

ИЗМЕНЕНИЕ АНТИГЕННЫХ ДЕТЕРМИНАНТ S-БЕЛКА ВИРУСА SARS-CoV-2 КАК ВОЗМОЖНАЯ ПРИЧИНА АНТИТЕЛОЗАВИСИМОГО УСИЛЕНИЯ ИНФЕКЦИИ И ЦИТОКИНОВОГО ШТОРМА

© 2020 г. Ю.Д. Нечипуренко*, А.А. Анашкина*, О.В. Матвеева**, ***

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

**Сендай Виралитикс (Sendai Viralytics), Актон, Массачусетс, США

***Биополимер Дизайн (Biopolymer Design), Актон, Массачусетс, США

E-mail: nech99@mail.ru

Поступила в редакцию 28.05.2020 г.

После доработки 28.05.2020 г.

Принята к публикации 05.06.2020 г.

Предложена гипотеза о том, что цитокиновый шторм, возникающий как осложнение у больных COVID-19, является следствием феномена антителозависимого усиления инфекции, а сам феномен в свою очередь обусловлен изменением доминантных антигенных детерминант в шиповидном S-белке вируса SARS-CoV-2. Антителозависимое усиление инфекции — это явление, при котором связывание вируса с субоптимальными антителами, которые не являются нейтрализующими, индуцирует проникновение вируса в клетки иммунной системы, что приводит к их массовой гибели. Явление антителозависимого усиления инфекции показано для ряда коронавирусов. Усиление инфекции в этих случаях может быть спровоцировано изменением антигенных детерминант S-белка. Такое изменение может приводить, согласно нашей гипотезе, к уменьшению прочности связывания нейтрализующих антител с вирусом, превращая их в субоптимальные — не нейтрализующие. Изменчивость линейных и/или конформационных антигенных детерминант S-белка может реализовываться за счет смены конформации и вариативности ряда аминокислот в этом белке. Эта вариативность является следствием генетического разнообразия квазивидов. Подобная изменчивость может вызывать не только структурные изменения в S-белке, но и влиять на динамику смены его конформаций. Все эти явления могут происходить в процессе вирусной инфекции SARS-CoV-2 и объяснять тяжелое течение болезни у некоторых зараженных.

Ключевые слова: COVID-19, коронавирус, SARS-CoV-2, антителозависимое усиление инфекции, АЗУИ, ADE, шиповидный белок, S-белок, смена конформаций, антигенные детерминанты, смена эпитопов.

DOI: 10.31857/S0006302920040262

Вирусы SARS-CoV-1 и SARS-CoV-2 атакуют клетки, несущие рецептор ACE2, и вызывают их заражение. Для вируса SARS-CoV-1, который изучается с 2002 г. (он вызывает болезнь SARS с высокой летальностью), известен еще один феномен — он может проникать в клетки иммунной системы и провоцировать антителозависимое усиление вирусной инфекции (англ.: antibody dependent enhancement — ADE) [1–4]. Это явление описано для разных вирусов [5]. Чаще всего оно наблюдается у вирусов с геномом, представленным (+)-цепью РНК [6], в том числе и у коронавирусов [1, 2, 7–9].

Сокращения: ADE — антителозависимое усиление инфекции (antibody dependent enhancement), RBD — рецептор-связывающий домен (receptor binding domain).

АНТИТЕЛОЗАВИСИМОЕ УСИЛЕНИЕ ИНФЕКЦИИ

На рис. 1 представлена схема, иллюстрирующая явление ADE. Специфические антитела (IgG) при ADE формируют несовершенные, недостаточно прочные комплексы с вирусом, помогая ему заражать лейкоциты хозяина, несущие рецептор FcγRII [6, 8, 10–13]. Комплекс антитела с вирусом связывается с FcγRII-рецептором лейкоцитов и поглощается этими клетками. В норме этот процесс приводит к разрушению вируса внутри лейкоцита и выздоровлению, как показано в левой части рис. 1. Однако при патологии вирус, освободившись от антитела, начинает репликативный цикл внутри лейкоцита, как показано в правой части рисунка [1, 2, 7–13].

SARS-CoV-2 (по предварительным данным, которые пока не прошли верификации) способен

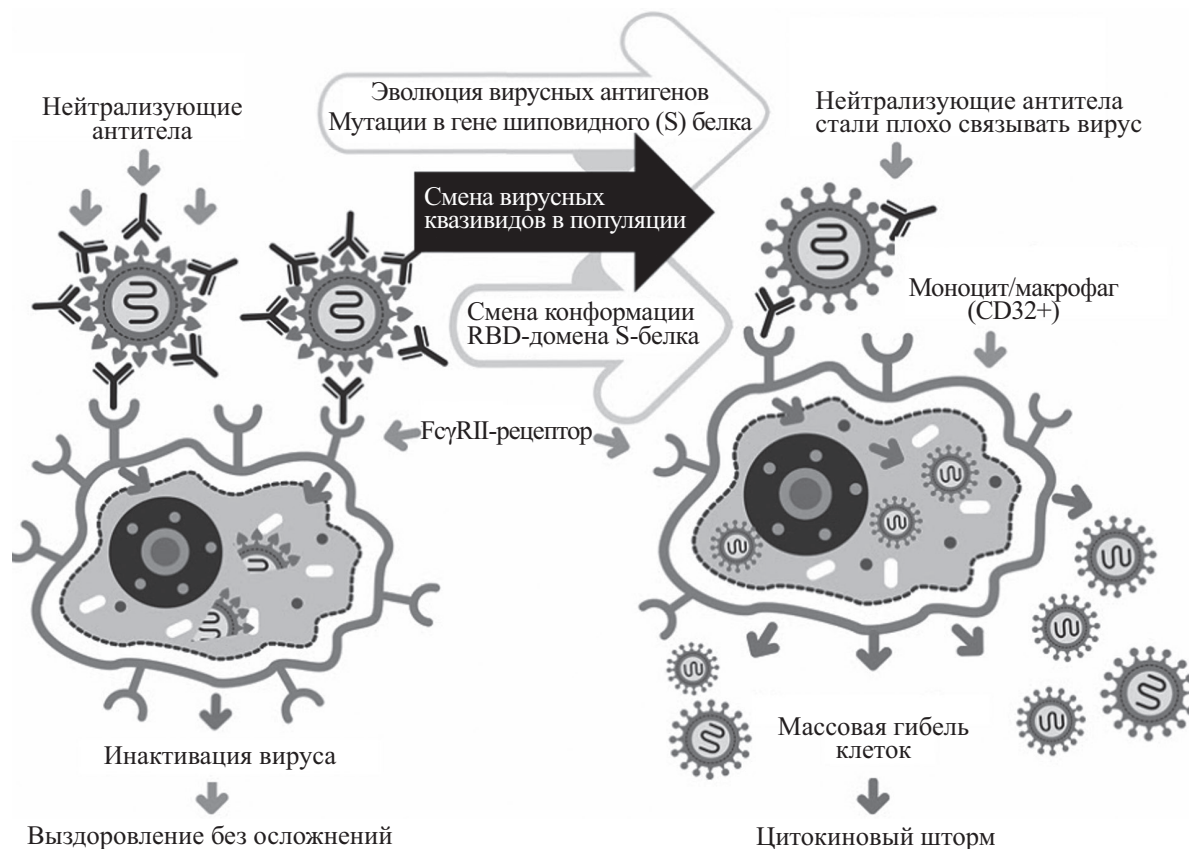


Рис. 1. Схема антитело-зависимого усиления инфекции для SARS-CoV. Слева показан сценарий «правильного» иммунного ответа на бета-коронавирус, когда нейтрализующие антитела способствуют элиминации вируса из организма. Справа представлен сценарий иммунопатологии, которая возникает при изменении антигена коронавирусов. Антитело-зависимое усиление инфекции наблюдается, когда специфические антитела (IgG) формируют несовершенные комплексы с вирусом. Комплекс антитела с вирусом связывается с FcγRII-рецептором лейкоцитов и поглощается ими. Далее внутри лейкоцита вирус выходит из эндосомы уже без антитела и начинает репликативный цикл. Можно предположить, что SARS-CoV-2 тоже вызывает ADE и делает это по сходному механизму. Возможно, что смена аминокислоты в 614-й позиции шиповидного (S) белка отвечает за смену конформации этого белка и в конечном счете за ADE.

напрямую проникать в Т-лимфоциты за счет шиповидного (S) белка и скорее всего способен убивать эти клетки [14]. Однако возможно, что кроме этого процесса, по аналогии с SARS-CoV-1 [1–4], этот вирус за счет комплексообразования с антителами способен инфицировать несущие рецептор FcγRII лейкоциты CD32+ (такие как моноциты и макрофаги). Этот процесс описан для разных бета-коронавирусов [1, 2, 7–11] и может приводить к массовой гибели иммунных клеток и, как следствие этой гибели, вызывать цитокиновый шторм.

Некоторые категории лейкоцитов обладают рецептором FcγRII, и благодаря этому связывают и поглощают комплекс «антитело–вирус» [15]. Нейтрализующие антитела связывают вирус прочно, вирус внутри лейкоцита не может освободиться после поглощения комплекса и подвергается разрушению протеазами и РНКазами. Таким образом, комплекс вируса с нейтрализующи-

ми антителами приводит к элиминации вируса из организма, а комплекс с субоптимальными не нейтрализующими антителами может приводить размножению вируса в клетках иммунной системы, усилению инфекции и цитокиновому шторму. Функциональная классификация антител, где включена категория антител, вызывающих ADE, предложена в работах [12, 16].

Ключевую роль в патологическом воспалительном процессе, возникающем у пациентов с COVID-19, по мнению некоторых исследователей, играют моноциты и макрофаги [17]. Эти наблюдения можно объяснить, если предположить, что вирус при тяжелом течении COVID-19 приобретает за счет ADE способность инфицировать эти клетки иммунной системы. Насколько вероятен для SARS-CoV-2 процесс ADE? Патогенез заболеваний SARS и COVID-19, по мнению многих авторов (см., например, работы [3, 18]), связана с ADE, проявляющемся в инфекции макрофагов и

моноцитов. Эта инфекция является важным этапом в развитии болезни и ее эволюции от легкой формы до тяжелой с критическими симптомами. ADE может объяснить наблюдаемое нарушение регуляции иммунитета, включая апоптоз иммунных клеток, способствующий развитию Т-клеточной лимфопении, воспалительный каскад с накоплением макрофагов, цитокинов и хемокинов в легких, а также цитокиновый шторм у некоторых пациентов [19].

Механизм ADE был изучен на примере меняющихся иммунодоминантных антигенных детерминант связывающего рецептор домена шиповидного (S) белка бета-коронавирусов [2, 9].

ХАРАКТЕРИСТИКИ ШИПОВИДНЫХ БЕЛКОВ SARS-CoV-1 И SARS-CoV-2

У коронавирусов в их «короне» располагается шиповидный белок (S-белок). В этом белке есть рецепторсвязывающий домен (RBD), который отвечает за связывание одного и того же мембранного клеточного рецептора ACE2 для обоих вирусов и также является «входной дверью» в клетку [20]. RBD-домен высокоомологичен у SARS-CoV-1 и SARS-CoV-2 [20].

S-белок может претерпевать в процессе своего созревания и функционирования ряд существенных трансформаций, которые выражаются в конформационных изменениях. Эти изменения у разных коронавирусов стали предметом изучения, которое продолжается уже более десяти лет. Превращения белка во время клеточного цикла вируса, включающего протеолитическое расщепление участка между S1 и S2 субъединицами S-белка, образование комплекса RBD с рецептором клетки, «протыкание» мембраны клетки эпителия при помощи пептида слияния (fusion peptide) и, наконец, проникновение вируса в клетку при слиянии мембраны вируса и мембраны клетки довольно подробно описаны в серии работ [21–24]. Нас будут интересовать только некоторые этапы функционирования S-белка у SARS-CoV-2, а именно протеолитический процессинг, связывание с рецептором, а также связывание с антителами, которые могут быть подобны участку рецептора. Эти этапы подробно описаны в работах [25, 26].

S-белок вируса SARS-CoV-2 функционирует в виде тримера, он состоит из трех одинаковых молекул, которые кодируются одним и тем же геном. Каждая из таких молекул распадается на две субъединицы S1 и S2 [26]. Субъединица S1 может находиться в двух конформациях – открытой и закрытой: RBD-домен может быть поднят или опущен. В работе [27] показано, что RBD-домен S-белка вируса SARS-CoV-2 большую часть времени находится в закрытом состоянии. Такая

форма белка является слабо иммуногенной. При приближении к рецептору ACE2 домен RBD поднимается и связывается с ним, причем связывание это характеризуется более высокой константой, чем для RBD-домена S-белка вируса SARS-CoV-1. Как считается в работе [27], для вируса SARS-CoV-1 более характерна открытая конформация RBD-домена, а для SARS-CoV-2 – закрытая.

Таким образом, одна из субъединиц шиповидного белка способна к значительным конформационным перестройкам и может существовать по меньшей мере в двух конформационных состояниях (см. рис. 2). Заметим, что биофизическое исследование S-белка SARS-CoV-2 и анализ его структуры с разрешением в 3.5 Å показали, что наиболее часто встречается белок, у которого две из трех S1-субъединиц тримера находятся в закрытой конформации, а одна – в открытой [26], в то время как для SARS-CoV-1 ранее было показано, что чаще всего встречается белок, у которого две субъединицы тримера находятся в открытой конформации [28]. Если все три цепи эквивалентны, возможны четыре разных конформации тримера (если хотя бы одна из цепей отличается от других, таких конформаций может быть восемь). Также в работе [27] было показано, что для активации S-белка вируса SARS-CoV-2 нужно расщепление протеазой фурина в сайте разрезания, расположенном между субъединицами S1 и S2. Расщепление может стабилизировать открытую конформацию [27]. Если не все три цепи будут расщеплены, то появляется еще одна возможность для разнообразия конформаций тримера. Однако разнообразие конформаций может не отражаться в разнообразии антигенных детерминант. Не исключено, что разницу в степени прочности связывания с антителами обуславливают только две конформации S1 субъединицы одной молекулы S-белка, а именно открытая и закрытая.

ГИПОТЕЗЫ О ВЗАИМОСВЯЗИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ВИРУСА И ПАТОГЕНЕЗ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Возможная связь между сменой конформаций в S-белке и антителозависимым усилением инфекции. Мы предполагаем, что антитела, выработанные на вариант вируса SARS-CoV-2 с одной конформацией шиповидного (S) белка, могут утратить свойство нейтрализовать инфекцию при смене конформации этого белка и, как следствие, вызывать ADE. Такие антитела, как было показано для вируса SARS-CoV-1 [8], могут по-прежнему связываться с вирусом, но при этом иметь меньшую аффинность и образовывать менее стабильные комплексы, чем те, которые они образуют с S-белком в другой конформации. В результа-

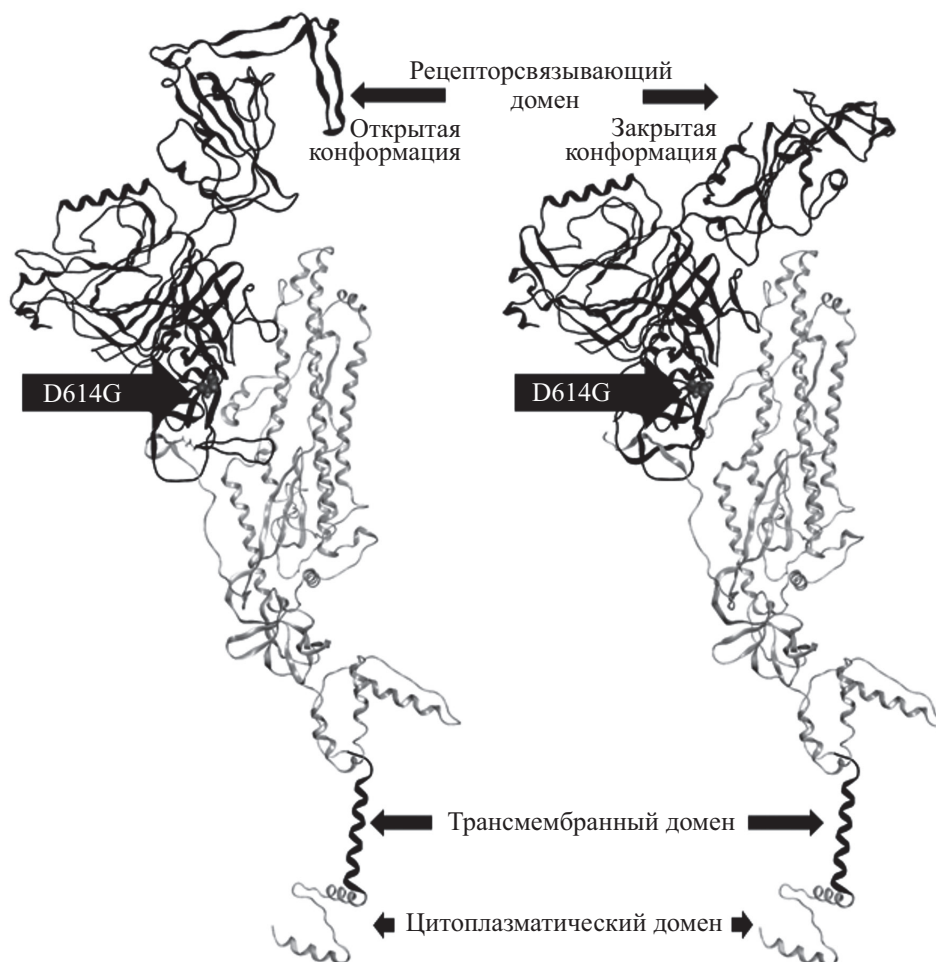


Рис. 2. Субъединицы S-белка в двух конформациях. Каждая молекула белка состоит из двух субъединиц – S1 и S2. Слева показана открытая конформация с поднятым рецепторсвязывающим доменом. Справа показана закрытая конформация с опущенным рецепторсвязывающим доменом; стрелкой указано положение 614-й аминокислоты. Верхняя часть белка у вируса торчит наружу вириона и составляет вместе с другими S1-субъединицами из тримера S-белка характерный шип – зубец короны вируса.

те комплекс «антитело–вирус» у SARS-CoV-1 может выступать в качестве «троянского коня», помогая вирусу проникнуть в моноциты или макрофаги хозяина и запустить в этих клетках инфекционный процесс [1, 8].

Замены аминокислот в районе RBD-домена способны вызывать конформационные изменения S-белка у коронавируса SARS-CoV-1, приводящие к худшему связыванию рецептора [29]. Мы предполагаем, что такого рода замены могут приводить у SARS-CoV-2 к ухудшению связыванию как рецептора, так и антител – и, как следствие, вызывать ADE.

ADE описано в недавно опубликованной работе для RBD-домена шиповидного (S) белка MERS-CoV [9]. Результаты этой работы свидетельствуют о том, что моноклональные нейтрализующие антитела, специфичные к RBD-домену, опосредуют проникновение вируса в иммунные

клетки, функционально имитируя вирусспецифические рецепторы. Авторы считают, что антитела, направленные против других участков шиповидного (S) белка и не связанные с его конформационными изменениями, с меньшей вероятностью будут приводить к ADE. Также показана важность дозировки антител, так как степень ADE зависит от их концентрации.

По-видимому, должен существовать определенный диапазон констант или энергий связывания, в области которого может возникать ADE. Если связывание между антителами и вирионом достаточно прочное, вирус не сможет «выскользнуть» внутри лейкоцита и будет уничтожен. Если связывание слишком слабое, то антитело не сможет провести вирус в лейкоцит. ADE возникает, если связывание достаточно прочное, чтобы провести вирус в лейкоцит, но недостаточно прочное, чтобы лейкоцит мог его уничтожить. Заме-

тим, что функционально похожие шиповидные белки существуют и у других вирусов, в частности, у вируса ВИЧ есть тример Env, который, подобно S-белку коронавируса, состоит из двух субъединиц [30, 31]. Интересно, что описание их конформационных изменений не всегда производится посредством выделения отдельных стадий или состояний белка, порой пишут о «переходных» состояниях и конформационной динамике, которая как раз является решающей в узнавании шиповидного белка рецептором или антителом [32]. Поверхностная часть белка Env ВИЧ подобна субъединице S1 шиповидного белка коронавируса. В процессе развития инфекции ВИЧ эта часть шипа мутирует и меняет тропизм — становится способной связываться с разными рецепторами иммунных клеток, что позволяет вирусу ВИЧ их заражать. Примеры изучения шиповидных белков других вирусов, которое ведется уже на протяжении десятилетий, может помочь понять структуру и динамику конформационных превращений S-белка SARS-CoV-2 [30, 31].

Антигенные детерминанты S-белка изменяются при смене одной его конформации на другую [27]. Не исключено, что нейтрализующие антитела хозяина, выработанные на S-белок в одной конформации, могут в этом случае утрачивать аффинность к вирусу в другой конформации и начинать образовывать с ним менее совершенные и нестабильные комплексы. Мы предполагаем, что это может приводить к ADE. Есть данные в пользу того, что только вирус в открытой конформации (с открытым RBD-доменом) в основном провоцирует выработку нейтрализующих антител [27]. В этой же работе высказывается предположение, что для вируса SARS-CoV-2 более характерна закрытая конформация S-белка, в то время как вирусу SARS-CoV-1 свойственна открытая конформация. В то же время стоит отметить, что реальное внутриклеточное распределение закрытых и открытых конформаций S-белков SARS-CoV-1 и SARS-CoV-2 требует дальнейшего изучения.

Если вирус с открытой формой S-белка быстро элиминируется антителами, то вирус с закрытой формой хуже связывается с антителами, но, согласно нашей гипотезе, может провоцировать ADE, вызывая инфекцию моноцитов, макрофагов и дендритных клеток.

Возможная взаимосвязь между заменой аминокислоты D614G и антителозависимым усилением инфекции. Предполагается, что иммунодоминантные эпитопы в шиповидном (S) белке вируса SARS-CoV-2 формируют аминокислоты в последовательности белка с координатами от 441 до 700 [33]. За переключение антигенной детерминанты с одного типа на другой в шиповидном белке может быть ответственна аминокислота в позиции

614 S-белка. В разных изолятах SARS-CoV-2 часто наблюдаются замены в этой позиции: с аспарагиновой кислоты на глицин и наоборот (D614G) [34]. На рис. 2 мы указали положение 614-й аминокислоты в трехмерной модели шиповидного (S) белка (см. также работу [26]). Следует заметить, что аспарагиновая кислота находится здесь на границе участков бета-структуры и левой спирали типа полипролин II (согласно классификации вторичных структур белков, построенной в работах [35, 36]). Хотя эта аминокислота находится на некотором расстоянии от домена RBD, можно предположить, что ее замена приведет к изменению общей конформации S-белка и смене антигенных детерминант (как это наблюдается в аллостерических белках) или к изменению динамики белка в целом.

На вариабельность аминокислоты D614G в S-белке и ее возможную взаимосвязь с патогенезом COVID-19 обратили внимание исследователи из Лос Аламоса [34]. В работе [34] эти авторы выдвигают две гипотезы. Согласно первой D614G затрагивает иммуногенный эпитоп вируса. Таким образом, замена может придавать коронавирусу устойчивость против приобретенного иммунитета, помогая ускользнуть от нейтрализующих антител и уменьшить прочность комплекса антитело-вирус. Вторая гипотеза предполагает, что мутация затрагивает другой эпитоп, вовлеченный в ADE. В этом случае D614G модулирует ADE [34]. Наше предположение больше согласуется со второй гипотезой вышеупомянутых авторов и добавляет шаг в их логическом построении гипотетической взаимосвязи между заменой аминокислоты и биологическими последствиями для здоровья больных. Исследователи из Лос Аламоса предлагают следующую взаимосвязь: смена D614G → ADE. Мы можем добавить к этому предположению следующее: смена D614G → изменение конформационной структуры и динамики S-белка → ADE.

Не исключено, что такого рода замена аминокислоты с одной на другую может приводить к улучшенному или, наоборот, затрудненному доступу протеаз к участкам протеолитического процессирования S-белка. Некоторые исследователи полагают, что эффективное разрезание фурином между S1- и S2-субъединицами может способствовать преобладанию открытой конформации S-белка [27]. Таким образом, модулируя доступ протеазы, аминокислота в определенной позиции S-белка может способствовать преобладанию в равновесии открытой или закрытой конформации.

Квазивиды могут обеспечивать адаптивное генетическое разнообразие вирусных вариантов и его антигенных детерминант, помогающее уходить от иммуннадзора. При заражении нового хозяина реально происходит инфекция не одним вариан-

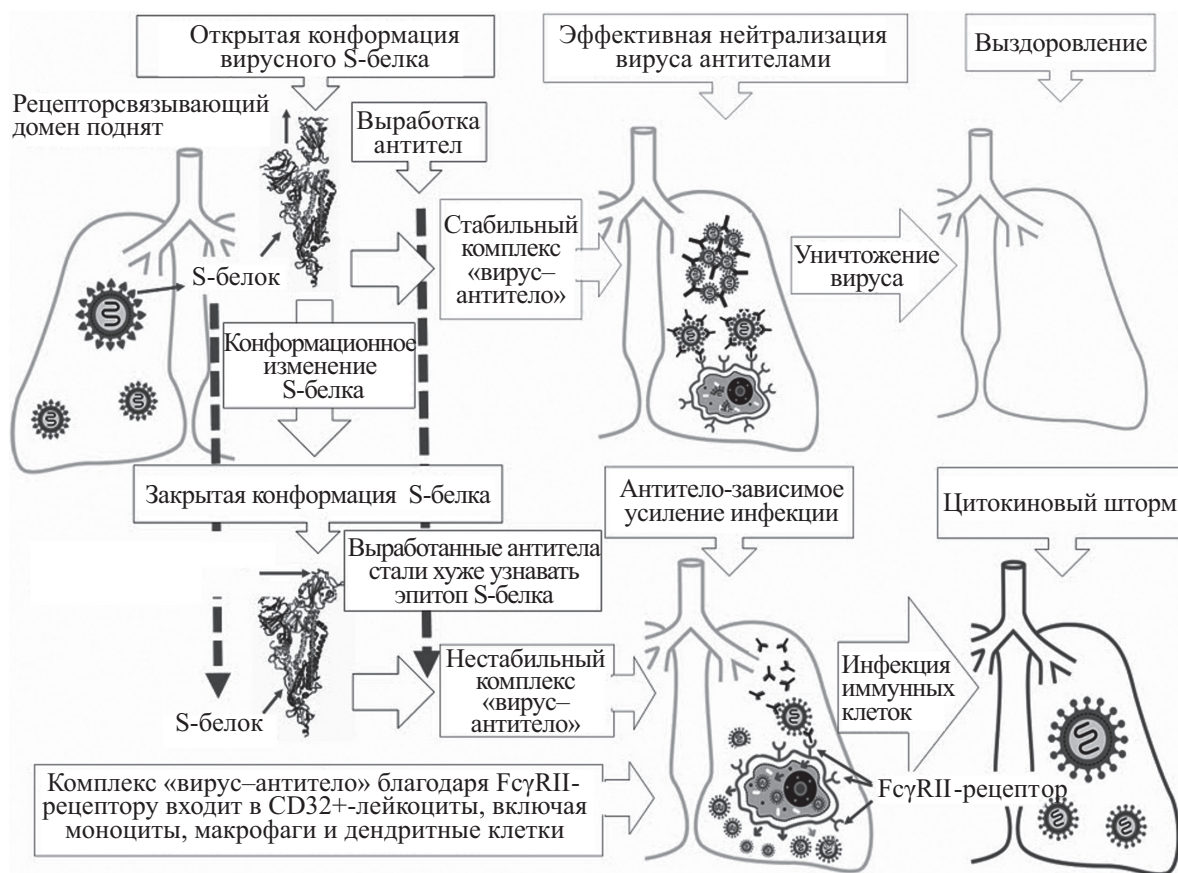


Рис. 3. Схема, иллюстрирующая гипотезу о взаимосвязи молекулярных характеристик S-белка и патофизиологии заболевания COVID-19

том вируса, а целой популяцией генетически близкородственных вариантов, возникающих в результате мутаций в ходе репликации вируса в организме предыдущих хозяев [37]. Такая популяция получила название квазивида. Концепция квазивидов по отношению к вирусным вариантам очень важна, поскольку она помогает понять, что для ускользания от иммунитета нового вирусного хозяина за счет смены антигенных детерминант вирусу вовсе не обязательно приобретать новые мутации, он может воспользоваться уже существующими, которые произошли при репликации у предыдущих хозяев. Например, некоторые варианты вирусных квазивидов могут иметь преимущественно открытую конформацию S-белка и легко нейтрализоваться антителами нового хозяина, а другие варианты вируса с закрытой конформацией и худшей аффинностью к антителам могут получить эволюционное преимущество после неполноценной нейтрализации и инфекции иммунных клеток.

Возможное объяснение более частого протекания тяжелой формы заболевания у пожилых людей. С феноменом ADE связано несколько гипотез, объясняющих протекание заболевания в более

тяжелой форме при COVID-19 у пожилых людей. Не исключено, что с возрастом происходит иммуностарение. В результате этого явления выработка антител у пожилых идет медленнее, чем у молодых. К тому времени, когда антитела выработались в нужном для нейтрализации вируса титре к вирусу с открытой конформацией S-белка, вирус с закрытой конформацией S-белка может дать о себе знать. При этом он может составлять только малую часть вирусной нагрузки при начальном заражении. Однако нейтрализующие антитела к открытой конформации S-белка, достигнув высокой концентрации, начнут находить этот вирус с закрытой конформацией S-белка и образовывать с ним нестабильные комплексы. При этом они могут «затаскивать» вирус в моноциты или макрофаги, где вирус будет способен реплицироваться. Этот процесс может сопровождаться генерализованным развитием инфекции и цитокиновым штормом [38, 39].

В пользу такой гипотезы говорит тот факт, что количество IgG-антител к S-белку вируса SARS-CoV-2, обнаруженных в сыворотке 29 госпитализированных и протестированных пациентов, линейно коррелировало с возрастом больных, и чем

выше был титр таких антител, тем тяжелее протекала болезнь [40, 41]. Кроме того, обнаружена положительная и значимая корреляция между количеством антител в крови и концентрацией маркера воспаления цитореактивного белка С [41].

Гипотеза о взаимосвязи между антигенным дрейфом и антителозависимым усилением инфекции. Не исключено, что ADE может быть обусловлено антигенным дрейфом, происходящим за счет мутаций кодирующего S-белок гена [19, 42], которые могут приводить к изменению как конформационных, так и линейных антигенных детерминант. Тщательный анализ изменчивости аминокислот в разных белках вируса SARS-CoV-2 в массиве данных, состоящем из нескольких тысяч последовательностей, был проведен в работе [19]. Была обнаружена взаимосвязь между вариабельностью аминокислот и их пространственным расположением на поверхностных антигенных детерминантах вируса. Более доступная для антител часть молекулы S-белка, а именно S1-субъединица, включающая RBD-домен, имеет большее количество вариабельных аминокислот [19, 43], в то время как белки, скрытые внутри вирусной капсиды, или белки, не попадающие в вирусную капсиду, состоят из более консервативных аминокислот [19]. Авторы работы [19] объясняют эту изменчивость антигенным дрейфом. Вирус меняет аминокислоты, чтобы изменить антигенные эпитопы и ускользнуть от нейтрализующих антител хозяев. Такой процесс ускользания, как уже было сказано выше, может сопровождаться ADE.

Не исключено, что на вариабельность антигенных детерминант и на способность менять антигенные детерминанты влияет гликозилирование аминокислотных остатков, которое происходит в S-белке SARS-CoV-2. У этого белка обнаружены 22 сайта гликозилирования [25]. Идея о том, что вирус использует вариабельные аминокислоты, конформационные изменения S-белка и гликановую защиту для ускользания антител не нова (см. работы [19, 25]). Мы добавляем к этой идее то, что одним из следствий ускользания от антител может являться ADE.

Согласно предлагаемой гипотезе нейтрализующие антитела, выработанные на одну из «открытых форм» S-белка, могут способствовать ADE при встрече с закрытой конформацией. Какое соотношение между полностью открытой, полностью закрытой и промежуточными конформациями S-белка в организме инфицируемого? Этот вопрос изучен недостаточно хорошо. Не исключено, что некоторые аминокислоты за счет антигенного дрейфа, меняясь в определенных позициях S-белка, как говорилось выше, могут сдвигать равновесие таким образом, что полностью открытая конформация будет становиться термодинамически более выгодной и преобла-

дать. Из литературы мы знаем, что в геном вируса SARS-CoV-1 могут быть внесены мутации, которые стабилизируют определенную конформацию S-белка [28]. Не исключено, что возможен и противоположный сценарий, а именно: некоторые аминокислоты за счет антигенного дрейфа, меняясь в определенных позициях S-белка, могут сдвигать равновесие, делая закрытую конформацию S-белка термодинамически более выгодной и преобладающей. Каждая такая замена будет приводить к сменам антигенных детерминант, за которыми может следовать ADE.

Скорее всего вирус с преобладающей закрытой конформацией S-белка будет являться мало инфекционным для своих традиционных клеточных мишеней за счет низкого сродства к рецептору ACE2. Однако можно предположить, что такой вирус может стать более инфекционным по отношению к иммунным клеткам.

ВЫВОД ДЛЯ ДИЗАЙНА ВАКЦИНЫ

Если наша гипотеза о том, что вариации антигенных детерминант S-белка вируса SARS-CoV-2 могут вызывать антителозависимое усиление инфекции и, как следствие, тяжелое течение болезни COVID-19 верна, то она может быть полезна для дизайна противовирусной вакцины. Не исключено, что вакцина, нацеленная на вирусы с открытой формой S-белка, также может провоцировать ADE при появлении в организме человека вируса с закрытой формой этого белка. Закрытая форма может появиться в результате естественной инфекции вариантами вируса, у которого эта форма может быть стабилизирована генетически. Именно такую вакцину, нацеленную исключительно на открытую форму S-белка, испытывает компания «Модерна» (Moderna Inc., Кембридж, США) и многие другие разработчики вакцин (см. [19]).

Мы полагаем, что такая вакцина, как и другие вакцины, нацеленные на S1-субъединицу шиповидного белка, могут провоцировать ADE. Это явление с большей вероятностью может проявиться при встрече провакцинированного вирусом или генетическим конструктором, экспрессирующим S-белок с преобладающей открытой формой, с реальной инфекцией вирусом, у которого преобладает закрытая конформация S-белка. Если наша гипотеза верна, то для общего решения проблемы очень важно, чтобы вакцина не была нацелена на RBD-домен и на S1-субъединицу в целом. У вакцины будет меньше шансов спровоцировать ADE, если она будет нацелена на S2-субъединицу S-белка или другие консервативные антигенные детерминанты вирусных белков (см. работу [43]).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы считают своим приятным долгом поблагодарить А.Н. Взорова, Г.В. Кочневу, А.А. Адзубея, Д.В. Купраша, Н.Г. Есипову и М.В. Супотницкого за полезные обсуждения.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы (тема № 01201363818) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 20-04-01085).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания собственных исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. M. S. Yip, H. L. Leung, P. H. Li, et al., *Hong Kong Med. J.* **22** (3, Suppl. 4), 25 (2016).
2. Q. Wang, L. Zhang, K. Kuwahara, et al., *ACS Infect. Dis.* **2** (5), 361 (2016).
3. A. Iwasaki and Y. Yang, *Nat. Rev. Immunol.* **20**, 339 (2020).
4. L. Liu, Q. Wei, Q. Lin, et al., *JCI Insight* **4** (4), e123158 (2019).
5. А. Н. Миронов, М. В. Супотницкий и Е. В. Лебединская, *Биопрепараты: профилактика, диагностика, лечение*, № 3, 13 (2013).
6. S. M. Tirado and K. J. Yoon, *Viral Immunol.* **16** (1), 69 (2003).
7. M. Jaime, M. S. Yip, Y. W. Kam, et al., *Virology* **11**, 82 (2014).
8. Y. Wan, J. Shang, S. Sun, et al., *J. Virol.* **94**, e02015 (2020).
9. L. Li, J. Wo, J. Shao, et al., *Virus Res.* **107** (1), 93 (2005).
10. М. В. Супотницкий, *Слепые пятна вакцинологии* (Русская панорама, М., 2016).
11. М. В. Супотницкий, *Актуальная инфектология*, № 2 (11), 73 (2016).
12. X. Wang, W. Xu, G. Hu, et al., *Cell. Mol. Immunol.* (2020). DOI: 10.1038/s41423-020-0424-9
13. C. Bosteels, K. Neyt, M. Vanheerswynghels, et al., *Immunity* **52** (2020). DOI: 10.1016/j.immuni.2020.04.005
14. A. Takada and Y. Kawaoka, *Rev. Med. Virol.* **13** (6), 387 (2003).
15. M. Merad and J. C. Martin, *Nat. Rev. Immunol.* **20**, 355 (2020).
16. J. A. Tetro, *Microbes. Infect.* **22** (2), 72 (2020).
17. D. O. Ricke and R. W. Malone, *Lancet* (preprint) (2020). DOI: 10.2139/ssrn.3546070
18. M. Yuan, N. C. Wu, X. Zhu, et al., *Science* (2020). DOI: 10.1126/science.abb7269
19. B. Tripet, M. W. Howard, M. Jobling, et al., *J. Biol. Chem.* **279** (20), 20836 (2004).
20. S. Matsuyama and F. Taguchi, *J. Virol.* **83** (21), 11133 (2009).
21. F. Li, M. Berardi, W. Li, et al., *J. Virol.* **80** (14), 6794 (2006).
22. A. C. Walls, M. A. Tortorici, J. Snijder, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **114** (42), 11157 (2017).
23. A. C. Walls, Y. J. Park, M. A. Tortorici, et al., *Cell* **181** (2), 281 (2020).
24. D. Wrapp, N. Wang, K. S. Corbett, et al., *Science* **367** (6483), 1260 (2020).
25. J. Shang, Yu. Wan, Ch. Luo, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **117** (21), 11727 (2020).
26. R. N. Kirchdoerfer, N. Wang, J. Pallesen, et al., *Sci. Rep.* **8** (1), 15701 (2018).
27. Y. Jia, G. Shen, Yu. Zhang, et al., *BioRxiv* (2020). DOI: 10.1101/2020.04.09.034942
28. A. Merk and S. Subramaniam, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **23** (2), 268 (2013).
29. A. Bartesaghi, A. Merk, M. J. Borgnia, et al., *Nat. Struct. Mol. Biol.* **20** (12), 1352 (2013).
30. J. B. Munro, J. Gorman, X. Ma, et al., *Science* **346** (6210), 759 (2014).
31. L. Lu, I. Manopo, B. P. Leung, et al., *J. Clin. Microbiol.* **42** (4), 1570 (2004).
32. B. Korber, W. M. Fischer, S. Gnanakaran, et al., *BioRxiv* (2020). DOI: 10.1101/2020.04.29.069054
33. A. A. Adzhubei, F. Eisenmenger, V. G. Tumanyan, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **146** (3), 934 (1987).
34. A. A. Adzhubei and M. J. Sternberg, *J. Mol. Biol.* **229** (2), 472 (1993).
35. I. N. Lu, C. P. Muller, and F. Q. He, *Virus Res.* **283**, 197963 (2020). DOI: 10.1016/j.virusres.2020.197963
36. J. Gu and C. R. Taylor, *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* **11** (4), 281 (2003).
37. J. Gu, E. Gong, B. Zhang, et al., *J. Exp. Med.* **202** (3), 415 (2005).
38. J. Zhao, Q. Yuan, H. Wang, et al., *Clin. Infect. Dis.* (2020). DOI: 10.1093/cid/ciaa344
39. F. Wu, A. Wang, M. Liu, et al., *MedRxiv* (2020). DOI: 10.1101/2020.03.30.20047365

40. H. Yao, X. Lu, Q. Chen, et al., MedRxiv (2020). DOI: 10.1101/2020.04.14.20060160
41. J. Ou; Z. Zhou, R. Dai, et al., BioRxiv (2020). DOI: 10.1101/2020.03.15.991844
42. M. Jaume, M. S. Yip, C. Y. Cheung, et al., J. Virol. **85** (20), 10582 (2011).
43. Т. А. Зайчук и др., Молекуляр. биология **54** (2020) (в печати).

Change of Antigenic Determinants of SARS-CoV-2 Virus S-Protein as a Possible Cause of Antibody-Dependent Enhancement of Virus Infection and Cytokine Storm

Yu.D. Nechipurenko*, A.A. Anashkina*, and O.V. Matveeva**, ***

**Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 32, Moscow, 119991 Russia*

***Sendai Viralytics LLC, Acton, MA 01720, USA*

****Biopolymer Design LLC, Acton, MA 01721, USA*

A hypothesis is proposed that the cytokine storm syndrome, which complicates COVID-19 disease in some patients, is a consequence of antibody-dependent enhancement of viral infection. This enhancement, in turn, according to our hypothesis, caused by changes of S-protein dominant antigenic determinants. Antibody-dependent enhancement of viral infection is a phenomenon in which the binding of the virus to suboptimal antibodies that are not neutralizing, induces the penetration of the virus into the cells of the immune system, which leads to their mass death. Antibody-dependent enhancement in these cases can be triggered by a change in the antigenic determinants of the S-protein. According to our hypothesis, such a change can lead to a decrease in the binding affinity of neutralizing antibodies to the virus, turning them into suboptimal – not neutralizing ones. The variability of linear and/or conformational antigenic determinants of the S-protein can be a result of some changes in its conformation and substitutions of several amino acids in its sequence. This variability is a consequence of the genetic diversity of quasi-species. According to our hypothesis such variability of amino acids can cause not only structural changes in the S-protein, but also affect the dynamics of its conformational changes. If all these phenomena can occur during the SARS-CoV-2 viral infection they can explain the severe course of the disease in some infected individuals.

Keywords: COVID-19, coronavirus, SARS-CoV-2, antibody-dependent enhancement of infection, ADE, spike protein, S-protein, change in conformations, antigenic determinants, variation in epitopes