уже неизбежно вступает в действие закон диалектики о переходе количества в качество, под которым следует понимать полиморфизм нуклеотидных последовательностей коронавирусного генома SARS-CoV-2. Среди них непременно появляются более совершенные вирусы. Необходимо иметь в виду, что для вирусов особенно с РНК-геномом характерна внутривидовая вариабельность, по которой тот же коронавирус SARS-CoV-2 является самым настоящим квазивидом, что обеспечивает ему лучшую выживаемость и широкое распространение в людской популяции. Нельзя забывать и о селективном отборе наиболее вирулентных, но менее агрессивных линий вируса,

который к тому же усилился после изобретения и начала использования вакцин против новой коронавирусной инфекции, а также интенсивно и стихийно используемых противовирусных препаратов, многие из которых могут обладать и мутагенностью.

Ранее мы уже неоднократно обращались к теме новой коронавирусной инфекции, рассмотрев систематику бетакоронавирусов, геномную организацию SARS-CoV-2, предположительное происхождение этого вируса, его молекулярную диагностику, в том числе проблемные вопросы, включая образование ложноотрицательных результатов, типы разрабатываемых вакцин, а также используемые для контроля за распространением вируса по Планете технологии полногеномного секвенирования, различные номенклатуры обозначения штаммов и их мутационную изменчивость [Гарафутдинов и др. (Garafutdinov et al.), 2020; 2020a; Мавзютов и др. (Mavzyutov et al.), 2020; 2021]. Здесь же рассмотрение используемых номенклатур штаммов и изолятов SARS-CoV-2 будет продолжено, поскольку Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) предложила свою, но главное внимание будет уделено мутациям в гене структурного Spike белка, приводящим к изменениям его иммуногенных эпитопов, а также заменам в гене неструктурного белка NSP14, отвечающего за точность репродукции вируса, что (и то, и другое) может иметь далеко идущие последствия. Вместе с тем данные по новому коронавирусу накапливаются с такой быстротой, что практически любая обзорная статья (и этот наш обзор не исключение) к моменту их выхода², по крайней мере, частично устаревает, однако основные тенденции эволюции SARS-CoV-2 все же надо думать останутся прежними, в том числе с учетом произошедших новых мутаций.

В качестве подтверждения просто лавины работ по новому коронавирусу можно привести количество опубликованных в 2021 г. статей, в которых согласно базе данных PubMed есть термин “SARS-CoV-2”, превысившее 87 тысяч. При этом термин “coronavirus” встречается в 2021 г. в 91519 статьях. Масштабность подобных исследований хорошо видна при сравнении числа публикаций с термином “hantavirus”, которых за 2021 г. опубликовано всего 194 или приблизительно в

¹ «Старый» коронавирус SARS-CoV за полгода, что циркулировал по Планете, заразил менее 10 тысяч человек и, допуская у больного схожую вирусную нагрузку можно подсчитать, что тех вирионов сформировалось не более квадриллиона (10^{15}), что несравнимо меньше чем при новой коронавирусной инфекции.

² нужно признать, что многие статьи по SARS-CoV-2 проходят ускоренное рецензирование и тут же выходят предпубликации, к тому же многие издательства еще в самом начале пандемии приняли решение о свободном доступе к статьям по коронавирусной тематике, и это было очень правильное решение, способствующее борьбе с этой опасной инфекцией

500 раз меньше. На самом деле мы не случайно выбрали для сопоставления с коронавирусами хантавирусы, поскольку на протяжении нескольких лет с перерывами нами изучался вызывающий геморрагическую лихорадку с почечным синдромом (ГЛПС) хантавирус серотипа Puumala³, основным переносчиком которого на территории Республики Башкортостан является рыжая полевка *Clethrionomys glareolus*. Из тканей больного ГЛПС была выделена вирусная РНК, клонирован и секвенирован ген нуклеокапсидного белка хантавируса [Никоноров и др. (Nikonogov et al.), 2001], на основе которого позже под руководством Ю.М.Никонорова был создан прототип ДНК-вакцины [Чубукова и др. (Chubukova et al.), 2008], а Б.Р.Кулуев получил трансгенный табак с тем же геном нуклеокапсидного белка (неопубл.). И в те годы (2001 и 2008 гг.) в базе данных PubMed с термином “hantavirus” находятся (включая наши) 135 и 178 статей соответственно. В эти же годы с “coronavirus” опубликовано 229 и 527 статей, что лишь не намного больше, чем по хантавирусной тематике, что подтверждает небывалый всплеск исследований коронавируса в последние годы из-за пандемии.

Что же касается коронавирусной тематики, то интерес по крайней части авторского коллектива данной статьи к ней давний. Так, имея уже некоторый опыт работы с хантавирусом, еще в 2003 г. (когда только появилось заболевание SARS – Severe Acute Respiratory Syndrome или ТОРС – тяжелый острый респираторный синдром, вызываемое коронавирусом SARS-CoV) также под руководством Ю.М.Никонорова при выполнении в Башкирском государственном университете дипломной работы «Создание генно-инженерных конструкций, содержащих под контролем промотора T7 уникальный фрагмент коронавируса, вызывающего атипичную пневмонию» из синтезированных химическим путем протяженных олигонуклеотидов Д.А.Чемерисом был сформирован фрагмент ДНК, кодирующий участок коронавирусной РНК, с целью использования последней в качестве положительного контроля для диагностики SARS-CoV. Тем самым была решена проблема с обеспечением в тест-системе контрольной РНК при детекции генетического материала коронавируса, представленного РНК, поскольку в работах того периода для этой цели использовались плазмидные ДНК с клонированным геном SARS-CoV [Poon et al., 2003], что имело определенные недостатки в виде исключения в контрольной реакции

важной стадии обратной транскрипции. Лишь десятилетие спустя использование подобных конструкций в качестве положительного контроля в виде молекул РНК описано для детекции ближневосточного коронавируса MERS-CoV [Corman et al., 2012]. Но тот SARS-CoV из человеческой популяции весьма быстро исчез (через месяц после защиты упомянутого диплома) и поэтому та наша работа продолжена не была, но следить за коронавирусами мы не переставали.

Возвращаясь к делам сегодняшним, необходимо отметить, что очень важным оказалось слежение за изменчивостью коронавируса SARS-CoV-2 и появление все новых его вариантов, в особенности генов Spike белков, что делается с помощью полногеномного секвенирования, и за два года пандемии разными странами уже секвенировано около семи миллионов изолятов, против нескольких десятков секвенированных изолятов старого коронавируса SARS-CoV. Причинами таких гигантских различий служит с одной стороны быстрое (чуть больше чем за полугодие) исчезновение SARS-CoV, а с другой - появление в последние полтора десятилетия целого ряда высокопроизводительных методов полногеномного секвенирования новых поколений, обзор которых был недавно нами сделан [Зубов и др. (Zubov et al.), 2021]. Но прежде чем переходить к изложению основного материала данной обзорной статьи следует кратко напомнить структурную организацию SARS-CoV-2, сделав акцент на двух его генах, кодирующих структурный Spike белок и неструктурный белок NSP14.

Организация генома SARS-CoV-2

Итак, оболочечный новый коронавирус SARS-CoV-2 размером около 100 нм в диаметре несет единую молекулу одноцепочечной РНК длиной около 29,9 тысяч нуклеотидов в виде так называемой позитивной цепи и имеет на 5'- и 3'-концах короткие нетранслируемые участки, а также небольшую поли(А)-последовательность (рис. 1). Первая открытая рамка считывания занимает более двух третей всего генома и кодирует 16 неструктурных белков (NSP), изначально организованных в два полипептида 1a и 1b, обеспечивающих процессы, как репликации, так и транскрипции. Далее следуют четыре гена, кодирующие структурные белки – белок зубца короны S (Spike), малый белок оболочки E (Envelope), мембранный гликопротеин M (Membrane), нуклеокапсидный белок N (Nucleocapsid), перемежающиеся целым рядом генов вспомогательных белков, функции которых еще не всех ясны. Упрощенно геном SARS-CoV-2, как, впрочем, и других коронавирусов может быть представлен следующим образом – 5'-UTR-ORF1a/b-S-E-M-N-UTR-polyA-3'.

³ По современной классификации вирусов хантавирус серотипа Puumala отнесен к виду *Puumala orthohantavirus* из рода *Orthohantavirus* семейства *Hantaviridae* порядка *Bunyavirales* из того же реалма *Riboviria*, что и коронавирусы.

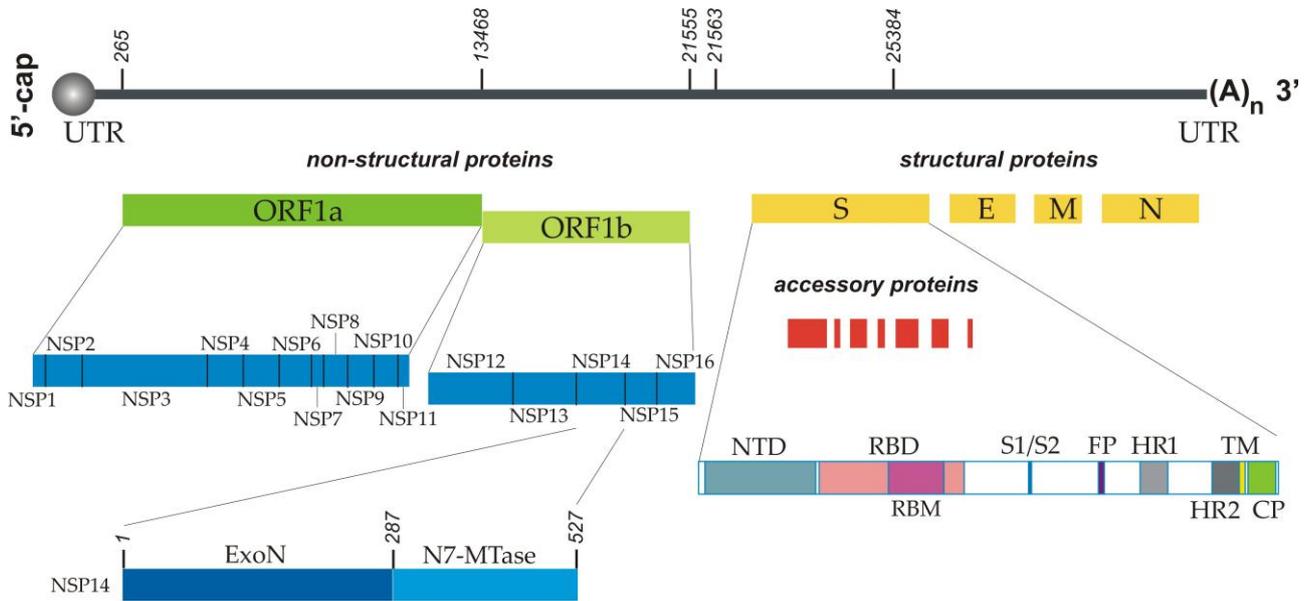


Рис. 1. Упрощенная схема организации генома бетакоронавируса SARS-CoV-2 (масштаб не соблюден). 5'-UTR и 3'-UTR – нетранслируемые области; ORF1a/b (polypeptides) кодирует 16 неструктурных белков (NSP);

S - белок зубца короны (spike); E - малый белок оболочки (envelope); M - мембранный гликопротеин (membrane); N - нуклеокапсидный белок (nucleocapsid); ORF (открытые рамки считывания) различных белков. NTD – N-terminal domain, RBD – Receptor Binding Domain, RBM – Receptor Binding Motif, S1/S2 – furin cleavage site, FP – fusion peptide, HR1 HR2 – Heptade Repeat domains, TM – transmembrane domain, CT – Cytoplasmic tail; ExoN – экзорибонуклеаза, N7-MTase – N7-метилтрансфераза

Fig. 1. Simplified scheme of genome organization of SARS-CoV-2 beta coronavirus (scale not observed).

5'-UTR and 3'-UTR – untranslated regions; ORF1a/b (polypeptides) encodes 16 non-structural proteins (NSP); S - crown prong protein (spike); E - small envelope protein (envelope); M - membrane glycoprotein (membrane); N - nucleocapsid protein (nucleocapsid); ORF (open reading frame) of various proteins; NTD - N-terminal domain, RBD - Receptor Binding Domain, RBM - Receptor Binding Motif, S1/S2 - furin cleavage site, FP - fusion peptide, HR1 HR2 - Heptade Repeat domains, TM - transmembrane domain, CT - Cytoplasmic tail; ExoN - exoribonuclease, N7-MTase - N7-methyltransferase

Наибольшее внимание привлекает Spike белок, являющийся поверхностным гликопротеином, формируя из трех своих полипептидных цепей так называемые шипы, видимые на 2d проекции вирусной частицы как корона. При этом каждый мономерный S белок (длиной в 1273⁴ аминокислоты) состоит из двух субъединиц S1 и S2, первая из которых располагается снаружи липидной мембраны. S1 субъединица отвечает за первичный контакт с мишенью хозяина, которой служит ангиотензин-превращающий фермент ACE2, а S2 субъединица обеспечивает уже слияние с клеточной мембраной и проникновение вирусной РНК в клетку. Для этого должно произойти разрезание S белка подходящей протеазой хозяина, например трансмембранной сериновой протеазой TMPRSS2. Но

SARS-CoV-2 в отличие от своего предшественника SARS-CoV дополнительно каким-то образом «обзавелся» 12-ти нуклеотидной вставкой, кодирующей мотив из четырех аминокислот RRAR (ArgArgAlaArg), который узнает аргининовая фуриновая протеаза, являющаяся одной из самых эффективных протеолитических ферментов. Считается, что новый коронавирус в 10-20 раз⁵ эффективнее взаимодействует с рецептором, нежели его предшественник SARS-CoV, благодаря произошедшим заменам в домене RBD (receptor-binding domain) и RBM (receptor-binding motif) в S1 субъединице. SARS-CoV-2 на этих мутациях «не остановился» и именно образующиеся вновь в Spike белке и главным образом в его S1 субъединице замены аминокислот определяют

⁴ Здесь и далее нумерация аминокислот и нуклеотидов дается по референсному Уханьскому штамму.

⁵ и это еще без последних мутаций, резко увеличивших его инфекционность

контагиозность новых вариантов коронавируса и их распространение по миру, о чем будет говорить далее отдельно.

Важной особенностью всех коронавирусов является наличие у них белка NSP14, имеющего длину 527 аминокислотных остатков и состоящего из обладающего РНК-редактирующей активностью за счет присутствия 3'→5'-экзорибонуклеазного домена (ExoN) и N7 метилтрансферазы, отвечающей за кэпирование РНК вируса. Данная редактирующая активность позволяет поддерживать бетакоронавирусам относительно высокую точность репликации и снижает число ошибок (мутаций)⁶, что весьма важно для вирусов с большим РНК-геномом, следствием чего является относительно высокая «консервативность» нуклеотидных последовательностей у разных изолятов, но как уже говорилось выше, количество со временем неизбежно должно переходить в качество в виде РНК полиморфизма геномов и чем еще обернется возникновение мутаций во фрагменте генома, кодирующего белок NSP14, и попытки сделать последний мишенью для лечения COVID-19 довольно трудно прогнозировать.

Впервые редактирующая активность репликационного комплекса у коронавирусов была обнаружена после того как в системе *in vitro* клонированный в бактерии *E.coli* ген NSP14 показал некое ферментативное действие, свидетельствующее о его экзорибонуклеазной активности [Minskaia et al., 2006]. Позже было установлено, что в этом процессе определенную помощь оказывает другой неструктурный белок коронавируса – NSP10 [Bouvet et al., 2014; Ma et al., 2015]. Последовали и другие работы [Eckerle et al., 2010; Denison et al., 2011], в ходе которых с помощью обратной генетики создавали мутантные формы коронавируса SARS-CoV, где с помощью замен ряда нуклеотидов добивались нарушения редактирующей активности, приводящей уже к большему числу замен, причем не только летальных для самого вируса. Так, полногеномное секвенирование клонов такого мутантного вируса позволило идентифицировать в общей сложности 100 уникальных замен нуклеотидов,

распределенных по всему вирусному геному [Eckerle et al., 2010]. Недавно установлено, что белок ExoN оказывает влияние еще и на рекомбинацию вирусной РНК [Gribble et al., 2021] и это другой путь накопления мутаций, отчасти даже ускоренного.

Одна из стратегий борьбы с РНК-вирусами это использование неприродных аналогов азотистых оснований, которые малоспецифичные вирусные РНК-зависимые РНК-полимеразы при репликации используют в качестве строительного материала, что приводит к последующей блокировке размножения вируса. Однако в случае с коронавирусами такой подход практически обречен на неудачу, поскольку, как уже говорилось выше, они имеют РНК-редактирующую активность в виде отдельного белка NSP14 (ExoN) вместе с неструктурным белком NSP10, максимально исключая встраивание неправильных нуклеотидов при репликации. При этом на первый взгляд несколько заманчиво выглядит перспектива подобрать некие химические соединения, которые бы связываясь с NSP14 белком (или с NSP10 белком), мешали осуществлению им(и) редактирующей активности. И подобные исследования по поиску новых подобных лекарственных препаратов уже активно проводятся [Khater et al., 2021; Moeller et al., 2021; Riccio et al., 2021; Saramago et al., 2021; Tahir, 2021]. Но в этом случае на наш взгляд возникает еще большая опасность в виде увеличенного числа мутаций при репликации коронавируса, которые помимо летального для вируса эффекта за счет присутствия в организме человека лекарств на основе неприродных аналогов нуклеотидов могут наоборот придать ему более опасные для человечества свойства. Исключать подобное нельзя хотя бы потому, что вирионов у больного образуются миллиарды и есть вероятность, что не во все из них включатся неприродные азотистые основания, поскольку нельзя добавлять их в большом количестве из-за токсичности, включая мутагенные эффекты и поэтому серьезной конкуренции природным нуклеотидам они составить не смогут, а ошибки со встраиванием обычных нуклеотидов будет иметь место. Но чем больше случайных мутаций вируса будет происходить - тем выше вероятность возникновения еще более вирулентного штамма, к тому же вызывающего и более тяжелое течение болезни, хотя основная стратегия выживания и дальнейшего распространения самого вируса заключается в увеличении его заразности при некотором снижении летальности благодаря некоему балансу между стабильностью генома и его изменчивостью. Но это происходит без вмешательства человека, тогда как новый коронавирус, находясь под лекарственным или вакцинным давлением, вынужден к ним приспособливаться и в этих случаях поведение SARS-CoV-2 может несколько отличаться от чисто природных процессов.

⁶ В этой связи нужно заметить, что даже среди специалистов до того как человечество столкнулось с новой коронавирусной инфекцией бытовало мнение, что абсолютно все РНК-вирусы очень быстро мутируют, ввиду того, что их РНК-зависимая-РНК-полимеразная активность не позволяет осуществлять «редактирование» строящейся цепи и удалять неверно вставленные нуклеотиды, но в случае бетакоронавирусов это не соответствует действительности, хотя справедливости ради следует отметить, что это делает не сама РНК-полимераза в отличие от большинства ДНК-полимераз.

Номенклатуры штаммов SARS-CoV-2

Активное исследование новой коронавирусной инфекции началось в самом конце 2019 г. и уже в течение января 2020 г. были установлены нуклеотидные последовательности нескольких изолятов этиологического агента протяженностью 29903 нуклеотида, одна из которых считается сейчас референсной. Первые сотни секвенированных полных геномов SARS-CoV-2 хотя и показывали некоторую вариабельность нового коронавируса, но при этом, как уже говорилось выше, демонстрировали и его довольно малую изменчивость, благодаря чему изоляты с разных континентов имели минимальные отличия от референсного штамма или вообще от него не отличались. В начале марта 2020 г. когда база данных GISAID содержала информацию всего о приблизительно 250 полных геномах SARS-CoV-2, была осуществлена первая попытка как-то их классифицировать. Так, со 160 из них был проведен филогенетический анализ, показавший, что разошедшиеся к тому времени по всему миру новые коронавирусы сформировали три типа, обозначенных как А, В и С, при этом наиболее близкий предковому типу из летучей мыши штамму RaTG13 был обозначен как А [Forster et al., 2020]. Но такое деление долго не просуществовало. Также не нашло широкого применения деление изолятов SARS-CoV-2 на основе неких единичных мутаций WSPs (Widely Shared Polymorphisms), позволивших 767 секвенированных полных геномах коронавируса уложить в 593 гаплотипа и разделить на шесть субтипов, обозначенных римскими цифрами [Morais et al., 2020]. При этом авторы спрогнозировали еще десять потенциальных субтипов – с VII до XVI. Но когда счет секвенированных геномов SARS-CoV-2 пошел на десятки тысяч, то стало ясно, что вирус все же довольно заметно мутирует, в том числе и потому, что его количество на Планете стало гигантским и чтобы разобраться в огромном многообразии секвенированных последовательностей, было необходимо выработать подходящие номенклатуры.

Так, упоминавшаяся база данных GISAID (<https://www.gisaid.org>), аккумулирующая наиболее полную информацию о секвенированных геномах нового коронавируса, использует буквенную номенклатуру, подразделяющую SARS-CoV-2 на 8 клад с учетом времени их появления и филогенетических взаимоотношений – S, L, V, G, GH, GR, GV, GRY. Еще одна база данных Nextstrain (<https://nextstrain.org>) также подразделяет SARS-CoV-2 на довольно крупные группы – 19A, 19B, 20A, 20B, 20C, 20D, 20E, 20F, 20G, 20H, 20I, 20J, 21A, 21B, 21C, 21D, 21F, 21G, 21H, 21I, 21J, 21K, 21L, 21M, где 19, 20 и 21 – годы обнаружения соответствующих вариантов нового коронавируса. Эти две номенклатуры носят масштабный характер и отражают уже устоявшиеся группы штаммов SARS-CoV-2, циркулирующие, по крайней мере, в течение нескольких месяцев и распространившиеся по миру.

Однако для контроля за новыми вариантами SARS-CoV-2, когда полных секвенированных геномов уже было известно около 35 тысяч, чтобы окончательно не запутаться в их разнообразии, потребовался другой подход, предложенный летом 2020 г., в виде динамической номенклатуры, чутко и четко реагирующей на постоянное появление все новых линий этого вируса и получившей название Pango Lineage (<https://cov-lineages.org/lineages.html>). Главным преимуществом этой номенклатуры является ее иерархический характер, отражающий эволюцию вирусов SARS-CoV-2, и дающий возможность отслеживать появление и глобальное распространение все новых вариантов этого вируса. Для этого были выработаны правила обозначения линий родословных, начинающихся с префикса в виде буквы, после которой идет суффикс, состоящий из цифр, формирующих иерархические подуровни. В качестве примеров можно привести Pango линию B.1.1.7 и более новую линию B.1.525. Данная динамическая номенклатура нашла широкое применение, поскольку действительно удобна для контроля за вновь появляющимися линиями SARS-CoV-2.

Таблица 1

Различные обозначения VOC вариантов SARS-CoV-2 и их соответствие друг другу в разных базах данных
Table 1. Different designations of SARS-CoV-2 VOC variants and their correspondence to each other in various databases

WHO label	Pango lineage	GISAID clade	Nextstrain clade	PHE variant	Mass media
Alpha	B.1.1.7	GRY	20I (V1)		British
Beta	B.1.351	GH/501Y.V2	20H (V2)		South African
Gamma	P.1	GR/501Y.V3	20J (V3)		Brazilian
Delta	B.1.617.2	GK	21A	VOC-21MAY-01	Indian
Omicron	B.1.1.529	GRA	21K	VOC-21NOV-01	South African

Позже агентство Public Health England (PHE) при Департаменте здравоохранения и социального обеспечения Великобритании стало использовать свою номенклатуру. Так, варианты SARS-CoV-2, находящиеся

на рассмотрении, получали обозначение VUI (Variant Under Investigation), а те, которые эту стадию уже преодолели и вызвали наибольшую обеспокоенность, обозначались VOC (Variant of Concern) и к этим аббревиатурам добавлялась информация в виде года, месяца и порядкового номера. Так, уже упоминавшиеся выше Pango линии B.1.1.7 и B.1.525 имели PHE шифры VOC-20DEC-01 и VUI-21FEB-03 соответственно.

Наконец, ВОЗ 31 мая 2021 г. (<https://www.who.int/news/item/31-05-2021-who-announces-simple-easy-to-say-labels-for-sars-cov-2-variants-of-interest-and-concern>) анонсировала использование букв греческого алфавита⁷ для тех штаммов, что активно циркулируют в человеческих популяциях и требуют тем самым более удобного их обозначения, разграничивая их также по группам опасности – VOC (Virus of Concern – вирус, вызывающий обеспокоенность) и VOI (Virus of Interest – вирус, вызывающий заинтересованность). ВОЗ так пояснила, что понимается под этими группами – к VOI вариантам относятся коронавирусы, к которым нужно проявлять внимание и в которых произошли определенные геномные мутации, приводящие или способные привести к изменению трансмиссивности вируса, тяжести вызываемого им заболевания, уклонению от иммунной защиты, к диагностическим проблемам и невосприимчивости к лекарственным препаратам; VOC варианты характеризуются теми же самыми особенностями, но при этом дополнительно обладают повышенной способностью передаваться от человека к человеку, увеличенной вирулентностью, сниженными возможностями их диагностирования молекулярными методами, ослаблением действия вакцин и прочих противовирусных препаратов, оказывая при этом в целом негативное влияние на глобальную санитарно-эпидемиологическую обстановку.

Большим коллективом авторов из разных стран было отмечено, что по целому ряду причин использование номенклатуры, предложенной ВОЗ, окажется полезным и уменьшит число ошибок, включая банальные опечатки [Konings et al., 2021]. В одной из статей также была выражена поддержка такому обозначению вариантов SARS-CoV-2 греческими буквами, но обращено внимание, что для исследовательских целей необходимо продолжать пользоваться научной Pango номенклатурой [Khan, Jamal, 2021]. Большим коллективом авторов из Греции такой подход с использованием греческого алфавита

⁷ греческий алфавит в этом плане удобен тем, что буквы в нем имеют свои названия, что, впрочем, было присуще и старославянской кириллице, состоящей в наиболее распространенном ее варианте из 43 букв, 24 из которых являлись непосредственно греческими, а 19 букв, лучше передающих звуки, типичные для славянского языка, были специально добавлены

также приветствовался [Papanikolaou et al., 2022], что, наверное, не должно удивлять. В качестве примера различных обозначений одинаковых вариантов SARS-CoV-2 с использованием разных номенклатур можно указать на таблицу 1, где приведены наиболее широко распространившиеся и в том числе поэтому вызывающие беспокойство коронавирусы.

Некоторые штаммы SARS-CoV-2 (VOC и VOI варианты) имеют еще «географические» названия согласно странам их происхождения – например Альфа – британский (его появление зарегистрировано в Великобритании в октябре 2020 г.), Бета – южноафриканский (декабрь 2020 г.), Гамма – бразильский (январь 2021 г.), Дельта – индийский (май 2021 г.), Омикрон – южноафриканский (официально сообщено о его появлении 24 ноября 2021 г.). Некоторые другие варианты SARS-CoV-2 из группы VOI также «удостоились» географической привязки. Так, например, Лямбда считается перуанским, Эта – нигерийским, Зета и Тета варианты – бразильским и филиппинским соответственно. Эпсилон найден в США. Однако такие обозначения используются преимущественно в СМИ.

Мутационная изменчивость SARS-CoV-2

Несмотря на высокую точность репликации коронавирусов в самом начале пандемии еще зимой 2020 г. произошла несинонимичная мутация A23403G в гене S-белка, приводящая на белковом уровне к замене в 614 положении аминокислотной последовательности аспарагиновой кислоты (D) на глицин (G) – D614G, очень быстро ставшая мажорной. Более того, ни в одном из ныне циркулирующих штаммов нет исходного варианта вируса с аспарагиновой кислотой в данном месте. Другой мутацией N501Y, также быстро вытеснившей во многих странах прежние штаммы без оной, явилась замена аденина на цитозин – A23064C, приведшая к замене в S-белке аминокислоты аспарагина (N) на тирозин (Y). Данная мутация 501Y была впервые обнаружена в Уэльсе, где ее пропорция не превышала поначалу 2%, однако после того как в дополнение к ней в таком вирусе появилось много новых мутаций, то ему было присвоено обозначение 501Y.V2, и с начала октября до начала ноября пропорция этого вируса среди полных секвенированных за это время геномов в базе данных GISAID составила уже 49,7% [Leung et al., 2021], после чего этот вариант вируса, назвав британским штаммом, отнесли к новой генетической линии B.1.1.7, известной сейчас также как Альфа.

Кроме таких мажорных мутаций для SARS-CoV-2 характерно большое число минорных мутаций. При репликации вирусной РНК возникают и инделы (инсерции/делеции) разной протяженности, однако большинство мутаций все же происходят в виде замен одиночных нуклеотидов (SNP – Single-Nucleotide Polymorphism) или снипов, обычно представленных в

количестве 6-7 SNP на вирусный геном. Причем, какое количество взятых в секвенирование вирусов какие конкретно несет мутации остается загадкой, поскольку секвенируются не единичные вирионы, а их пул из 500-1000 вирусных частиц. Более того, при современной технологии секвенирования в миллионах ридов выбираются нуклеотиды, прочитанные большее количество раз, которые и формируют собой консенсусные SNP и соответственно РНК полиморфизм вирусного генома, что представляет определенную проблему [Van Poelvoorde et al., 2021]. Но помимо них отличия от референсного генома выявляются в виде так называемых внутрихозяйских вариаций iSNV (intrahost Single Nucleotide Variant). Так, ранее еще для других

вирусов было решено, что если тот или иной нуклеотид в конкретном месте встретился более чем в 3% случаев при 400-х кратном покрытии и секвенировании около 1000 вирусных частиц, то он уже может считаться iSNV или внутрихозяйской вариацией вируса, а не ошибками секвенирования [Grubaugh et al., 2019]. Недавно для SARS-CoV-2 предложены свои границы такого полиморфизма и для случайных мутаций определено, что они являются таковыми, если составляют менее 5%, для iSNV требуется их представленность в диапазоне от 5 до 95% и уже те, что превышают 95% вариаций нуклеотидов по мнению авторов следует относить к полноценным SNP [Li et al., 2022] хотя все это несколько спорно.

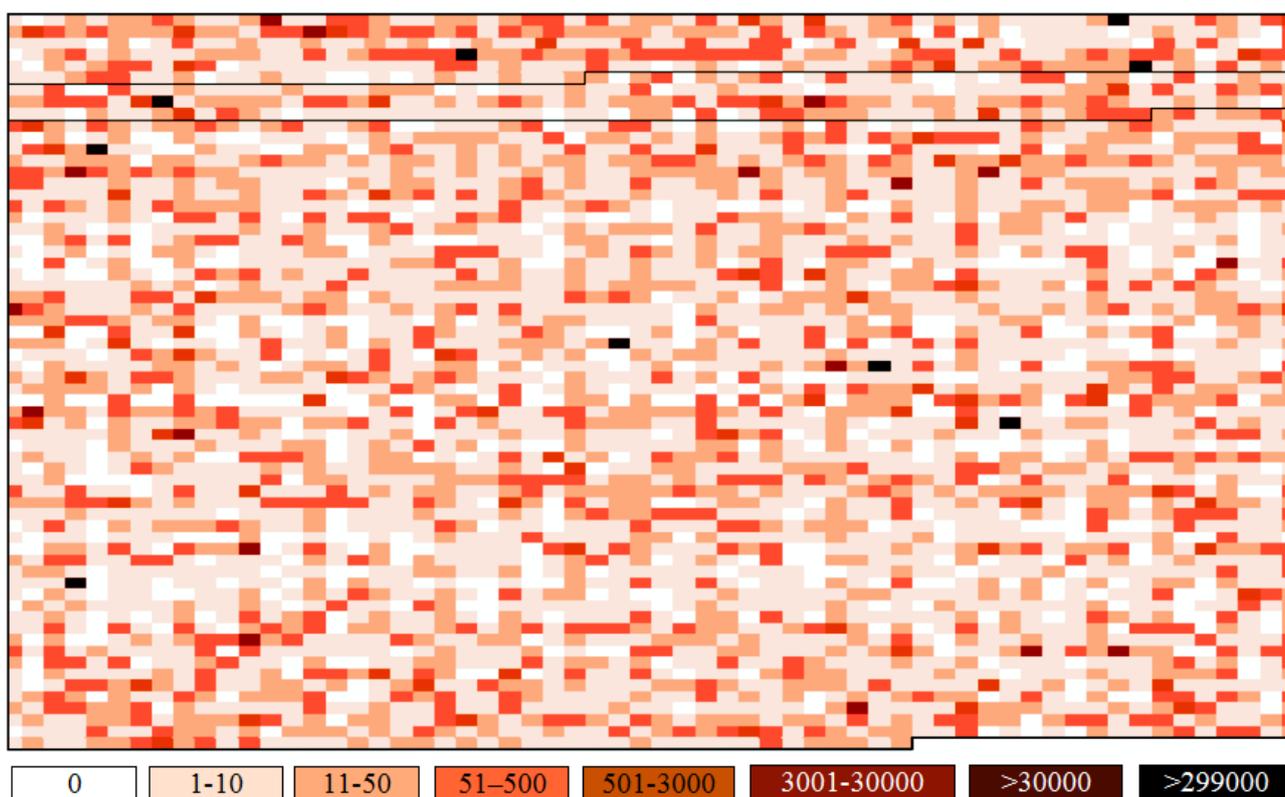


Рис. 2. Вариации (SNP и iSNV) гена S-белка SARS-CoV-2. Маленькие прямоугольники символизируют отдельные нуклеотиды, расположенные по 60 в строку. Рецептор-связывающий домен взят внутри в рамку. Цветная шкала показывает число замен, приходящихся в данном гене на конкретный нуклеотид, в виде прямоугольника, выделенного соответствующим цветом.

Fig. 2. Variations (SNP and iSNV) of the SARS-CoV-2 S-protein gene. The small rectangles represent the separate nucleotides arranged by 60 in a row. The receptor-binding domain is framed. The color scale shows the number of substitutions in this gene per specific nucleotide as the rectangle highlighted in the corresponding color.

Убедительными свидетельствами того, что SARS-CoV-2 представляет собой квазивид, служит массовое выявление снипов, а также внутрихозяйской вариабельности коронавируса в виде iSNV различий в его геноме, но лишь незначительная их часть переходит

в разряд минорных мутаций и еще меньшая - в мажорные [Gao et al., 2021]. Тем не менее, в одной из работ отмечено, что после анализа 1347 образцов, собранных до июня 2020 г., в геномах изолятов SARS-CoV-2 выявлено 16410 iSNV, но уже к 30 сентября 2020

г. согласно базе данных GISAID 42% из них стали считаться SNP, а к 30 июня 2021 г. эта величина достигла 80% [Pathak et al., 2022]. В этой же статье сообщается, что анализ 1774 образцов, секвенированных в Индии в период с ноября 2020 г. по май 2021 г., показал, что большинство вариаций, определяющих происхождение Delta и Кappa, появились как iSNV прежде чем были зафиксированы в популяции как консенсусные замены. Все это подтверждает, что существование SARS-CoV-2 в виде квазивида представляет собой источник для появления все новых вариантов этого коронавируса, в том числе опасных в эпидемиологическом плане [Sun et al., 2021].

Для демонстрации РНК полиморфизма и всевозможных вариаций вирусного генома SARS-CoV-2 в своей предыдущей статье [Мавзютов и др. (Mavzyutov et al.), 2021] мы привели ген S-белка размером 3822 нуклеотида, определяющего взаимодействие RBD (Receptor Binding Domain) участка спайкового белка с рецептором ACE2 и обеспечивающего проникновение вируса через слизистые в клетки человека, и поэтому более других мест генома подверженного мутациям, вызванных селективным давлением. Здесь мы повторяем тот рисунок (рис. 2), но обращаем внимание на то, что тогда он был подготовлен на основе известных на начало февраля 2021 г. секвенированных последовательностей SARS-CoV-2 числом около полумиллиона и при этом приблизительно 15% нуклеотидов гена S-белка коронавируса SARS-CoV-2 оставались неизменными по сравнению с референсной последовательностью, что было изображено белыми прямоугольниками. При этом существовала определенная избирательность мутаций или иначе их консервативность, поскольку для подавляющего большинства позиций для разных изолятов характерны одинаковые замены. К настоящему времени после секвенирования уже семи миллионов полных геномов SARS-CoV-2 не осталось ни одного хотя бы раз немутировавшего нуклеотида, как в гене S-белка, так возможно и во всем геноме⁸, хотя все же наибольшее число замен нуклеотидов приходится на S-белок, точнее его S1-субъединицу.

Считается, что источниками большого числа мутаций служат люди с ослабленным иммунитетом, в организме которых SARS-CoV-2 персистирует очень продолжительное время [Gregori et al., 2021; Voloch et al., 2021]. Фактически в этих случаях количества образующихся вирионов на один-два порядка превышает таковые в ходе обычного протекания болезни и это может быть критичным, учитывая длительное воздействие на коронавирус лекарственными препаратами, оказывающими селективное давление и заставляющее вирус

эволюционировать быстрее. Так, например, в 2020 г. в США у 45-ти летнего мужчины, имеющего целый «букет» различных серьезных заболеваний, был диагностирован COVID-19, с которым он в силу слабого иммунитета справиться не смог и на 154 день умер; при этом в разные периоды болезни у него производился забор биологического материала и осуществлялось секвенирование вирусных геномов, показавшее наличие возникающих мутаций [Choi et al., 2020]. В частности, два образца, взятые на 18 и 25 дни болезни (T0), по аминокислотной последовательности Spike белка между собой отличий не несли и послужили в этой работе в дальнейшем в качестве референсной. Изоляты вируса, взятые на 75 и 81 дни (T1), оказались одинаковыми, но несли ряд отличий от исходных – делецию⁹ в положениях 143-145 аминокислотной последовательности и три замены аминокислот, из которых две заслуживают особого внимания - T478K и E484K, поскольку они встречаются в VOC вариантах SARS-CoV-2, включая Омикрон. В образцах T2 (128 и 130 дни) по сравнению с T1 не обнаружена мутация E484K, однако в дополнении к прочим прежним появились три новых мутации, из которых две также нельзя оставить без внимания – Q493K и N501Y, причем последняя из них независимо возникла в Уэльсе и дала со временем начало британской Альфе. Три секвенированных образца T3 (143, 146 и 152 дни) отличались даже между собой, в том числе за счет делеции семи аминокислот, но, пожалуй, стоит обратить внимание на мутацию N440D¹⁰. И это все происходило в одном человеке, изначально заразившимся скорее всего одним вариантом SARS-CoV-2, хотя попавшие в него вирионы могли несколько отличаться из-за того что это квазивид. Также нельзя исключать последующее попадание в него других вирионов SARS-CoV-2 в течении длительной болезни.

Альфа, Бета, Гамма, Дельта, Омикроны

Фактически первым вариантом нового коронавируса, вызывающего обеспокоенность, не считая самого SARS-CoV-2, стали вирусы с мутацией, приведшей к замене в 614 положении Spike белка аспарагиновой кислоты на глицин, вытеснившие предыдущие штаммы. Однако до осени 2020 г. у всех секвенированных изолятов по сравнению с Уханьским референсным штаммом обнаруживались лишь единичные мутации. Появление варианта B.1.1.7, названного позже Альфой, обладающего увеличенной

⁹ данная делеция интересна в связи с вариантом коронавируса Омикрон

¹⁰ эта мутация также представляет интерес в связи с Омикроном

⁸ что нами не проверено, но сомнений в этом почти нет

контагиозностью, сопровождалось образованием только в его S-белке около 10 новых мутаций.

Поскольку в разных изолятах коронавируса варианта Альфа встречаются отличающиеся число замен, то точную цифру назвать невозможно. Собственно это относится не только в Альфе, но и ко всем другим вариантам SARS-CoV-2 и подобное можно наблюдать на изображениях вариантов коронавируса на сайте Стенфордского университета <https://covdb.stanford.edu/page/mutation-viewer/>, где представлены как условно типовые штаммы Альфа, Бета, Гамма, Дельта и Омикрона, так и их вариации с дополнительными заменами аминокислот.

С некоторой регулярностью вслед за Альфой стали появляться другие варианты SARS-CoV-2 Бета, Гамма, Дельта, часть которых довольно быстро вытесняла циркулирующие до этого варианты все по той же причине их большей заразности за счет лучшего связывания с ACE2 рецептором и более эффективного разрезания S-белка на две его субъединицы, что является важным условием проникновения коронавируса внутрь клеток слизистых тканей. Причем для каждого из этих VOC вариантов, включая Омикрон, характерны свои мутации, лишь частично совпадающие между ними, что можно видеть из рис. 3.

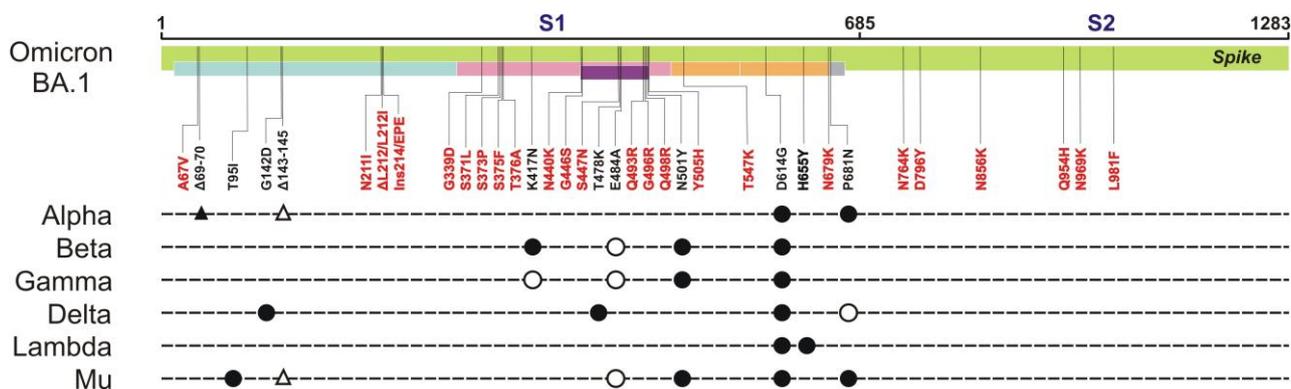


Рис. 3. Наиболее типичные мутации в Spike белке у разных вариантов SARS-CoV-2 по сравнению с Уханьским референсным штаммом. Красным цветом отмечены уникальные для Омикрона мутации. Треугольниками показаны делеции, причем в тех случаях, когда приведены только контуры это означает, что у данного варианта мутация в этом месте есть, но она несколько отличается от омикроновской. Аналогичным образом, но только кружочками изображены и однонуклеотидные несинонимичные мутации.

Fig.3. The most typical mutations in Spike proteins in different variants of SARS-CoV-2 compared to the Wuhan reference strain. Unique mutations for Omicron are marked in red. Triangles show deletions, and in cases where only the contours are visible, this means that this variant has a mutation in this place, but it is somewhat different from the Omicron one. The situation is similar with single-nucleotide missense mutations drawn by circles.

Помимо VOC вариантов SARS-CoV-2 на рис. 3 приведены также еще два VOI вируса Lambda и Mu, первый из которых не похож на остальные, тогда как для второго спектр мутаций напоминает некоторые VOC варианты коронавируса. Различия в количестве мутаций для разных VOC вариантов SARS-CoV-2 между рис. 3 и таблицей 2 вызваны фактическим отсутствием так называемых типовых последовательностей для них и нашим стремлением показать некоторое разнообразие мутаций. Характерной чертой для всех домикровских коронавируса служит почти полное отсутствие мутаций в S2 субъединице, однако таковые все же в разных изолятах встречаются, что приведено в таблице 2. При этом из таблицы 2 также можно видеть, что по мере возникновения новых вариантов SARS-CoV-2 увеличивалось количество мутаций в Spike белке. При этом оно в целом росло и в

остальных белках коронавируса, но они здесь нас интересовать не будут за исключением мутаций в NSP14, которых коснемся позже. Роли отдельных аминокислот и их сочетаний, определивших контагиозность VOC вариантов SARS-CoV-2, уже посвящено несколько обзоров [Jhun et al., 2021; Joshi et al., 2021; Tao et al., 2021; Thye et al., 2021] и поэтому не будем подробно на этом останавливаться, тем более, что основная цель данной статьи иная.

Так, в настоящее время считается, что всего VOC вариантов SARS-CoV-2, внушающих повышенную обеспокоенность, имеется пять. Часть из них практически уже не встречаются, тогда как появившийся только недавно в ноябре 2021 г. вариант B.1.1.529, названный Омикроном, фактически вытесняет все прежние, включая пока «сопротивляющуюся» Дельту. Причем по данным ВОЗ, помимо B.1.1.529, сейчас уже существует три

Весьма характерно, что в субъединице 2 Spike белка мутаций несколько меньше, что объясняется селективным давлением преимущественно на субъединицу 1, отвечающую за связывание с ACE2, и находящуюся снаружи вирусной частицы. Причем такое селективное давление на вирусный геном происходит, в том числе из-за вакцинирования, поскольку большинство вакцин основано на формировании протективных антител к иммуногенным эпитопам именно в S-белке, а вирус стремится обойти такую защиту, то есть стать невидимым для хозяйских антител, синтезированных на основе вакцин, или для антител, образовавшихся в ходе течения COVID-19. И по мере накопления мутаций снижалась эффективность таких вакцинных препаратов [Singh et al., 2021], что в общем было ожидаемым. Однако, все же позволяя вирусу проникнуть в клетку, вакцины затрудняют процесс размножения SARS-CoV-2 благодаря другим эпитопам, которые не подверглись мутациям, сглаживая течение болезни. И здесь некоторым образом стоит Омикрон, у которого и в этой части S-белка немало замен, но этому новому VOC варианту коронавируса требуется уделить особое внимание.

Во многих статьях отмечается, что за счет большого числа мутаций в S-белке Омикрон намного прочнее связывается с рецептором ACE2 и при этом они же помогают ему ускользать от действия антител, выработавшихся в результате прививок или ранее перенесенного COVID-19, вызванного прежними штаммами [Planas et al., 2021; Hu et al., 2022; Khan et al., 2022; Lupala et al., 2022; Ortega et al., 2022; Rath et al., 2022]. Показано также, что против Омикрона многие моноклональные антитела, в том числе используемые в клинической практике, эффективно не действуют [Chen et al., 2022; Lippi et al., 2022; VanBlargan et al., 2022]. Проведенный компьютерный анализ комплекса Spike белка с ACE2 рецептором показал, что семь мутаций в RBD домене у Омикрона обеспечивают формирование двух ионных взаимодействий, образование восьми водородных связей и семи Ван-дер-Ваальсовских взаимодействий, что серьезно увеличивает сродство этого комплекса, значительно превосходящее таковое у Уханьского штамма [Koley et al., 2022]. Другими авторами высказана точка зрения, что мутации в Омикроне увеличили электростатический потенциал Spike белка, что может также влиять на его сродство к ACE2 рецептору [Pascarella et al., 2022].

У субвариантов Омикрона BA.1 и BA.2 в гене NSP14 в его E_hN части выявлены замены аминокислот I42V и N129D, но они не затронули каталитические мотивы из остатков аспарагиновой кислоты и глутамин D E D D с локализацией этих ключевых аминокислот у новых коронавирусов в положениях 90, 92, 243 и 273 соответственно. Здесь

стоит также заметить, что вне каталитических мотивов выявлены замены аминокислот N256S у Гаммы и A394V у Дельты. Ранее при анализе почти 12 тысяч секвенированных геномов SARS-CoV-2, относящихся к разным кладам и летом 2020 г. взятым из базы данных GISAID, в гене NSP14 было обнаружено несколько мутаций, только две из которых T18736C и C18998T привели к заменам аминокислот F233L и A320V соответственно [Eskier et al., 2020]. Хотя авторы упомянули о возможном увеличении мутаций у таких вариантов коронавируса, но скорее всего эти замены не должны были приводить к подобному эффекту, поскольку также расположены вне каталитических мотивов.

Происхождение Омикрона

24 ноября 2021 г. Южноафриканская республика информировала ВОЗ об обнаружении ими нового варианта SARS-CoV-2 с очень большим числом мутаций по всему геному, отнесенный к Nextstrain кладе 21K, GISAID кладе GR/484A и Pango линии B.1.1.529. 26 ноября 2021 г. организованная при ВОЗ Technical Advisory Group on SARS-CoV-2 Virus Evolution присвоила этому варианту статус VOC и назвала его Омикроном. При этом впервые изоляты Омикрона были взяты 11 ноября в Ботсване и 14 ноября 2021 г. в ЮАР. 7 декабря в ЮАР был обнаружен изолят, отнесенный к другому подварианту BA.2 и Nextstrain 21L. В одной из статей [Sharma et al., 2021] приведена подробная хронология событий появления и начала циркуляции Омикрона в человеческой популяции, согласно которой уже к 26 декабря 2021 г. этот VOC вариант проник в 115 стран. Но откуда взялся этот вариант SARS-CoV-2 остается настоящей загадкой.

В недавней обзорной статье в журнале Nature [Mallapathy, 2022] приведены высказывания большого числа ученых разных стран относительно появления варианта Омикрон, которые можно кратко резюмировать, что Омикрон явился для всех полной неожиданностью. При этом существует несколько гипотез, которых стоит коротко коснуться. По одной из них допускается, что этот вариант Омикрон SARS-CoV-2 развивался незаметно и не попадал в секвенируемые изоляты, возможно мутируя постепенно и не приобретая до поры огромное преимущество по контагиозности. При этом в какой-то момент могли произойти одна-две ключевые мутации, благодаря которым рядовой никому неизвестный коронавирус из квазивида SARS-CoV-2 стал нынешним крайне заразным Омикроном. Хотя нельзя исключать и рекомбинацию, способную привести сразу несколько мутаций. В пользу этого говорит, что к моменту обнаружения Омикрона было секвенировано немногим более 6 млн. изолятов, а переболевших людей сотни миллионов, к тому же SARS-CoV-2 квазивид и у одного человека могут

присутствовать множество разнообразных вариантов, не получающих среди прочих особого преимущества до какого-то времени. То есть Омикрон, еще не будучи Омикроном, незаметно постепенно мутировал. Возможно, персистируя в людях с ослабленным иммунитетом, что рассматривается в качестве другого объяснения неожиданного появления Омикрона. Здесь, пожалуй, стоит вспомнить случай с человеком, болевшим COVID-19 пять месяцев и некоторые мутации у находившихся в нем коронавирусах [Choi et al., 2020]. Так, со временем возникла делеция трех аминокислот в положениях 143-145 аминокислотной последовательности, которая (вновь, учитывая некую консервативность происходящих мутаций) появляется у Омикрона B.1.1.529, тогда как у других VOC вариантов ее нет, за исключением Альфы, у которой отсутствует только одна аминокислота из трех в этом месте. Также ни у одного варианта не замечено мутаций N440D и Q493K, которые характерны Омикронам. Безусловно в силу ряда причин в том числе географических не квазивирусы того человека послужили для формирования Омикрона и это лишь свидетельствует, что подобные мутации могли происходить и в других местах и накапливаться, оставаясь незамеченными. При этом они все же не совсем случайны, поскольку неизбежно возникающие нежелательные мутации для вируса тут же элиминируются. К тому же есть страны, которые в силу разных причин секвенируют довольно мало изолятов на своей территории, а как уже говорилось выше именно полногеномное секвенирование является очень важной составляющей

слежения за SARS-CoV-2 – его эволюционированием и распространением. Довольно быстрое появление трех подвариантов Омикрона (причем отличающихся сразу несколькими мутациями) также свидетельствует о скрытом эволюционировании предшественника Омикрона. При этом кое-кто не исключает эволюционирование Омикрона не в человеке, а в некоторых животных, например в мышах или в крысах, для чего ему пришлось дважды перешагнуть межвидовые барьеры [Bate et al., 2021; Wei et al. 2021; Sun et al., 2022]. Вообще новый коронавирус SARS-CoV-2 уже оказался способен заражать различных зверей в зоопарках, норок на зверофермах, проник в популяции белохвостых оленей в Северной Америке. При этом отдельных изолятов SARS-CoV-2, выделенных от животных, секвенировано всего около двух тысяч, что не дает полной картины мутаций нового коронавируса в них.

Все же на наш взгляд более правдоподобной служит версия скрытого эволюционирования Омикрона и в этой связи может быть интересно к каким вариантам он оказался ближе. На рис. 3 и в таблице 2 мы привели отличия различных VOC и VOI вариантов новых коронавирусов, из которых видна удаленность Омикрона от всех прочих. Однако чтобы более четко проследить его возможную связь с остальными вариантами SARS-CoV-2 с помощью программы MegAlign из пакета LaserGene фирмы DNASTar, Inc. были проведены выравнивания аминокислотных и нуклеотидных последовательностей, как Spike белка, так и всего генома, представленные на рис. 4 – 7.

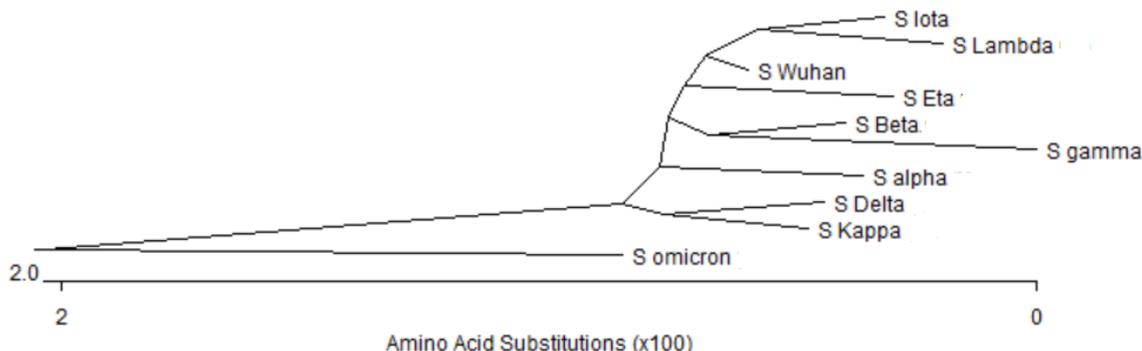


Рис. 4. Филогенетическое древо сходства некоторых вариантов SARS-CoV-2, построенное на основе выравнивания аминокислотных последовательностей Spike белка. Тривиальные названия VOC и VOI вариантов SARS-CoV-2 приведены на самом рисунке

Fig. 4. Phylogenetic tree of similarity of some variants of SARS-CoV-2, built on the basis of alignment of amino acid sequences of Spike protein. The trivial names of the VOC and VOI variants of SARS-CoV-2 are shown in the figure

Как можно видеть из рис. 4 ряд вариантов нового коронавируса образуют отдельные клады, тогда как некоторые довольно обособлены. При этом Омикрон настолько удален, что фактически выступает в качестве внешней группы при таком сравнении. В силу вырожденности генетического кода не все

нуклеотидные замены приводят к заменам аминокислот и в этой связи логично построить филогенетические древа коронавирусов на основе их РНК полиморфизма, более точно отражающие процессы их эволюционирования, результаты чего представлены на следующих рисунках.

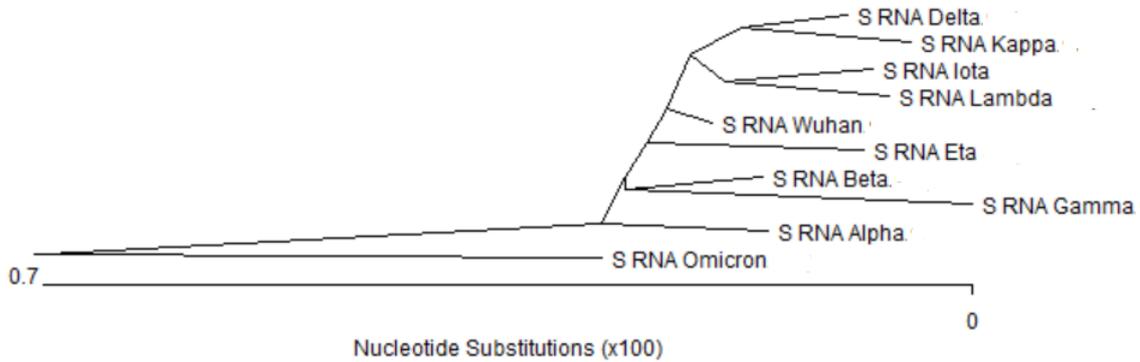


Рис. 5. Филогенетическое древо сходства некоторых вариантов SARS-CoV-2, построенное на основе выравнивания нуклеотидных последовательностей гена Spike белка. Тривиальные названия VOC и VOI вариантов SARS-CoV-2 приведены на самом рисунке

Fig. 5. Phylogenetic tree of similarity of some variants of SARS-CoV-2, built on the basis of alignment of nucleotide sequences of the Spike protein gene. The trivial names of the VOC and VOI variants of SARS-CoV-2 are shown in the figure

Приведенное на рис. 5 филогенетическое древо тех же вариантов коронавируса, что и на рис. 4 демонстрирует некоторые отличия, свидетельствующее, что к Омикрону чуть ближе остальных подходит Альфа. Также на нуклеотидном уровне было

продолжено сравнение полных геномов коронавируса, для чего в одно из сравнений был добавлен геном старого коронавируса SARS-CoV (рис. 6).

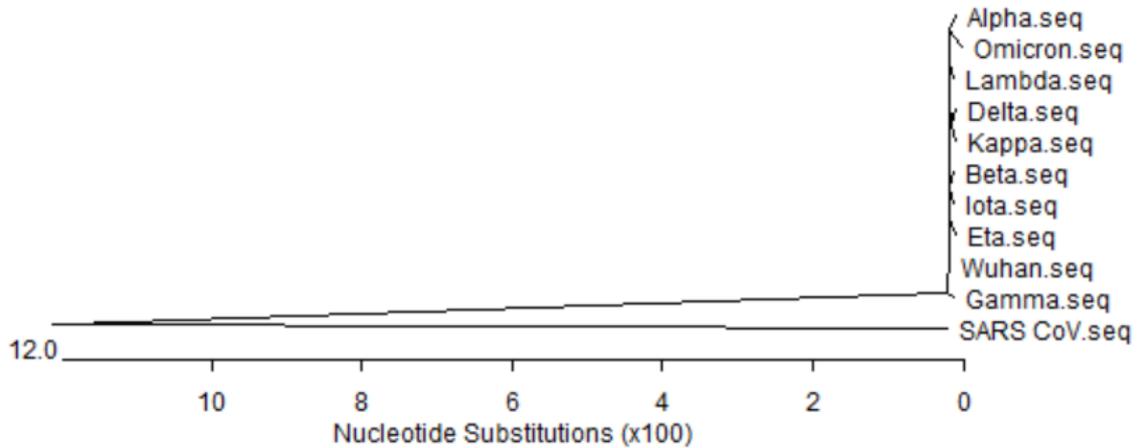


Рис. 6. Филогенетическое древо сходства некоторых вариантов SARS-CoV-2, построенное на основе выравнивания нуклеотидных последовательностей всего вирусного генома с использованием в качестве внешней группы генома SARS-CoV. Тривиальные названия VOC и VOI вариантов SARS-CoV-2 приведены на самом рисунке

Fig. 6. Phylogenetic tree of similarity of some variants of SARS-CoV-2, built on the basis of alignment of the nucleotide sequences of the entire viral genome using the SARS-CoV genome as an external group. The trivial names of the VOC and VOI variants of SARS-CoV-2 are shown in the figure

При анализе филогенетического древа на рис. 6 обращает на себя внимание, что все варианты SARS-CoV-2 сформировали отдельную кладу, тогда как SARS-CoV, как и предполагалось, выступил в качестве

внешней группы. При этом выяснение филогенетического родства вариантов нового коронавируса из такого сравнения затруднительно, хотя можно опять-таки отметить близость Омикрона к Альфе.

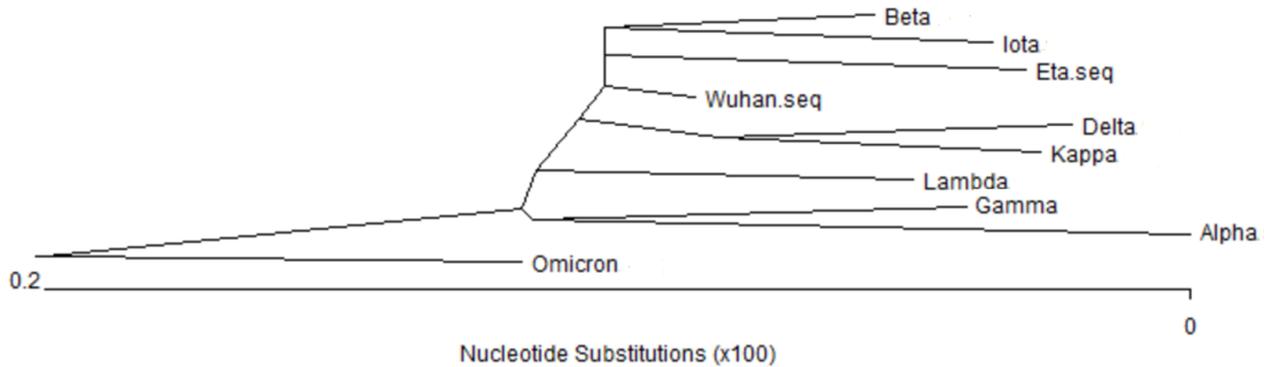


Рис. 7. Филогенетическое древо сходства некоторых вариантов SARS-CoV-2, построенное на основе выравнивания нуклеотидных последовательностей всего вирусного генома, где в качестве внешней группы оказался геном Омикрона. Тривиальные названия VOC и VOI вариантов SARS-CoV-2 приведены на самом рисунке
 Fig. 7. Phylogenetic tree of similarity of some variants of SARS-CoV-2, built on the basis of alignment of nucleotide sequences of the entire viral genome, where the Omicron genome turned out to be an external group.
 The trivial names of the VOC and VOI variants of SARS-CoV-2 are shown in the figure

Исключив из сравнения старый коронавирус SARS-CoV, мы получили картину, более четко позволяющую установить определенную генетическую близость разных вариантов SARS-CoV-2 тем более, что анализировались их полные геномы. В этом случае Омикрон фактически оказался внешней группой, но к нему ближе стоит Альфа вместе с Гаммой. Незначительные отличия, существующие между деревьями на основе нуклеотидных последовательностей гена Spike белка и всего генома, возможно объясняются тем селективным давлением, которое действует в неодинаковой степени на разные генетические элементы SARS-CoV-2, приводя к их некоторой эволюционной независимости.

В одной из работ с использованием других компьютерных программ и нескольких алгоритмов построение филогенетических древ получены схожие результаты по расположению Омикрона в виде отдельной клады/ветви, также напоминающей внешнюю группу [Kandeel et al., 2021]. Однако в одном из подобных выравниваний Омикрон сформировал с Альфой отдельную кладу, причем находящуюся в центре древа.

В базе данных Nextstrain (<https://nextstrain.org>) приведена иллюстрация, позволяющая проследить родственные отношения VOC и VOI целого ряда вариантов SARS-CoV-2, включая Омикрон (рис. 8). Несколько удивительно расположение Омикрона 21M до Омикронов 21K и 21L, поскольку по хронологии их обнаружения было наоборот, хотя если принимать во внимание присущие им наборы мутаций, то может такая последовательность как раз и соответствует действительности.

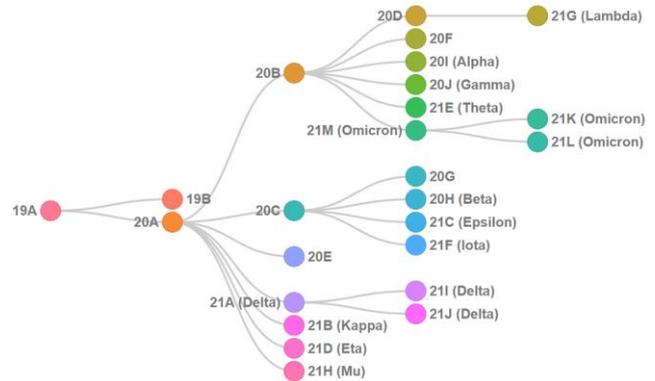


Рис. 8. Родственные связи коронавирусов SARS-CoV-2 согласно базе данных Nextstrain (<https://nextstrain.org>)
 Fig. 8. Relationships of the SARS-CoV-2 coronavirus according to the Nextstrain database (<https://nextstrain.org>).

Впрочем, построение подобных филогенетических древ и выяснение родства различных VOC SARS-CoV-2, включая Омикрон, не дает ясности как именно возник этот вариант, поскольку ничего не предвещало его появление. Однако знание этой информации носит отнюдь не только академический характер, поскольку в практической плоскости для благополучия всего человечества крайне важно понимать – «А чего еще можно от этого коронавируса ждать дальше?».

Заключение

Задавшись в заголовке данной статьи вопросом – а хватит ли букв греческого алфавита для обозначения новых вариантов коронавируса SARS-CoV-2, которые по всей видимости неизбежно будут еще появляться, в ходе изложения основного материала мы готовились в ЗаклЮчении дать на него ответ и он так или иначе готов. Но прежде нужно напомнить, что букв в греческом алфавите 24, однако в силу ряда причин не все¹¹ могут быть использованы для обозначения вариантов SARS-CoV-2. При этом только за два года пандемии новой коронавирусной инфекции на обозначения разных вариантов SARS-CoV-2 уже «израсходовано» более половины алфавита¹² и это, не считая исходного Уханьского штамма, служащего референсным, а также быстро заменившего его везде варианта D614G, оставшихся без подобных ВОЗовских греческих обозначений. Причем появление новых вариантов SARS-CoV-2, внушающих опасения (VOC) и представляющих определенный интерес (VOI), которым, согласно предложению ВОЗ, должны присваиваться подобные тривиальные обозначения, идет пока если не с ускорением, но и не замедляется. Сохранится ли эта тенденция, либо пойдет на спад, безусловно, покажет только время, однако некоторые моменты действительно внушают тревогу.

Дело, конечно же, не в количестве доступных греческих букв, поскольку к ним можно добавлять, например арабские или римские цифры практически до бесконечности. Как уже говорилось выше, вирус, чтобы сохранить себя вынужден эволюционировать, соблюдая баланс между мутациями и стабильностью генома, но похоже на то, что SARS-CoV-2 уже преодолел некую планку в виде количества вирионов, которых, напомним, во всем мире образовалось за два года пандемии не меньше секстиллиона, к тому же многие из них несут внутривидовые мутации, поскольку это самый настоящий квазивид и эти постоянные изменения его генома просто кладезь для дальнейшего эволюционирования SARS-CoV-2. Из этого следует, что мутации в новом коронавирусе будут продолжать накапливаться, в том числе, абсолютно незаметно¹³ и есть вероятность их нахождения со временем не в разных вирионах (как это преимущественно происходит сейчас), а в некоем

«концентрированном» виде в отдельных вирионах¹⁴, которые могут стать как летальными для самого вируса, так и опасными для человека. При этом различные лекарства, включая вакцины, всяко оказывают селективное давление на эволюцию SARS-CoV-2, приводя к появлению новых вариантов, способных обходить иммунную защиту, как это уже произошло все с тем же Омикроном.

Пока что произошедшие мутации в гене NSP14, кодирующем, в том числе экзорибонуклеазу ExoN, ответственную за точность репликации, критичными считать нельзя, поскольку они не затронули каталитические домены, но что произойдет, если появится жизнеспособный вариант SARS-CoV-2 со слегка нарушенным контролем репликации даже страшно представить.

Другое опасение вызывает расширение спектра видов организмов¹⁵, которых способен заражать новый коронавирус, поскольку он, изменившись в новом хозяине, теоретически способен будет повторно преодолеть межвидовой барьер. Хотя это считается крайне редким событием, но нельзя забывать, что сейчас в человеческой популяции и, вероятно в ряде популяций других видов животных, особенно синантропных, циркулирует столь большое количество несколько отличающихся вирусных частиц SARS-CoV-2, что подобные перескоки в виде расширения круга хозяйских видов вполне могут иметь место. И тому уже есть подтверждения на примере норок из звероводческих хозяйств [Oude Munnink et al., 2021]. Причем все прежние оценки поведения вирусов в случае с SARS-CoV-2 должны быть пересмотрены опять-таки из-за его накопленного огромного количества вирусных частиц, поскольку ни одного этиологического агента, столь массово одномоментно представленного на Земле до этого никогда не было.

Но сдаваться в борьбе с SARS-CoV-2 человечеству конечно же нельзя. Самой главной защитой от нового коронавируса безусловно является вакцинирование,¹⁶ пусть даже ввиду множества мутаций в некоторых вариантах вируса полностью не предотвращающее заражение, но тем не менее защищающее от тяжелого течения болезни благодаря наличию в проникшем вирусе некоторых

¹¹ в частности, были пропущены буквы Nu и Xi, поскольку произношение первой похоже на слово New, тогда как вторая совпадает с весьма распространенной фамилией

¹² Омикрон – 15-ая буква по порядку

¹³ поскольку далеко не все изоляты в силу разных причин могут быть секвенированы

¹⁴ и омикрон яркий тому пример

¹⁵ причем с частью из них человек контактирует довольно активно – одних норок в разных странах содержат в общей сложности несколько десятков миллионов особей

¹⁶ наряду с ношением масок и соблюдением прочих требований личной гигиены

немутировавших¹⁷ иммуногенных эпитопов, антитела к которым у людей имеются и мешают вирусу размножаться [Duan et al., 2022]. Нельзя забывать и о Т-клеточном иммунитете, который имеет более пролонгированную память и в связи с вариантом Омикрон на него уже обращено внимание с целью определения длительности его действия и возможности защиты от повторного инфицирования [Keeton et al., 2021]. Однако надежды на то, что все население Планеты переболеет вызываемой Омикроном более легкой формой COVID-19 и приобретет иммунную защиту, способную положить конец пандемии, скорее всего не оправдаются, поскольку, во-первых, в силу многих мутаций антитела к Омикрону не будут стопроцентно защищать от той же Дельты или иных новых вариантов, которые могут относиться к другим клладам нежели Омикрон. К тому же легкое течение болезни после инфекции Омикроном, скорее всего, не обеспечивает формирования у человека стойкого длительного иммунного ответа¹⁸ и поэтому тем же Омикроном или его разновидностями через некоторое время можно заразиться повторно, что и происходит.

Все же в завершении статьи хочется выразить надежду на полную победу человека над коронавирусом SARS-CoV-2 или хотя бы на некое его обуздание, по которому COVID-19 превратится в сезонную вирусную инфекцию, передающуюся воздушно-капельным путем, которых немало, в том числе вызываемых «старыми» коронавирусами HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 и HCoV-NKU1. Хорошо бы конечно чтобы SARS-CoV-2 исчез бесследно как почти два десятилетия назад это произошло с SARS-CoV, и тогда оставшихся греческих букв точно хватит. Однако огромное количество постоянно образующихся сейчас вирусных частиц нового коронавируса видимо уже не позволит ему исчезнуть полностью и буквы для тривиальных названий, вероятно, будут требоваться. Но может человечеству все же повезет и пандемия закончится!

¹⁷ к сожалению SARS-CoV-2 мутирует быстрее, нежели могут быть изготовлены и допущены к применению новые вакцины и это тоже определяется его массовостью, но, вне всякого сомнения, что через некоторое время потребуются другие генно-инженерные вакцины, в том числе РНК-вакцины, в основе которых должны быть те же Spike белки, но уже от изменившихся штаммов, либо вакцины на основе инактивированных вирусов опять-таки новых VOC вариантов, но еще лучше попытаться создать поливалентные вакцины, включающие сильно различающиеся варианты коронавируса типа Дельты и Омикрона в дополнение к Уханьскому штамму.

¹⁸ хотя не исключено, что это может быть не так

Литература

1. Гарафутдинов Р.Р., Мавзютов А.Р., Алексеев Я.И., Воробьев А.А., Никоноров Ю.М., Чубукова О.В., Матниязов Р.Т., Баймиев Ан.Х., Максимов И.В., Кулуев Б.Р., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В. Бетакоронавирусы человека и их высокочувствительная детекция с помощью ПЦР и прочих методов амплификации // *Biomics*. 2020. Т.12(1). С. 121-179. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-7
2. Гарафутдинов Р.Р., Мавзютов А.Р., Никоноров Ю.М., Чубукова О.В., Матниязов Р.Т., Баймиев Ан.Х., Максимов И.В., Мифтахов И.Ю., Халикова Е.Ю., Кулуев Б.Р., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В. Бетакоронавирус SARS-CoV-2, его геном, разнообразие генотипов и молекулярно-биологические меры борьбы с ним // *Biomics*. 2020. Т.12(2). С. 242-271. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-15
3. Зубов В.В., Чемерис Д.А., Василов Р.Г., Курочкин В.Е., Алексеев Я.И. Краткая история методов высокопроизводительного секвенирования нуклеиновых кислот // *Biomics*. 2021. Т.13(1). С. 27- 46. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-4
4. Мавзютов А.Р., Гарафутдинов Р.Р., Халикова Е.Ю., Газизов Р.Р., Баймиев Ан.Х., Никоноров Ю.М., Максимов И.В., Кулуев Б.Р., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В. Загадки нового коронавируса SARS-CoV-2 // *Биомика*. 2021. Т.13(1). С. 75-99. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-7
5. Мавзютов А.Р., Гарафутдинов Р.Р., Халикова Е.Ю., Юлдашев Р.А., Хусаинова Р.И., Чубукова О.В., Гималов Ф.Р., Матниязов Р.Т., Алексеев Я.И., Воробьев А.А., Вершинина З.Р., Мифтахов И.Ю., Никоноров Ю.М., Максимов И.В., Кулуев Б.Р., Баймиев Ан.Х., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В. Проблемные аспекты диагностики коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 с помощью обратнотранскрипционной ПЦР // *Biomics*. 2020. Т.12(4). С. 564-590. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-50
6. Никоноров Ю.М., Хасанова С.С., Филатова О.В., Беньковская Г.В., Чемерис А.В., Вахитов В.А., Ткаченко В.Н. Анализ первичной структуры РНК хантавируса, обнаруженного в органах погибших от ГЛПС больных в Республике Башкортостан // *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2001. №1, С.35-39.
7. Чубукова О.В., Хасанова С.С., Никоноров Ю.М., Кулагин В.Ф., Чемерис А.В., Вахитов В.А. Иммуногенность N-белка хантавируса Пуумала для беспородных мышей при внутримышечном введении его гена // *Вопросы вирусологии*. 2008. Т.53 (4). С. 38-41.
8. Bouvet M., Lugari A., Posthuma C.C., Zevenhoven J.C., Bernard S., Betzi S., Imbert I., Canard B.,

- Guillemot J.C., Lécine P., Pfefferle S., Drosten C., Snijder E.J., Decroly E., Morelli X. Coronavirus Nsp10, a critical co-factor for activation of multiple replicative enzymes // *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289(37). P. 25783-96. doi: 10.1074/jbc.M114.577353.
9. Chen J., Wang R., Gilby N.B., Wei G.W. Omicron Variant (B.1.1.529): Infectivity, Vaccine Breakthrough, and Antibody Resistance // *J. Chem. Inf. Model.* 2022. V. 62(2). P. 412-422. doi: 10.1021/acs.jcim.1c01451.
 10. Chen J., Wei G.W. Omicron BA.2 (B.1.1.529.2): high potential to becoming the next dominating variant // *ArXiv [Preprint]*. 2022. arXiv:2202.05031v1.
 11. Choi B., Choudhary M.C., Regan J. ..., Cernadas M., Li J.Z. Persistence and Evolution of SARS-CoV-2 in an Immunocompromised Host // *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 383(23). P. 2291-2293. doi: 10.1056/NEJMc2031364.
 12. Corman V.M., Eckerle I., Bleicker T., Zaki A., Landt O., Eschbach-Bludau M., Gopal R., Ballhause M., Bestebroer T.M., Muth D., Müller M.A., Drexler J.F., Zambon M., Osterhaus A.D., Fouchier R.M., Drosten C. Detection of a novel human coronavirus by real-time reverse-transcription polymerase chain reaction // *Euro Surveill.* 2012. V. 17(39). pii: 20285. doi: 10.2807/ese.17.39.20285-en.
 13. Denison M.R., Graham R.L., Donaldson E.F., Eckerle L.D., Baric R.S. Coronaviruses: an RNA proofreading machine regulates replication fidelity and diversity // *RNA Biol.* 2011. V. 8(2). P. 270-279. doi: 10.4161/rna.8.2.15013.
 14. Duan X., Shi R., Liu P., Huang Q., Wang F., Chen X., Feng H., Huang W., Xiao J., Yan J. A non-ACE2-blocking neutralizing antibody against Omicron-included SARS-CoV-2 variants // *Signal Transduct. Target Ther.* 2022. V. 7(1). P. 23. doi: 10.1038/s41392-022-00879-2.
 15. Eckerle L.D., Becker M.M., Halpin R.A., Li K., Venter E., Lu X., Scherbakova S., Graham R.L., Baric R.S., Stockwell T.B., Spiro D.J., Denison M.R. Infidelity of SARS-CoV Nsp14-exonuclease mutant virus replication is revealed by complete genome sequencing // *PLoS Pathog.* 2010. V. 6(5). e1000896. doi: 10.1371/journal.ppat.1000896.
 16. Eskier D., Suner A., Oktay Y., Karakulah G. Mutations of SARS-CoV-2 nsp14 exhibit strong association with increased genome-wide mutation load // *Peer J.* 2020. V. 12(8). e10181. doi: 10.7717/peerj.10181.
 17. Forster P., Forster L., Renfrew C., Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020. pii: 202004999. doi: 10.1073/pnas.2004999117.
 18. Gao R., Zu W., Liu Y., Li J., Li Z., Wen Y., Wang H., Yuan J., Cheng L., Zhang S., Zhang Y., Zhang S., Liu W., Lan X., Liu L., Li F., Zhang Z. Quasispecies of SARS-CoV-2 revealed by single nucleotide polymorphisms (SNPs) analysis // *Virulence.* 2021. V. 12(1). P. 1209-1226. doi: 10.1080/21505594.2021.1911477.
 19. Gregori J., Cortese M.F., Piñana M., Campos C., Garcia-Cehic D., Andrés C., Abril J.F., Codina M.G., Rando A., Esperalba J., Sulleiro E., Joseph J., Saubí N., Colomer-Castell S., Martín M.C., Castillo C., Esteban J.I., Pumarola T., Rodríguez-Frias F., Antón A., Quer J. Host-dependent editing of SARS-CoV-2 in COVID-19 patients // *Emerg. Microbes Infect.* 2021. V. 10(1). P. 1777-1789. doi: 10.1080/22221751.2021.1969868.
 20. Gribble J., Stevens L.J., Agostini M.L., Anderson-Daniels J., Chappell J.D., Lu X., Pruijssers A.J., Routh A.L., Denison M.R. The coronavirus proofreading exoribonuclease mediates extensive viral recombination // *PLoS Pathog.* 2021. V. 17(1). e1009226. doi: 10.1371/journal.ppat.1009226.
 21. Hu J., Peng P., Cao X., Wu K., Chen J., Wang K., Tang N., Huang A.L. Increased immune escape of the new SARS-CoV-2 variant of concern Omicron // *Cell. Mol. Immunol.* 2022. V. 19(2). P. 293-295. doi: 10.1038/s41423-021-00836-z.
 22. Jhun H., Park H.Y., Hisham Y., Song C.S., Kim S. SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Variant: A Unique T478K Mutation in Receptor Binding Motif (RBM) of Spike Gene // *Immune Netw.* 2021. V. 21(5). e32. doi: 10.4110/in.2021.21.e32.
 23. Joshi N., Tyagi A., Nigam S. Molecular Level Dissection of Critical Spike Mutations in SARS-CoV-2 Variants of Concern (VOCs): A Simplified Review // *Chemistry Select.* 2021. V. 6(31). P. 7981-7998. doi: 10.1002/slct.202102074.
 24. Kandeel M., Mohamed M.E.M., Abd El-Lateef H.M., Venugopala K.N., El-Beltagi H.S. Omicron variant genome evolution and phylogenetics // *J. Med. Virol.* 2022. V. 94(4). P. 1627-1632. doi: 10.1002/jmv.27515.
 25. Karim S.S.A., Karim Q.A. Omicron SARS-CoV-2 variant: a new chapter in the COVID-19 pandemic // *Lancet.* 2021. V. 398(10317). P. 2126-2128. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02758-6.
 26. Keeton R., Tincho M.B., Ngomti A. ..., Burgers W.A., Riou C. T-cell responses to SARS-CoV-2 spike cross-recognize Omicron // *Nature.* 2022. V. 31. doi: 10.1038/s41586-022-04460-3.
 27. Khan A., Waris H., Rafique M., Suleman M., Mohammad A., Ali S.S., Khan T., Waheed Y., Liao C., Wei D.Q. The Omicron (B.1.1.529) variant of SARS-CoV-2 binds to the hACE2 receptor more strongly and escapes the antibody response: Insights from structural and simulation data // *Int. J. Biol.*

- Macromol. 2022. V. 200. P. 438-448. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.01.059.
28. Khan T., Jamal S.M. SARS-CoV-2 nomenclature: viruses, variants and vaccines need a standardized naming system // *Future Virol.* 2021. doi: 10.2217/fvl-2021-0198.
 29. Khater S., Kumar P., Dasgupta N., Das G., Ray S., Prakash A. Combining SARS-CoV-2 Proofreading Exonuclease and RNA-Dependent RNA Polymerase Inhibitors as a Strategy to Combat COVID-19: A High-Throughput in silico Screening // *Front. Microbiol.* 2021. V. 12. 647693. doi: 10.3389/fmicb.2021.647693.
 30. Koley T., Kumar M., Goswami A., Ethayathulla A.S., Hariprasad G. Structural modeling of Omicron spike protein and its complex with human ACE-2 receptor: Molecular basis for high transmissibility of the virus // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2022. V. 592. P. 51-53. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.12.082.
 31. Konings F., Perkins M.D., Kuhn J.H. ..., Ziebuhr J., Van Kerkhove M.D. SARS-CoV-2 Variants of Interest and Concern naming scheme conducive for global discourse // *Nat. Microbiol.* 2021. V. 6(7). P. 821-823. doi: 10.1038/s41564-021-00932-w.
 32. Leung K., Shum M.H., Leung G.M., Lam T.T., Wu J.T. Early transmissibility assessment of the N501Y mutant strains of SARS-CoV-2 in the United Kingdom, October to November 2020 // *Euro Surveill.* 2021. V. 26(1). 2002106. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.26.1.2002106.
 33. Li J., Du P., Yang L., ..., Zeng H., Chen C. Two-step fitness selection for intra-host variations in SARS-CoV-2 // *Cell Rep.* 2022. V. 38(2). 110205. doi: 10.1016/j.celrep.2021.110205.
 34. Lippi G., Mattiuzzi C., Henry B.M. Neutralizing potency of COVID-19 vaccines against the SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant // *J. Med. Virol.* 2022. doi: 10.1002/jmv.27575.
 35. Lupala C.S., Ye Y., Chen H., Su X.D., Liu H. Mutations on RBD of SARS-CoV-2 Omicron variant result in stronger binding to human ACE2 receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2022. V. 590. P. 34-41. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.12.079.
 36. Ma Y., Wu L., Shaw N., Gao Y., Wang J., Sun Y., Lou Z., Yan L., Zhang R., Rao Z. Structural basis and functional analysis of the SARS coronavirus nsp14-nsp10 complex // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2015. V. 112(30). P. 9436-9441. doi: 10.1073/pnas.1508686112.
 37. Mallapaty S. Where did Omicron come from? Three key theories // *Nature.* 2022. V. 602 (7895). P.26-28. doi: 10.1038/d41586-022-00215-2.
 38. Minskaia E., Hertzog T., Gorbalenya A.E., Campanacci V., Cambillau C., Canard B., Ziebuhr J. Discovery of an RNA virus 3'->5' exonuclease that is critically involved in coronavirus RNA synthesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. V. 103 (13). P. 5108-5113. doi: 10.1073/pnas.0508200103.
 39. Moeller N.H., Shi K., Demir Ö., Banerjee S., Yin L., Belica C., Durfee C., Amaro R.E., Aihara H. Structure and dynamics of SARS-CoV-2 proofreading exonuclease ExoN // *bioRxiv [Preprint].* 2021. doi: 10.1101/2021.04.02.438274.
 40. Morais I.J., Polveiro R.C., Souza G.M., Bortolin D.I., Sasaki F.T., Lima A.T.M. The global population of SARS-CoV-2 is composed of six major subtypes // *Sci. Rep.* 2020. V. 10(1). 18289. doi: 10.1038/s41598-020-74050-8.
 41. Mukherje R., Satardekar R. Why are some coronavirus variants more infectious? // *J. Biosci.* 2021. V. 46(4). 101. doi: 10.1007/s1203-021-0221-y.
 42. Ortega J.T., Jastrzebska B., Rangel H.R. Omicron SARS-CoV-2 Variant Spike Protein Shows an Increased Affinity to the Human ACE2 Receptor: An In Silico Analysis // *Pathogens.* 2021. V. 11(1). 45. doi: 10.3390/pathogens11010045.
 43. Oude Munnink B.B., Sikkema R.S., Nieuwenhuijse D.F., Molenaar R.J., Munger E., Molenkamp R., van der Spek A., Tolsma P., Rietveld A., Brouwer M., Bouwmeester-Vincken N., Harders F., Hakze-van der Honing R., Wegdam-Blans M.C.A., Bouwstra R.J., GeurtsvanKessel C., van der Eijk A.A., Velkers F.C., Smit L.A.M., Stegeman A., van der Poel W.H.M., Koopmans M.P.G. Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back to humans // *Science.* 2021. V. 371(6525). P. 172-177. doi: 10.1126/science.abe5901.
 44. Papanikolaou V., Chrysovergis A., Ragos V., Tsiambas E., Katsinis S., Manoli A., Papouliakos S., Roukas D., Mastronikolis S., Peschos D., Batistatou A., Kyrodimos E., Mastronikolis N. From delta to Omicron: S1-RBD/S2 mutation/deletion equilibrium in SARS-CoV-2 defined variants // *Gene.* 2022.V. 814. 146134. doi: 10.1016/j.gene.2021.146134.
 45. Pascarella S., Ciccozzi M., Bianchi M., Benvenuto D., Cauda R., Cassone A. The electrostatic potential of the Omicron variant spike is higher than in Delta and Delta-plus variants: A hint to higher transmissibility? // *J. Med. Virol.* 2022. V. 94(4). P. 1277-1280. doi: 10.1002/jmv.27528.
 46. Pathak A.K., Mishra G.P., Uppili B., ..., Raghav S.K., Mukerji M. Spatio-temporal dynamics of intra-host variability in SARS-CoV-2 genomes. *Nucleic Acids Res.* 2022. V. 50(3). P. 1551-1561. doi: 10.1093/nar/gkab1297.
 47. Planas D., Saunders N., Maes P., ..., André E., Schwartz O. Considerable escape of SARS-CoV-2 Omicron to antibody neutralization // *Nature.* 2021. doi: 10.1038/s41586-021-04389-z.

48. Poon L.L., Chan K.H., Wong O.K., Yam W.C., Yuen K.Y., Guan Y., Lo Y.M., Peiris J.S. Early diagnosis of SARS coronavirus infection by real time RT-PCR // *J. Clin. Virol.* 2003. V. 28(3). P. 233-238. doi: 10.1016/j.jcv.2003.08.004
49. Rath S.L., Padhi A.K., Mandal N. Scanning the RBD-ACE2 molecular interactions in Omicron variant // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2022. V. 592. P. 18-23. doi: 10.1016/j.bbrc.2022.01.006.
50. Riccio A.A., Sullivan E.D., Copeland W.C. Activation of the SARS-CoV-2 NSP14 3'-5' exoribonuclease by NSP10 and response to antiviral inhibitors // *J. Biol. Chem.* 2022. V. 298(1). 101518. doi: 10.1016/j.jbc.2021.101518.
51. Riediker M., Briceno-Ayala L., Ichihara G., Albani D., Poffet D., Tsai D.H., Iff S., Monn C. Higher viral load and infectivity increase risk of aerosol transmission for Delta and Omicron variants of SARS-CoV-2 // *Swiss Med. Wkly.* 2022. doi: 10.4414/smww.2022.w30133.
52. Saramago M., Bárria C., Costa V.G., Souza C.S., Viegas S.C., Domingues S., Lousa D., Soares C.M., Arraiano C.M., Matos R.G. New targets for drug design: importance of nsp14/nsp10 complex formation for the 3'-5' exoribonucleolytic activity on SARS-CoV-2 // *FEBS J.* 2021. V. 288(17). P. 5130-5147. doi: 10.1111/febs.15815.
53. Sender R., Bar-On Y.M., Gleizer S., Bernshtein B., Flamholz A., Phillips R., Milo R.. The total number and mass of SARS-CoV-2 virions // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2021. V. 118(25). e2024815118. doi: 10.1073/pnas.2024815118.
54. Sharma V., Rai H., Gautam D.N.S., Prajapati P.K., Sharma R. Emerging evidence on Omicron (B.1.1.529) SARS-CoV-2 variant // *J. Med. Virol.* 2022. doi: 10.1002/jmv.27626.
55. Singh D.D., Parveen A., Yadav D.K. SARS-CoV-2: Emergence of New Variants and Effectiveness of Vaccines // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021. V. 11. 777212. doi: 10.3389/fcimb.2021.777212.
56. Sun F., Wang X., Tan S., Dan Y., Lu Y., Zhang J., Xu J., Tan Z., Xiang X., Zhou Y., He W., Wan X., Zhang W., Chen Y., Tan W., Deng G. SARS-CoV-2 Quasispecies Provides an Advantage Mutation Pool for the Epidemic Variants // *Microbiol. Spectr.* 2021. V. 9(1). e0026121. doi: 10.1128/Spectrum.00261-21.
57. Sun Y., Lin W., Dong W., Xu J. Origin and evolutionary analysis of the SARS-CoV-2 Omicron variant // *J. Biosaf. Biosecur.* 2022. V. 4(1). P. 33-37. doi: 10.1016/j.jobb.2021.12.001.
58. Tahir M. Coronavirus genomic nsp14-ExoN, structure, role, mechanism, and potential application as a drug target // *J. Med. Virol.* 2021. V. 93(7). P. 4258-4264. doi: 10.1002/jmv.27009.
59. Tao K., Tzou P.L., Nouhin J., Gupta R.K., de Oliveira T., Kosakovsky Pond S.L., Fera D., Shafer R.W. The biological and clinical significance of emerging SARS-CoV-2 variants // *Nat. Rev. Genet.* 2021. V. 22(12). P. 757-773. doi: 10.1038/s41576-021-00408-x.
60. Thye A.Y., Law J.W., Pusparajah P., Letchumanan V., Chan K.G., Lee L.H. Emerging SARS-CoV-2 Variants of Concern (VOCs): An Impending Global Crisis // *Biomedicines.* 2021. V. 9(10). 1303. doi: 10.3390/biomedicines9101303.
61. Van Poelvoorde L.A.E., Delcourt T., Coucke W., Herman P., De Keersmaecker S.C.J., Saelens X., Roosens N.H.C., Vanneste K. Strategy and Performance Evaluation of Low-Frequency Variant Calling for SARS-CoV-2 Using Targeted Deep Illumina Sequencing // *Front. Microbiol.* 2021. V. 12. 747458. doi: 10.3389/fmicb.2021.747458.
62. Van Blargan L.A., Errico J.M., Halfmann P.J., Zost S.J., Crowe J.E. Jr., Purcell L.A., Kawaoka Y., Corti D., Fremont D.H., Diamond M.S. An infectious SARS-CoV-2 B.1.1.529 Omicron virus escapes neutralization by therapeutic monoclonal antibodies // *Nat. Med.* 2022. V. 19. P. 1-6. doi: 10.1038/s41591-021-01678-y.
63. Viana R., Moyo S., Amoako D.G. et al. Rapid epidemic expansion of the SARS-CoV-2 Omicron variant in southern Africa // *Nature.* 2022. V. doi: 10.1038/s41586-022-04411-y.
64. Voloch C.M., da Silva Francisco R.Jr., de Almeida L.G.P., Brustolini O.J., Cardoso C.C., Gerber A.L., Guimarães A.P.C., Leitão I.C., Mariani D., Ota V.A., Lima C.X., Teixeira M.M., Dias A.C.F., Galliez R.M., Faffe D.S., Pôrto L.C., Aguiar R.S., Castiñeira T.M.P.P., Ferreira O.C., Tanuri A., de Vasconcelos A.T.R. Intra-host evolution during SARS-CoV-2 prolonged infection // *Virus. Evol.* 2021. V. 7(2). doi: 10.1093/ve/veab078.
65. Wei C., Shan K.J., Wang W., Zhang S., Huan Q., Qian W. Evidence for a mouse origin of the SARS-CoV-2 Omicron variant // *J. Genet. Genomics.* 2021. V. 48(12). P. 1111-1121. doi: 10.1016/j.jgg.2021.12.003.

References

1. Bouvet M., Lugari A., Posthuma C.C., Zevenhoven J.C., Bernard S., Betzi S., Imbert I., Canard B., Guillemot J.C., Lécine P., Pfefferle S., Drosten C., Snijder E.J., Decroly E., Morelli X. Coronavirus Nsp10, a critical co-factor for activation of multiple replicative enzymes. *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289(37). P. 25783-96. doi: 10.1074/jbc.M114.577353.
2. Chen J., Wang R., Gilby N.B., Wei G.W. Omicron Variant (B.1.1.529): Infectivity, Vaccine Breakthrough, and Antibody Resistance. *J. Chem. Inf. Model.* 2022. V. 62(2). P. 412-422. doi: 10.1021/acs.jcim.1c01451.

3. Chen J., Wei G.W. Omicron BA.2 (B.1.1.529.2): high potential to becoming the next dominating variant. *ArXiv* [Preprint]. 2022. arXiv:2202.05031v1.
4. Choi B., Choudhary M.C., Regan J. ..., Cernadas M., Li J.Z. Persistence and Evolution of SARS-CoV-2 in an Immunocompromised Host // *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 383(23). P. 2291-2293. doi: 10.1056/NEJMc2031364.
5. Chubukova O.V., Khasanova S.S., Nikonorov Yu.M., Kulagin V.F., Chemeris A.V., Vakhitov V.A. Immunogenicity of N-protein of Puumala hantavirus for noninbred mice in the intramuscular administration of its gene DNA. *Vopr. Virusol.* 2008. V. 53(4). P. 38-41. (in Russian).
6. Corman V.M., Eckerle I., Bleicker T., Zaki A., Landt O., Eschbach-Bludau M., van Boheemen S., Gopal R., Ballhause M., Bestebroer T.M., Muth D., Müller M.A., Drexler J.F., Zambon M., Osterhaus A.D., Fouchier R.M., Drosten C. Detection of a novel human coronavirus by real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. *Euro Surveillance.* 2012. V. 17(39). pii: 20285. doi: 10.2807/ese.17.39.20285-en.
7. Denison M.R., Graham R.L., Donaldson E.F., Eckerle L.D., Baric R.S. Coronaviruses: an RNA proofreading machine regulates replication fidelity and diversity. *RNA Biol.* 2011. V. 8(2). P. 270-279. doi: 10.4161/rna.8.2.15013.
8. Duan X., Shi R., Liu P., Huang Q., Wang F., Chen X., Feng H., Huang W., Xiao J., Yan J. A non-ACE2-blocking neutralizing antibody against Omicron-included SARS-CoV-2 variants. *Signal Transduct. Target Ther.* 2022. V. 7(1). P. 23. doi: 10.1038/s41392-022-00879-2.
9. Eckerle L.D., Becker M.M., Halpin R.A., Li K., Venter E., Lu X., Scherbakova S., Graham R.L., Baric R.S., Stockwell T.B., Spiro D.J., Denison M.R. Infidelity of SARS-CoV Nsp14-exonuclease mutant virus replication is revealed by complete genome sequencing. *PLoS Pathog.* 2010. V. 6(5). e1000896. doi: 10.1371/journal.ppat.1000896.
10. Eskier D., Suner A., Oktay Y., Karakulah G. Mutations of SARS-CoV-2 nsp14 exhibit strong association with increased genome-wide mutation load. *Peer J.* 2020. V. 12(8). e10181. doi: 10.7717/peerj.10181.
11. Forster P., Forster L., Renfrew C., Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020. pii: 202004999. doi: 10.1073/pnas.2004999117.
12. Gao R., Zu W., Liu Y., Li J., Li Z., Wen Y., Wang H., Yuan J., Cheng L., Zhang S., Zhang Y., Zhang S., Liu W., Lan X., Liu L., Li F., Zhang Z. Quasispecies of SARS-CoV-2 revealed by single nucleotide polymorphisms (SNPs) analysis. *Virulence.* 2021. V. 12(1). P. 1209-1226. doi: 10.1080/21505594.2021.1911477.
13. Garafutdinov R.R., Mavzyutov A.R., Alekseev Ya.I., Vorobev A.A., Nikonorov Yu.M., Chubukova O.V., Matniyazov R.T., Baymiev An.Kh., Maksimov I.V., Kuluev B.R., Baymiev Al.Kh., Chemeris A.V. Human betacoronaviruses and their highly sensitive detection by PCR and other amplification methods. *Biomics.* 2020. V.12(1). P. 121-179. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-7 (In Russian)
14. Garafutdinov R.R., Mavzyutov A.R., Nikonorov Yu.M., Chubukova O.V., Matniyazov R.T., Baymiev An.Kh., Maksimov I.V., Miftakhov I.Yu., Khalikova E.Yu., Kuluev B.R., Baymiev Al.Kh., Chemeris A.V. Betacoronavirus SARS-CoV-2, its genome, variety of genotypes and molecular-biological approaches to combat it. *Biomics.* 2020. V.12(2). P. 242-271. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-15 (In Russian)
15. Gregori J., Cortese M.F., Piñana M., Campos C., Garcia-Cehic D., Andrés C., Abril J.F., Codina M.G., Rando A., Esperalba J., Sulleiro E., Joseph J., Saubí N., Colomer-Castell S., Martín M.C., Castillo C., Esteban J.I., Pumarola T., Rodriguez-Frias F., Antón A., Quer J. Host-dependent editing of SARS-CoV-2 in COVID-19 patients. *Emerg. Microbes Infect.* 2021. V. 10(1). P. 1777-1789. doi: 10.1080/22221751.2021.1969868.
16. Gribble J., Stevens L.J., Agostini M.L., Anderson-Daniels J., Chappell J.D., Lu X., Pruijssers A.J., Routh A.L., Denison M.R. The coronavirus proofreading exoribonuclease mediates extensive viral recombination. *PLoS Pathog.* 2021. V. 17(1). e1009226. doi: 10.1371/journal.ppat.1009226.
17. Hu J., Peng P., Cao X., Wu K., Chen J., Wang K., Tang N., Huang A.L. Increased immune escape of the new SARS-CoV-2 variant of concern Omicron. *Cell. Mol. Immunol.* 2022. V. 19(2). P. 293-295. doi: 10.1038/s41423-021-00836-z.
18. Jhun H., Park H.Y., Hisham Y., Song C.S., Kim S. SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) Variant: A Unique T478K Mutation in Receptor Binding Motif (RBM) of Spike Gene. *Immune Netw.* 2021. V. 21(5). e32. doi: 10.4110/in.2021.21.e32.
19. Joshi N., Tyagi A., Nigam S. Molecular Level Dissection of Critical Spike Mutations in SARS-CoV-2 Variants of Concern (VOCs): A Simplified Review. *Chemistry Select.* 2021. V. 6(31). P. 7981-7998. doi: 10.1002/slct.202102074.
20. Kandeel M., Mohamed M.E.M., Abd El-Lateef H.M., Venugopala K.N., El-Beltagi H.S. Omicron variant genome evolution and phylogenetics. *J. Med. Virol.* 2022. V. 94(4). P. 1627-1632. doi: 10.1002/jmv.27515.

21. Karim S.S.A., Karim Q.A. Omicron SARS-CoV-2 variant: a new chapter in the COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2021. V. 398(10317). P. 2126-2128. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02758-6.
22. Keeton R., Tincho M.B., Ngomti A. ..., Burgers W.A., Riou C. T-cell responses to SARS-CoV-2 spike cross-recognize Omicron // *Nature*. 2022. V. 31. doi: 10.1038/s41586-022-04460-3.
23. Khan A., Waris H., Rafique M., Suleman M., Mohammad A., Ali S.S., Khan T., Waheed Y., Liao C., Wei D.Q. The Omicron (B.1.1.529) variant of SARS-CoV-2 binds to the hACE2 receptor more strongly and escapes the antibody response: Insights from structural and simulation data. *Int. J. Biol. Macromol.* 2022. V. 200. P. 438-448. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.01.059.
24. Khan T., Jamal S.M. SARS-CoV-2 nomenclature: viruses, variants and vaccines need a standardized naming system. *Future Virol.* 2021. doi: 10.2217/fvl-2021-0198.
25. Khater S., Kumar P., Dasgupta N., Das G., Ray S., Prakash A. Combining SARS-CoV-2 Proofreading Exonuclease and RNA-Dependent RNA Polymerase Inhibitors as a Strategy to Combat COVID-19: A High-Throughput *in silico* Screening. *Front. Microbiol.* 2021. V. 12. 647693. doi: 10.3389/fmicb.2021.647693.
26. Koley T., Kumar M., Goswami A., Ethayathulla A.S., Hariprasad G. Structural modeling of Omicron spike protein and its complex with human ACE-2 receptor: Molecular basis for high transmissibility of the virus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2022. V. 592. P. 51-53. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.12.082.
27. Konings F., Perkins M.D., Kuhn J.H. ..., Ziebuhr J., Van Kerkhove M.D. SARS-CoV-2 Variants of Interest and Concern naming scheme conducive for global discourse // *Nat. Microbiol.* 2021. V. 6(7). P. 821-823. doi: 10.1038/s41564-021-00932-w.
28. Leung K., Shum M.H., Leung G.M., Lam T.T., Wu J.T. Early transmissibility assessment of the N501Y mutant strains of SARS-CoV-2 in the United Kingdom, October to November 2020. *Euro Surveill.* 2021. V. 26(1). 2002106. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.26.1.2002106.
29. Li J., Du P., Yang L., ..., Zeng H., Chen C. Two-step fitness selection for intra-host variations in SARS-CoV-2 // *Cell Rep.* 2022. V. 38(2). 110205. doi: 10.1016/j.celrep.2021.110205.
30. Lippi G., Mattiuzzi C., Henry B.M. Neutralizing potency of COVID-19 vaccines against the SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant. *J. Med. Virol.* 2022. doi: 10.1002/jmv.27575.
31. Lupala C.S., Ye Y., Chen H., Su X.D., Liu H. Mutations on RBD of SARS-CoV-2 Omicron variant result in stronger binding to human ACE2 receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2022. V. 590. P. 34-41. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.12.079.
32. Ma Y., Wu L., Shaw N., Gao Y., Wang J., Sun Y., Lou Z., Yan L., Zhang R., Rao Z. Structural basis and functional analysis of the SARS coronavirus nsp14-nsp10 complex. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2015. V. 112(30). P. 9436-9441. doi: 10.1073/pnas.1508686112.
33. Mallapaty S. Where did Omicron come from? Three key theories. *Nature*. 2022. V. 602 (7895). P.26-28. doi: 10.1038/d41586-022-00215-2.
34. Mavzyutov A.R., Garafutdinov R.R., Khalikova E.Yu., Gazizov R.R., Baymiev An.Kh., Nikonorov Yu.M., Maksimov I.V., Kuluev B.R., Baymiev Al.Kh., Chemeris A.V. The enigmas of the new coronavirus SARS-CoV-2. *Biomics.* 2021. V.13(1). P. 75-99. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-7 (In Russian)
35. Mavzyutov A.R., Garafutdinov R.R., Khalikova E.Yu., Yuldashev R.A., Khusainova R.I., Chubukova O.V., Gimalov F.R., Matniyazov R.T., Alekseev Ya.I., Vorobei A.A., Vershinina Z.R., Miftakhov I.Yu., Nikonorov Yu.M., Maksimov I.V., Kuluev B.R., Baymiev An.Kh., Baymiev Al.Kh., Chemeris A.V. Problematic aspects of diagnostics of SARS-CoV-2 coronavirus infection using reverse-transcriptional PCR. *Biomics.* 2020. V.12(4). P. 564-590. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-50 (In Russian)
36. Minskaia E., Hertzog T. Gorbalenya A.E., Campanacci V., Cambillau C., Canard B., Ziebuhr J. Discovery of an RNA virus 3'->5' exoribonuclease that is critically involved in coronavirus RNA synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. V. 103 (13). P. 5108-5113. doi: 10.1073/pnas.0508200103.
37. Moeller N.H., Shi K., Demir Ö., Banerjee S., Yin L., Belica C., Durfee C., Amaro R.E., Aihara H. Structure and dynamics of SARS-CoV-2 proofreading exoribonuclease ExoN. *bioRxiv* [Preprint]. 2021. doi: 10.1101/2021.04.02.438274.
38. Morais I.J., Polveiro R.C., Souza G.M., Bortolin D.I., Sasaki F.T., Lima A.T.M. The global population of SARS-CoV-2 is composed of six major subtypes. *Sci. Rep.* 2020. V. 10(1). 18289. doi: 10.1038/s41598-020-74050-8.
39. Mukherjee R., Satardekar R. Why are some coronavirus variants more infectious? *J. Biosci.* 2021. V. 46(4). 101. doi: 10.1007/s12038-021-00221-y.
40. Nikonorov Yu.M., Khasanova S.S., Filatova O.V., Ben'kovskaia G.V., Chemeris A.V., Vakhitov V.A., Tkachenko E.A. Analysis of the primary structure of hantavirus RNA, detected in organs of patients that died from HFKS in the Republic of Bashkortostan. *Mol. Gen. Mikrobiol. Virusol.* 2001. V. (1). P. 35-39.
41. Ortega J.T., Jastrzebska B., Rangel H.R. Omicron SARS-CoV-2 Variant Spike Protein Shows an Increased Affinity to the Human ACE2 Receptor: An

- In Silico Analysis. *Pathogens*. 2021. V. 11(1). 45. doi: 10.3390/pathogens11010045.
42. Oude Munnink B.B., Sikkema R.S., Nieuwenhuijse D.F., Molenaar R.J., Munger E., Molenkamp R., van der Spek A., Tolsma P., Rietveld A., Brouwer M., Bouwmeester-Vincken N., Harders F., Hakze-van der Honing R., Wegdam-Blans M.C.A., Bouwstra R.J., GeurtsvanKessel C., van der Eijk A.A., Velkers F.C., Smit L.A.M., Stegeman A., van der Poel W.H.M., Koopmans M.P.G. Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back to humans. *Science*. 2021. V. 371(6525). P. 172-177. doi: 10.1126/science.abe5901.
 43. Papanikolaou V., Chrysovergis A., Ragos V., Tsiambas E., Katsinis S., Manoli A., Papouliakos S., Roukas D., Mastronikolis S., Peschos D., Batistatou A., Kyrodimos E., Mastronikolis N. From delta to Omicron: S1-RBD/S2 mutation/deletion equilibrium in SARS-CoV-2 defined variants. *Gene*. 2022.V. 814. 146134. doi: 10.1016/j.gene.2021.146134.
 44. Pascarella S., Ciccozzi M., Bianchi M., Benvenuto D., Cauda R., Cassone A. The electrostatic potential of the Omicron variant spike is higher than in Delta and Delta-plus variants: A hint to higher transmissibility? *J. Med. Virol.* 2022. V. 94(4). P. 1277-1280. doi: 10.1002/jmv.27528.
 45. Pathak A.K., Mishra G.P., Uppili B., ..., Raghav S.K., Mukerji M. Spatio-temporal dynamics of intra-host variability in SARS-CoV-2 genomes. *Nucleic Acids Res.* 2022. V. 50(3). P. 1551-1561. doi: 10.1093/nar/gkab1297.
 46. Planas D., Saunders N., Maes P., ..., André E., Schwartz O. Considerable escape of SARS-CoV-2 Omicron to antibody neutralization // *Nature*. 2021. doi: 10.1038/s41586-021-04389-z.
 47. Poon L.L., Chan K.H., Wong O.K., Yam W.C., Yuen K.Y., Guan Y., Lo Y.M., Peiris J.S. Early diagnosis of SARS coronavirus infection by real time RT-PCR. *J. Clin. Virol.* 2003. V. 28(3). P. 233-238. doi: 10.1016/j.jcv.2003.08.004.
 48. Rath S.L., Padhi A.K., Mandal N. Scanning the RBD-ACE2 molecular interactions in Omicron variant. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2022. V. 592. P. 18-23. doi: 10.1016/j.bbrc.2022.01.006.
 49. Riccio A.A., Sullivan E.D., Copeland W.C. Activation of the SARS-CoV-2 NSP14 3'-5' exoribonuclease by NSP10 and response to antiviral inhibitors. *J. Biol. Chem.* 2022. V. 298(1). 101518. doi: 10.1016/j.jbc.2021.101518.
 50. Riediker M., Briceno-Ayala L., Ichihara G., Albani D., Poffet D., Tsai D.H., Iff S., Monn C. Higher viral load and infectivity increase risk of aerosol transmission for Delta and Omicron variants of SARS-CoV-2. *Swiss Med. Wkly.* 2022. doi: 10.4414/smw.2022.w30133.
 51. Saramago M., Bárria C., Costa V.G., Souza C.S., Viegas S.C., Domingues S., Lousa D., Soares C.M., Arraiano C.M., Matos R.G. New targets for drug design: importance of nsp14/nsp10 complex formation for the 3'-5' exoribonucleolytic activity on SARS-CoV-2. *FEBS J.* 2021. V. 288(17). P. 5130-5147. doi: 10.1111/febs.15815.
 52. Sender R., Bar-On Y.M., Gleizer S., Bernshtein B., Flamholz A., Phillips R., Milo R.. The total number and mass of SARS-CoV-2 virions. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2021. V. 118(25). e2024815118. doi: 10.1073/pnas.2024815118.
 53. Sharma V., Rai H., Gautam D.N.S., Prajapati P.K., Sharma R. Emerging evidence on Omicron (B.1.1.529) SARS-CoV-2 variant. *J. Med. Virol.* 2022. doi: 10.1002/jmv.27626.
 54. Singh D.D., Parveen A., Yadav D.K. SARS-CoV-2: Emergence of New Variants and Effectiveness of Vaccines. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021. V. 11. 777212. doi: 10.3389/fcimb.2021.777212.
 55. Sun F., Wang X., Tan S., Dan Y., Lu Y., Zhang J., Xu J., Tan Z., Xiang X., Zhou Y., He W., Wan X., Zhang W., Chen Y., Tan W., Deng G. SARS-CoV-2 Quasispecies Provides an Advantage Mutation Pool for the Epidemic Variants. *Microbiol. Spectr.* 2021. V. 9(1). e0026121. doi: 10.1128/Spectrum.00261-21.
 56. Sun Y., Lin W., Dong W., Xu J. Origin and evolutionary analysis of the SARS-CoV-2 Omicron variant. *J. Biosaf. Biosecur.* 2022. V. 4(1). P. 33-37. doi: 10.1016/j.jobb.2021.12.001.
 57. Tahir M. Coronavirus genomic nsp14-ExoN, structure, role, mechanism, and potential application as a drug target. *J. Med. Virol.* 2021. V. 93(7). P. 4258-4264. doi: 10.1002/jmv.27009.
 58. Tao K., Tzou P.L., Nouhin J., Gupta R.K., de Oliveira T., Kosakovsky P.S.L., Shafer R.W. The biological and clinical significance of emerging SARS-CoV-2 variants. *Nat. Rev. Genet.* 2021. V. 22(12). P. 757-773. doi: 10.1038/s41576-021-00408-x.
 59. Thye A.Y., Law J.W., Pusparajah P., Letchumanan V., Chan K.G., Lee L.H. Emerging SARS-CoV-2 Variants of Concern (VOCs): An Impending Global Crisis. *Biomedicines*. 2021. V. 9(10). 1303. doi: 10.3390/biomedicines9101303.
 60. Van Poelvoorde L.A.E., Delcourt T., Coucke W., Herman P., De Keersmaecker S.C.J., Saelens X., Roosens N.H.C., Vanneste K. Strategy and Performance Evaluation of Low-Frequency Variant Calling for SARS-CoV-2 Using Targeted Deep Illumina Sequencing. *Front. Microbiol.* 2021. V. 12. 747458. doi: 10.3389/fmicb.2021.747458.
 61. Van Blargan L.A., Errico J.M., Halfmann P.J., Zost S.J., Crowe J.E. Jr., Purcell L.A., Kawaoka Y., Corti D., Fremont D.H., Diamond M.S. An infectious SARS-CoV-2 B.1.1.529 Omicron virus escapes

- neutralization by therapeutic monoclonal antibodies. *Nat. Med.* 2022. V. 19. P. 1-6. doi: 10.1038/s41591-021-01678-y.
62. Viana R., Moyo S., Amoako D.G. et al. Rapid epidemic expansion of the SARS-CoV-2 Omicron variant in southern Africa. *Nature*. 2022. V. doi: 10.1038/s41586-022-04411-y.
63. Voloch C.M., da Silva Francisco R.Jr., de Almeida L.G.P., Brustolini O.J., Cardoso C.C., Gerber A.L., Guimarães A.P.C., Leitão I.C., Mariani D., Ota V.A., Lima C.X., Teixeira M.M., Dias A.C.F., Galliez R.M., Faffe D.S., Pôrto L.C., Aguiar R.S., Castiñeira T.M.P.P., Ferreira O.C., Tanuri A., de Vasconcelos A.T.R. Intra-host evolution during SARS-CoV-2 prolonged infection. *Virus. Evol.* 2021. V. 7(2). doi: 10.1093/ve/veab078.
64. Wei C., Shan K.J., Wang W., Zhang S., Huan Q., Qian W. Evidence for a mouse origin of the SARS-CoV-2 Omicron variant. *J. Genet. Genomics*. 2021. V. 48(12). P. 1111-1121. doi: 10.1016/j.jgg.2021.12.003.
65. Zubov V.V., Chemeris D.A., Vasilov R.G., Kurochkin V.E., Alekseev Ya.I. Brief history of high-throughput nucleic acid sequencing methods. *Biomcs*. 2021. V.13(1). P. 27-46. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2021-4 (In Russian)