

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МУТАЦИИ Е БЕЛКА В ИЗОЛЯТАХ ВИРУСА SARS-COV-2

А.Т. Жунушов*, А.Б. Бердибаева

Институт биотехнологии Национальной академии наук КР,

г. Бишкек, Кыргызская Республика

*zhunushov.asankadyr@gmail.com

Аннотация. Появление новых вариантов коронавируса SARS-CoV-2 вызвано мутациями в основных структурных белках тяжелого острого респираторного синдрома коронавируса 2. Вакцинация и другие терапевтические подходы могут помочь остановить эпидемию. В настоящее время ученые разрабатывают препараты и вакцины, которые специально нацелены на структурные белки коронавируса SARS-CoV-2. В результате учет мутаций в белках и определение их влияния на функции помогут в высококачественном производстве и разработке профилактических и лечебных средств. В результате секвенирования удалось получить полную нуклеотидную последовательность Е гена коронавируса SARS-CoV-2. Наличие и местоположение мутаций белка оболочки (Е) изолятов вируса SARS-CoV-2 были исследованы путем выравнивания последовательностей с референтной последовательностью вируса SARS-CoV-2. Результаты показали, что наиболее относительные мутации в аминокислотной последовательности белка Е коронавируса SARS-CoV-2 произошли в регионах 9 и 11. Было обнаружено 2 мутаций T9I и T11A по сравнению со штаммом Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (NC 045512.2). Выявленные структурные мутации белка Е могут использоваться в стратегии разработки лекарственных препаратов и вакцин.

Ключевые слова: SARS-CoV-2; COVID-19; Е белок; мутация; секвенирование.

Введение

Тяжелый острый респираторный синдром 2 (SARS-CoV-2), который является этиологическим агентом заболеваний коронавирусной болезни 2019 г. (COVID-19), выявлено в 2019 году в городе Ухань Китайской Народной Республики (КНР) [1]. COVID-19 является тяжелое и высококонтагиозное респираторное заболевание [2]. Основные симптомы болезни COVID-19 включает: лихорадку, общее недомогание, сухой кашель, одышку и затрудненное дыхание [2, 3], а также ослабление вкуса и обоняния, желудочно-кишечный дискомфорт и определенные воздействия на сердечно-сосудистую и нервную систему [2, 4-7]. По данным ВОЗ на 02 июля 2024 года было зарегистрировано более 775 миллионов подтвержденных случаев, из них около 7 миллионов с летальным исходом ([WHO COVID-19 dashboard](#)).

Геном SARS-CoV-2 имеет длину около 29,900 п.о. [8] и состоит из ORF1ab (16 неструктурных белков), 4 структурных белков (шиповидного (S), оболочечного (Е), мембранного (М), нуклеокапсидного (N)) и дополнительных белков [9-11]. В этом исследовании мы сосредоточились на белке Е.

Белок Е является самым маленьким из основных структурных белков, а также выделяется тем, что является наиболее плохо изученным (2). Этот белок состоит из 76-109

аминокислот, встречается с коротким гидрофильным N-концом (7-12 аминокислот) и большим гидрофобным трансмембранным доменом (25 аминокислот) и заканчивается гидрофильным карбоксильным С-концом, который составляет большую часть белка [12-14]. Белок Е способствует высвобождению вируса и проникновению в клетку-хозяина, а также изменяет некоторые клеточные процессы, что указывает на его роль в контроле патогенности вируса. Поэтому его следует рассматривать как важный компонент вирулентности вируса SARS-CoV-2 [14, 15].

Целью данного исследования является определение мутации Е белка изолятов вируса SARS-CoV-2.

Материалы и методы

Выделение РНК

Для выделения РНК вируса SARS-CoV-2 использован биологический материал из ротоглотки больного. Тотальную РНК экстрагировали из вируссодержащей жидкости с набором QIAamp Viral RNA Mini kit (Qiagen, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Параметры концентраций РНК оценивали с помощью наборов для анализа Qubit RNA HS (Life Technologies, Карлсбад, Калифорния, США) на флуориметре Qubit 2.0 (Life Technologies, Карлсбад, Калифорния, США) в соответствии с протоколом производителя.

Синтез кДНК

Обратную транскрипцию (ОТ) проводили с помощью набора SuperScript VILO cDNA Synthesis Kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, США) в термоциклере Mastercycler X50s при следующих температурных режимах: 25°C в течение 10 мин; 42°C в течение 60 мин; 85°C в течение 5 мин. Реакционный состав и температурно – временные режимы проводили согласно инструкции производителя.

Постановка полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Аmplification проводили на термоциклере Mastercycler X50s с использованием набора Platinum SuperFi PCR Master Mix (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с инструкцией производителя. Постановку ПЦР проводили в общем объеме 25 мкл, включая 12,5 мкл 2X Platinum SuperFi Green PCR Master Mix, по 1,25 мкл каждого из 10 мкМ прямого и обратного праймеров, 3 мкл кДНК-матрицы, 5 мкл 5X SuperFi GC Enhancer и воды для ПЦР, чтобы восполнить объем на 25 мкл. Нарботка ПЦР продуктов проведена по следующему температурному режиму: начальная денатурация 95°C-0,5 мин; с последующими 35 циклами амплификации при денатурации 95°C-0,1 мин, отжиге 57°C-0,5 мин, элонгации 72°C-0,5 мин; финальной элонгации 72°C-5 мин. Пара праймеров Forward primer АСТАТАGCGTGCCTTTGTA и Reverse primer GAAGCGGTCTGGTCAGAATA была использована для амплификации продукта ПЦР Е гена [16].

Горизонтальный гель - электрофорез проводили в 1,5 % агарозном геле (Sigma, США), окрашенным бромистым этидием, в трис-ацетатном буфере при напряжении 100 вольт/на см длины геля, в течение 30 мин с дальнейшей детекцией на трансиллюминаторе MiniBIS Pro (DNR Bio Imaging Systems, Ltd, Израиль). Визуализацию и документирование результатов гель-электрофореза осуществляли с помощью программы GelCapture, DNR

Bio-Imaging Systems Ltd, Israel). В качестве маркера молекулярных масс использовали 100 bp DNA Ladder New England Biolabs (Ipswich, MA, USA).

Очистка ПЦР продукта

Очистку ПЦР продукта проводили с набором GeneJET PCR Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции производителя.

Определение нуклеотидных последовательностей

Секвенирование E гена вируса SARS-CoV-2 после очистки ПЦР продукта проводилось с использованием терминирующих дидеоксинуклеотидов (метод Сенгера) с набором AB BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США) и специфический перекрывающий праймер, разработанно для гена E вируса, которые использовались на этапе наработки. Продукты очищали набором BigDye Xterminator (Thermo Fisher Scientific, США) и секвенировали с помощью генетического анализатора 3130 XL (Applied Biosystems, Hitachi, США). После секвенирования полученные данные последовательности нуклеотидов были обработаны с помощью программы Sequencher v.5.4 (Gene Codes Corporation, США).

Филогенетический анализ

Эволюционный анализ был проведен в MEGA 11 [17]. Филогенетическое дерево из 4 образцов, эталонного генома и геномов вариантов SARS-CoV-2, было построено с использованием методом Neighbor-Joining [18]. Процент повторов, в которых связанные таксоны сгруппированы вместе в тесте начальной загрузки (1000 повторов), показан рядом с ветвями [19]. Дерево построено в масштабе, длины ветвей указаны в тех же единицах, что и эволюционные расстояния, использованные для построения филогенетического дерева. Эволюционные расстояния рассчитаны с использованием метода коррекции Пуассона [20] и выражены в единицах количества аминокислотных замен на сайте. Этот анализ включал 28 нуклеотидных последовательностей.

При построении филогенетического дерева сначала проводили выравнивание последовательностей в базе данных GenBank и выбирали нуклеотидные последовательности вируса, которые аналогичны последовательности изучаемого штамма.

В анализе использовались нуклеотидные последовательности следующих штаммов семейства *Coronaviridae* (CoV), доступные в GenBank: альфакоронавирусы: [AAS58179.1](#), [AFD98787.1](#), [AFV53150.1](#), [YP_003769.1](#), [XBA84233.1](#), [UPG58715.1](#), [NP_073554.1](#) и бетакоронавирусы: [AAT84364.1](#), [ADN03341.1](#), [AFS88941.1](#), [AHX71951.1](#), [ASU90686.1](#), [UTS78547.1](#), [UTS78883.1](#), [UVD64635.1](#), [UVF72262.1](#), [YP_173240.1](#), [YP_009047209.1](#), [YP_009555243.1](#), [ACU31035.1](#), [AAP51230.1](#), [ABM92862.1](#), [ACZ72243.1](#), [YP_009724392.1](#).

Результаты

По результатам реакции секвенирования получена полная последовательность E белка изолятов SARS-CoV-2 и депонированы в базу данных NCBI (таб.1).

Таблица 1 – Результаты депонирования E белка изолятов вируса SARS-CoV-2 в Genbank

№	Наименования изолятов	ID Genbank
1	SARS-CoV-2/human/KAZ/AST-S396/2023	XBR96835.1
2	SARS-CoV-2/human/KAZ/Omicron-XBB.1.9.1-399/2023	WMJ63848.1
3	SARS-CoV-2/human/KAZ/Omicron-XBB.1.9.1-401/2023	WMJ63870.1
4	SARS-CoV-2/human/KAZ/Omicron-XBB.1.9.1-406/2023	WMJ63903.1

Филогенетический анализ E белка изолятов вируса SARS-CoV-2

В ходе работы была получена аминокислотная последовательность E гена изолятов вируса SARS-CoV-2. На основе полученных аминокислотных последовательностей изолятов вируса построено филогенетическое древо (Рисунок 1) Филогенетический анализ показал, что все изоляты вируса объединены с вирусами подрода *Sarbecovirus* семейства *Betacoronavirus*. Исследуемые коронавирусы SARS-CoV-2 объединены в отдельную монофилетическую группу.

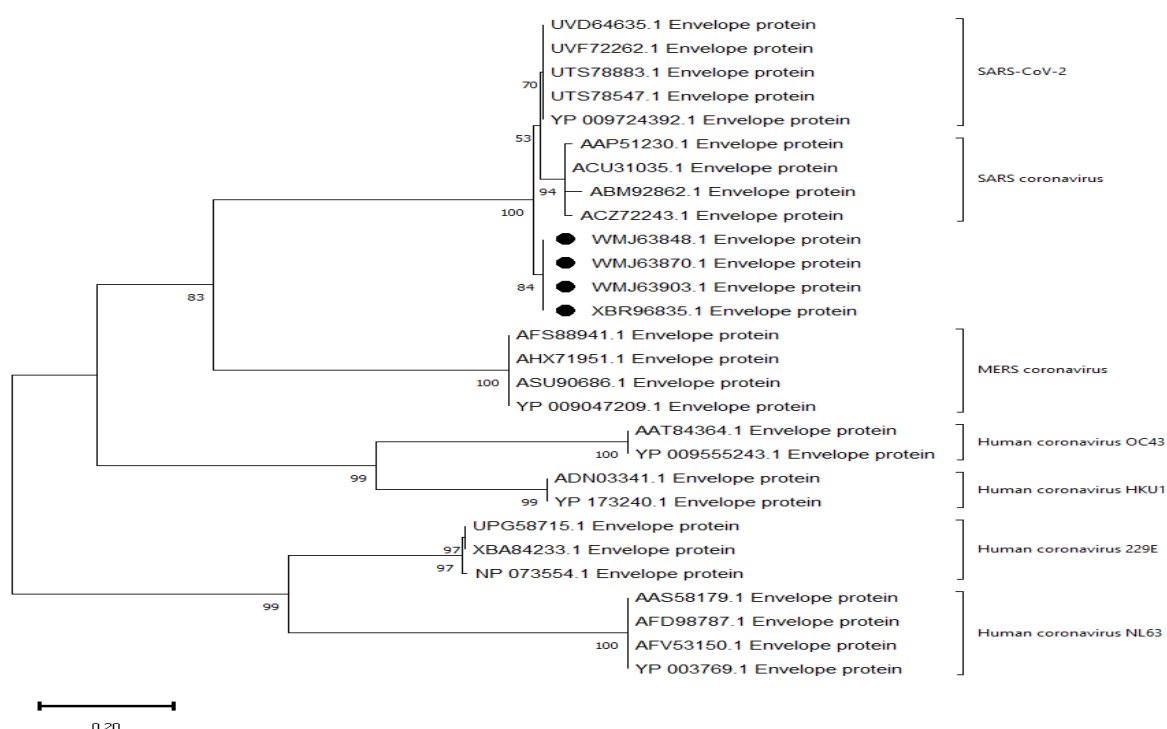


Рисунок 1 - Филогенетическое древо исследуемых изолятов вируса (черный круг) SARS-CoV-2 и других штаммов семейства Coronaviridae по E гену. Здесь ось x представляет масштаб дерева.

Определение мутации в аминокислотной последовательности E белка изолятов вируса SARS-CoV-2

Аминокислотные последовательности E белка изолятов SARS-CoV-2 сравнивали с аминокислотными последовательностями эталонного штамма Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (NC_045512.2) для выявления мутационных изменений. Результаты представлены на рисунке 2.

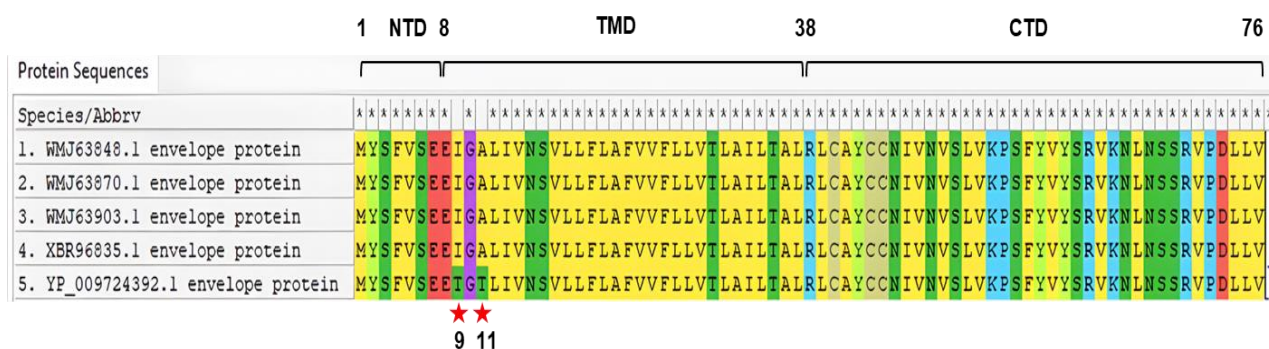


Рисунок 2 - Множественное выравнивание последовательности белка Е изолятов вируса SARS-CoV-2. NTD-N-концевой домен, ТМ-трансмембранный и CTD-С-концевой домен.

Как видно на рисунке 2, Е белок исследуемых изолятов вируса SARS-CoV-2 имеют две специфические аминокислотные замены по сравнению с исходным штаммов. В результате, аминокислота треонин (Т) в исследуемых изолятах заменена на изолейцин (I) в позиции 91 и аланин (А) в позиции 11.

Обсуждение

Выявление тенденций возникновения и распространения мутаций может привести к более практичному подходу, который поможет определить факторы, влияющие на эффективность лекарств и вакцин против кароновирусной инфекции.

SARS-CoV-2, выявленный в 2019 году в городе Ухань КНР и являющийся причиной глобальной пандемии COVID-19, оказал огромное негативное влияние на здоровье людей, систему социального здравоохранения и мировую экономику. Поэтому необходимо более тщательно изучать молекулярно-биологические свойства вируса, чтобы предотвратить появления новых пандемий [21].

Wang M.Y и соавторы описали, что неструктурные, Е и М белки коронавируса не имеют существенной разницы в структуре белков (неструктурные, Е и М) между SARS-CoV-2 и другими известными человеческими CoV. Aldaais E.A и соавторы продемонстрировали, что ген Е вируса SARS-CoV-2 имел почти на 100%, 93,42% и 37,33% идентичность с вирусами Bat-CoV, SARS и MERS, соответственно [22].

Некоторые исследования показали, что мутации Е гена развиваются медленно [23-27], и не было обнаружено никаких мутаций в некоторых образцах (B.1.1.7, B.1.1 и AY.122) вируса [28-30]. Abavisani M. и соавторы продемонстрировали мутационную изменчивость вируса SARS-CoV-2 по гену Е, и из 6,394,483 нуклеотидных последовательностей было обнаружено, что 96,40% последовательностей от общей доли не претерпели никаких мутаций [26].

Согласно данным Национального центра геномных данных (NGDC), пять вариантов (Альфа, Бета, Гамма, Дельта и Омикрон) SARS-CoV-2 включают 92 мутации с частотой $\geq 0,01\%$ по белку Е. Среди них 13 мутаций показали увеличение частоты, а 71 мутация показала снижение частоты. Wang Y. и соавторы сообщили, что по сравнению с диким видом (WT) SARS-CoV-2, в 13 мутациях выявлена повышенная способность убивать клетки, а 51 мутация ослабила эту способность [31].

20 декабря 2022 года центры по контролю и профилактике заболеваний КНР объявили, что ХВВ является новой линией Omicron, которая недавно появилась в Китае [31]. ХВВ известен как «самый сильный вариант иммунного ускользания», и информации о его патогенности очень мало [32]. Было обнаружено, что вместе с мутацией Т9І в линии ХВВ существует также новая мутация Т11А.

В данном исследовании выявлены две мутации - Т9І и Т11А. Мутация Т9І снижает репликацию и вирулентность вируса, изменяя функцию гомопентамерного катионного канала [26, 33]. Xia B и соавторы показали, что одного канала достаточно, чтобы вызвать гибель клеток и даже повреждение, подобное острому респираторному дистресс-синдрому *in vivo* [34]. Wang Y и соавт. обнаружили, что уровни экспрессии мутаций вируса Т9І и Т11А выше, чем уровни экспрессии дикого типа (WT), в то время как двойные мутации вируса показывают более низкие показатели гибели клеток, чем WT. По сравнению с WT вируса SARS-CoV-2 по белку E, экспрессия Т11А значительно снизила гибель клеток, что привело к меньшему высвобождению цитокинов, а также ослабила способность вируса к образованию [31].

Для разработки препаратов против вируса SARS-CoV-2 важно определить частоту и влияние мутаций. В настоящее время существуют несколько мутационных вариантов SARS-CoV-2, возникающих параллельно с ним. В связи с такой изменчивостью всегда необходимо проводить исследования молекулярно-генетических свойств и строения вируса.

Заключение

Таким образом, в результате исследовательской работы были выявлены две мутации (Т9І и Т11А) в аминокислотной последовательности E белка, свойственные линии ХВВ (Omicron) вируса SARS-CoV-2.

Конфликт интересов: Авторы не имеют потенциального конфликта интересов.

Список литературы

1. Jogalekar MP, Veerabathini A, Gangadaran P. Novel 2019 coronavirus: Genome structure, clinical trials, and outstanding questions. // *Exp Biol Med* (Maywood). – 2020. Vol. 245(11). – P. 964-969. doi: 10.1177/1535370220920540.
2. Cao Y, Yang R, Lee I, Zhang W, Sun J, Wang W, Meng X. Characterization of the SARS-CoV-2 E Protein: Sequence, Structure, Viroporin, and Inhibitors. // *Protein Sci.* – 2021. Vol. 30(6). – P. 1114-1130.
3. Marini JJ, Gattinoni L. Management of COVID-19 respiratory distress. // *J Am Med Assoc.* – 2020. Vol. 323. – P. 2329–2330
4. Wang H-Y, Li X-L, Yan Z-R, Sun X-P, Han J, Zhang B-W. Potential neurological symptoms of COVID-19. // *Ther Adv Neurol Disord.* – 2020. Vol. 13:1756286420917830.
5. Russell B, Moss C, Rigg A, Hopkins C, Papa S, van Hemelrijck M. Anosmia and ageusia are emerging as symptoms in patients with COVID-19: What does the current evidence say? // *Ecancermedicalscience.* – 2020. Vol. 14. – P. ed98.

6. Han C, Duan C, Zhang S, et al. Digestive symptoms in COVID-19 patients with mild disease severity: Clinical presentation, stool viral RNA testing, and outcomes. // *Am J Gastroenterol.* – 2020. Vol.115. – P. 916–923.
7. Zheng Y-Y, Ma Y-T, Zhang J-Y, Xie X. COVID-19 and the cardiovascular system. // *Nat Rev Cardiol.* – 2020. Vol .17. – P. 259–260.
8. Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H., Wang W., Song H., Huang B., Zhu N., et al. Genomic Characterisation and Epidemiology of 2019 Novel Coronavirus: Implications for Virus Origins and Receptor Binding. // *Lancet.* - 2020. V 395. - P. 565–574.
9. Kim D, Lee J-Y, Yang J-S, Kim JW, Kim VN, Chang H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. // *Cell.* – 2020. Vol. 181. – P. 914–921.
10. Jiang S, Du L, Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. // *Emerg Microbes Infect.* - 2020. Vol. 31. № 9(1). - P. 275-277.
11. Sangwan J, Tripathi S, Yadav N, Kumar Y, Sangwan N. Comparative sequence analysis of SARS nCoV and SARS CoV genomes for variation in structural proteins. // *Proc.Indian Natl. Sci. Acad.* – 2023. Vol. 89(1). – P. 60–76. doi: 10.1007/s43538-022-00140-y
12. Schoeman D., Fielding B.C. Coronavirus envelope protein: current knowledge. // *Virol. J.* – 2019. Vol. 16 (1). – P. 1-22
13. Liu D., Yuan Q., Liao Y. Coronavirus envelope protein: a small membrane protein with multiple functions // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2007. Vol. 64 (16). – P. 2043-2048
14. Ebtisam A. Aldaais, Subha Yegnaswamy, Fatimah Albahrani, Fatima Alsowaiket, Sarah Alramadan. Sequence and structural analysis of COVID-19 E and M proteins with MERS virus E and M proteins — A comparative study. // *Biochemistry and Biophysics Reports,* - 2021. Vol. 26. –P. 101023
15. Cascella M., Rajnik M., Cuomo A., Dulebohn S.C., Di Napoli R. Features, evaluation and treatment coronavirus (COVID-19) Statpearls [Internet], StatPearls Publishing. – 2020.
16. Усербаев Б.С., Бурашев Е.Д., Мелисбек А.М., Ширинбеков М.Ж. Синтез праймеров и наработка значимых генов B.1.1.7 (Альфа) варианта вируса SARS-CoV-2. // *Биобезопасность и Биотехнология.* – 2021. № 8. – С. 41- 48.
17. Tamura K., Stecher G., and Kumar S. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. // *Molecular Biology and Evolution.* – 2021. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
18. Saitou N. and Nei M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. // *Molecular Biology and Evolution* 4. – P.406-425
19. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. // *Evolution.* - 1985. Vol. 39. – P. 783-791.
20. Zuckerkandl E. and Pauling L. Evolutionary divergence and convergence in proteins. Edited in *Evolving Genes and Proteins* by V. Bryson and H.J. Vogel. // *Academic Press, New York.* – 1965. - P. 97-166. 17.
21. Wang MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2020. Vol. 25. – P. 10:587269. doi: 10.3389/fcimb.2020.587269
22. Aldaais EA, Yegnaswamy S, Albahrani F, Alsowaiket F, Alramadan S. Sequence and structural analysis of COVID-19 E and M proteins with MERS virus E and M proteins-A

comparative study. // *Biochem Biophys Rep.* – 2021. Vol. 26. – P. 101023. doi: 10.1016/j.bbrep.2021.101023

23. Badua CLDC, Baldo KAT, Medina PMB. Genomic and proteomic mutation landscapes of SARS-CoV-2. // *J Med Virol.* – 2021. Vol. 93(3). – P. 1702-1721. doi: 10.1002/jmv.26548.

24. Islam MR, Hoque MN, Rahman MS, Alam ASMRU, Akther M, Puspo JA, Akter S, Sultana M, Crandall KA, Hossain MA. Genome-wide analysis of SARS-CoV-2 virus strains circulating worldwide implicates heterogeneity. // *Sci Rep.* – 2020. Vol. 19;10(1). – P.14004. doi: 10.1038/s41598-020-70812-6.

25. De Maio F, Lo Cascio E, Babini G, Sali M, Della Longa S, Tilocca B, Roncada P, Arcovito A, Sanguinetti M, Scambia G, Urbani A. Improved binding of SARS-CoV-2 Envelope protein to tight junction-associated PALS1 could play a key role in COVID-19 pathogenesis. // *Microbes Infect.* – 2020. Vol. 22(10). – P. 592-597. doi: 10.1016/j.micinf.2020.08.006.

26. Abavisani M, Rahimian K, Mahdavi B, Tokhanbigli S, Mollapour Siasakht M, Farhadi A, Kodori M, Mahmanzar M, Meshkat Z. Mutations in SARS-CoV-2 structural proteins: a global analysis. // *Virol J.* - 2022 Vol. 19(1). – P. 220. doi: 10.1186/s12985-022-01951-7

27. Kim JS, Jang JH, Kim JM, Chung YS, Yoo CK, Han MG. Genome-wide identification and characterization of point mutations in the SARS-CoV-2 genome. // *Osong Public Health Res Perspect.* – 2020. Vol. 11(3). – P. 101-111. 10.24171/j.phrp.2020.11.3.05

28. Ussebayev B, Zakarya K, Kutumbetov L, Orynbayev M, Sultankulova K, Abduraimov Y, Myrzakhmetova B, Zhugunissov K, Kerimbayev A, Melisbek A, Shirinbekov M, Khaidarov S, Zhunushov A, Burashev Y. Near-Complete Genome Sequence of a SARS-CoV-2 Variant B.1.1.7 Virus Strain Isolated in Kazakhstan. // *Microbiol Resour Announc.* – 2022. Vol. 11(9). – P. e0061922. doi: 10.1128/mra.00619-22.

29. Ussebayev B, Abduraimov Y, Kozhabergenov N, Melisbek A, Shirinbekov M, Smagul M, Nusupbayeva G, Nakhanov A, Burashev Y. Complete Coding Sequence of a Lineage AY.122 SARS-CoV-2 Virus Strain Detected in Kazakhstan. // *Microbiol Resour Announc.* – 2023. Vol. 12(7). – P. e0030123. doi: 10.1128/mra.00301-23.

30. Burashev Y, Ussebayev B, Kutumbetov L, Abduraimov Y, Kassenov M, Kerimbayev A, Myrzakhmetova B, Melisbek A, Shirinbekov M, Khaidarov S, Tulman ER. Coding Complete Genome Sequence of the SARS-CoV-2 Virus Strain, Variant B.1.1, Sampled from Kazakhstan. // *Microbiol Resour Announc.* – 2022. Vol. 11(12). – P. e0111422. doi: 10.1128/mra.01114-22.

31. Wang Y, Pan X, Ji H, Zuo X, Xiao GF, Li J, Zhang LK, Xia B, Gao Z. Impact of SARS-CoV-2 envelope protein mutations on the pathogenicity of Omicron XBB. // *Cell Discov.* – 2023. Vol. 9(1). – P. 80. doi: 10.1038/s41421-023-00575-7.

32. Wang Q, Iketani S, Li Z, Liu L, Guo Y, Huang Y, Bowen AD, Liu M, Wang M, Yu J, Valdez R, Llaure AS, Sheng Z, Wang HH, Gordon A, Liu L, Ho DD. Alarming antibody evasion properties of rising SARS-CoV-2 BQ and XBB subvariants. // *Cell.* – 2023. Vol. 186(2). – P. 279-286.e8. doi: 10.1016/j.cell.2022.12.018.

33. Xia B, Wang Y, Pan X, Cheng X, Ji H, Zuo X, Jiang H, Li J, Gao Z. Why is the SARS-CoV-2 Omicron variant milder? *Innovation (Camb).* – 2022. Vol. 3(4). –P. 100251. doi: 10.1016/j.xinn.2022.100251

34. Xia B, Shen X, He Y, Pan X, Liu FL, Wang Y, Yang F, Fang S, Wu Y, Duan Z, Zuo X, Xie Z, Jiang X, Xu L, Chi H, Li S, Meng Q, Zhou H, Zhou Y, Cheng X, Xin X, Jin L, Zhang

HL, Yu DD, Li MH, Feng XL, Chen J, Jiang H, Xiao G, Zheng YT, Zhang LK, Shen J, Li J, Gao Z. SARS-CoV-2 envelope protein causes acute respiratory distress syndrome (ARDS)-like pathological damages and constitutes an antiviral target. // Cell Res. – 2021. Vol. 31(8). – P. 847-860. doi: 10.1038/s41422-021-00519-4.

35. Virus Taxonomy: 2023 Release EC 55, Jena, Germany, August 2023

36. Usserbayev, B. S. et al. Dynamics of the spread of SARS-CoV-2 variants and clades. // Eurasian Journal of Ecology, Vol.71, n.2. – P. 46-56. doi: <https://doi.org/10.26577/EJE.2022.v71.i2.05>

SARS-COV-2 ВИРУСЫНЫҢ ИЗОЛЯТТАРЫНДА Е ПРОТЕИНИНІҢ МУТАЦИЯСЫН АНЫҚТАУ

А.Т. Жунушов* , А.Б. Бердибаева

Қырғыз Республикасы Ұлттық ғылым академиясының биотехнология институты,

Бішкек, Қырғыз Республикасы

*zhunushov.asankadyr@gmail.com

Аннотация. SARS-CoV-2 коронавирусының жаңа нұсқаларының пайда болуы ауыр жіті респираторлық синдром коронавирус 2 негізгі құрылымдық ақуыздарындағы мутациялардан туындады. Вакцинация және басқа емдік тәсілдер эпидемияны тоқтатуға көмектеседі. Қазіргі уақытта ғалымдар SARS-CoV-2 коронавирусының құрылымдық ақуыздарына бағытталған препараттар мен вакциналарды әзірлеуде. Нәтижесінде белоктардағы мутацияларды есепке алу және олардың функцияға әсерін анықтау профилактикалық және емдік агенттерді сапалы өндіруге және дамытуға көмектеседі. Секвенирлеу нәтижесінде SARS-CoV-2 коронавирусының Е генінің толық нуклеотидтік тізбегін алуға мүмкіндік туды. SARS-CoV-2 вирусының изоляттарында конверттік (Е) белок мутацияларының болуы мен орналасуы SARS-CoV-2 вирусының анықтамалық тізбегіне реттілікпен туралау арқылы зерттелді. Нәтижелер SARS-CoV-2 коронавирусының Е ақуызының аминқышқылдарының тізбегіндегі ең салыстырмалы мутациялар 9 және 11 аймақтарда орын алғанын көрсетті. Ауыр жедел респираторлық синдром коронавирусының 2 штаммымен салыстырғанда 2 Т9І және Т11А мутациялары анықталды (NC 045512.2). Е протеинінің анықталған құрылымдық мутациялары дәрілік және вакцинаны әзірлеу стратегияларында қолданылуы мүмкін.

Түйін сөздер: SARS-CoV-2; COVID 19; Е ақуызы; мутация; секвенирлеу.

DETERMINATION OF E PROTEIN MUTATION IN SARS-COV-2 VIRUS ISOLATES

A.T. Zhunushov*, A.B. Berdibaeva

Institute of Biotechnology of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic,
Bishkek, Kyrgyz Republic

*zhunushov.asankadyr@gmail.com

Abstract. The emergence of new variants of the SARS-CoV-2 coronavirus is caused by mutations in the main structural proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. Vaccination and other therapeutic approaches can help stop the epidemic. Scientists are currently developing drugs and vaccines that specifically target the structural proteins of the SARS-CoV-2 coronavirus. As a result, taking into account mutations in proteins and determining their impact on function will help in high-quality production and development of preventive and therapeutic agents. As a result of sequencing, it was possible to obtain the complete nucleotide sequence of the E gene of the SARS-CoV-2 coronavirus. The presence and location of mutations in the envelope protein (E) of SARS-CoV-2 virus isolates were investigated by aligning the sequences with the reference sequence of the SARS-CoV-2 virus. The results showed that the most relative mutations in the amino acid sequence of the E protein of the SARS-CoV-2 coronavirus occurred in regions 9 and 11. Two mutations, T9I and T11A, were found compared with the Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (NC 045512.2) strain. The identified structural mutations of the E protein can be used in the strategy for developing drugs and vaccines.

Keywords: SARS-CoV-2; COVID-19; E protein; mutation; sequencing.