https://bjm.ui.ac.ir/?lang=en
Biological Journal of Microorganism
12rd Year, Vol. 12, No. 46, Summer 2023 pp. 27-50
Received: 24.04.2022 Accepted: 08.06.2022

(Research Paper)

Investigating the Structure and Function of SARS-CoV-2 Spike Protein by Molecular Docking

Navid Mohammadjani
Department of Biological Sciences, Faculty of Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran, n.mohammadjani@uok.ac.ir
Morahem Ashengroph*
Department of Biological Sciences, Faculty of Sciences, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran, m.ashengroph@uok.ac.ir
Farshad Darvishi*
Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran, f.darvishi@alzahra.ac.ir

Abstract

Introduction: It has been more than two years since the outbreak of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in Wuhan, China. The SARS-CoV-2 has created an unprecedented pandemic (COVID-19) in the modern era and challenged all the scientific, economic, and social structures of the world. Extensive worldwide research has been conducted to study the structure and function of the SARS-CoV-2 spike protein since the beginning of the pandemic. The role and importance of spike protein in the introduction of SARS-CoV-2 into human cells has been proven. Among the important and effective factors in controlling the Covid-19 pandemic is understanding the structural changes of spike protein in different variants of the virus and the effectiveness of drugs and vaccines against new SARS-CoV-2 variants. Due to the great importance of spike protein SARS-CoV-2, it was tried to study its structure and interaction with cellular receptors using bioinformatics tools in this study. Furthermore, the effects of different SARS-CoV-2 variants on existing drugs and vaccines were reviewed.

*Corresponding Author

2322-5181/ © The Authors.
This is an open access article under the CC-BY-NC-ND 4.0 License (https://creativecommons.org/licenses by-nc-nd/4.0/)

10.22108/BJM.2022.133412.1468

Materials and Methods: The bioinformatics methods and molecular docking was used to study the binding function of spike protein to its various cellular receptors in the human body. HDOCK web server was used to perform the molecular docking process and in the next step, the PDBsum web server was used for post-docking checks and to ensure the accuracy of the obtained data. PyMOL software was also used to study and visualize replacement and deletion mutations in the spike protein.

Results: Extensive mutations in the spike protein in the omicron variant indicate a redesign in the spike protein. These massive mutations cause extensive changes in the structure and function of the spike protein. The data obtained from molecular docking and comparing the energy level (docking score) of spike protein binding of different variants of the virus with different cellular receptors indicate a high tendency of the spike protein to bind, with lower energy levels and more stable, to KREMEN1 receptor than the main ACE2 receptor. The level of spike protein binding energy levels of different virus variants was almost similar to other receptors (except the KREMEN1 receptor) or slightly different from the spike protein binding energy levels with the main ACE2 receptor.

Discussion and Conclusion: There is not much difference in the tendency of spike protein binding of emerging and important variants of the virus (main, alpha, delta, and omicron) to ACE2 receptor, but the tendency to bind to KREMEN1 receptor is increasing and has reached its peak in the delta variant. The energy level of the spike protein binding to the KREMEN1 receptor is significantly negative compared to other receptors, indicating greater binding and stability. Also, considering the level of energy received from the HDOCK web server, it can be concluded that although the ACE2 receptor is the main receptor for the spike protein, other receptors can still bind to the spike protein with good stability. Based on the available information, so far there have been no reports of docking between spike protein and other non-main spike protein receptors (AXL, ASGR1, KREMEN1). Therefore, more comprehensive research is needed to confirm or refute these findings.

Keywords: SARS-CoV-2, Spike, ACE2 Receptor, Mutation, New Variants, Bioinformatic

https://bjm.ui.ac.ir
زیســـــت‌شناســـــی میکروارگانیســـــم‌هـــــا
سـال دوازدهــم، شــماره ۴۶، تابســتان ۱۴۰۲، صــفحه ۲۷ – ۵۰
تـاریخ دریافـت: ۱۴۰۱/۰۲/۰۴ تـاریخ پـذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۸

مقاله پژوهشی

بررسی ساختار و عملکرد پروتئین اسپایک کروناویروس سندرم حاد تنفسی ۲ (SARS-CoV-2) با داکینگ مولکولی

نویـد محمـدجانی: دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم زیستی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران، n.mohammadjani@uok.ac.ir
مـراحم آشـنگرف*: دانشیار گروه علوم زیستی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران، m.ashengroph@uok.ac.ir
فرشـاد درویشـی*: استاد گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران، f.darvishi@alzahra.ac.ir

چکیده

مقدمه: بیش از دو سال از شیوع سندرم حاد تنفسی ویروس کرونا ۲ (SARS-CoV-2) در ووهان چین می‌گذرد. SARS-CoV-2 یک پاندمی بی‌سابقه (COVID-19) در عصر مدرن ایجاد کرده و تمام ساختارهای علمی، اقتصادی و اجتماعی جهان را به چالش کشیده است. تحقیقات گسترده‌ای در سراسر جهان برای مطالعه ساختار و عملکرد پروتئین اسپایک SARS-CoV-2 از ابتدای پاندمی انجام شده‌اند. بنا بر مطالعات مختلف، نقش و اهمیت پروتئین اسپایک در ورود SARS-CoV-2 به سلول‌های انسانی ثابت شده است. ازجمله عوامل مهم و مؤثر در کنترل همه‌گیری کووید-۱۹، درک تغییرات ساختاری پروتئین اسپایک در واریانت‌های ویروس و اثربخشی داروها و واکسن‌ها در برابر واریانت‌های جدید SARS-CoV-2 است. با توجه به اهمیت فراوان پروتئین اسپایک SARS-CoV-2، سعی شد در این مطالعه ساختار و تعامل آن با گیرنده‌های سلولی با استفاده از ابزار بیوانفورماتیک بررسی شود. علاوه بر این، اثر داروها و واکسن‌های موجود بر وارینت‌های مختلف SARS-CoV-2 بررسی شد.

مواد و روش‌ها: روش‌های بیوانفورماتیک و داکینگ مولکولی برای مطالعه عملکرد اتصال پروتئین اسپایک به گیرنده‌های سلولی مختلف آن در بدن انسان استفاده شدند. برای انجام فرایند داکینگ مولکولی از وب سرور

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات

2322-5181/ © The Authors.
This is an open access article under the CC-BY-NC-ND 4.0 License (https://creativecommons.org/licenses by-nc-nd/4.0/)

10.22108/BJM.2022.133412.1468

HDOCK و در مرحله بعد از وب سرور *PDBsum* برای بررسی‌های پس از داکینگ و اطمینان از صحت داده‌های به‌دست‌آمده استفاده شد. همچنین از نرم‌افزار *PyMOL* برای مطالعه و تجسم جهش‌های جایگزین و حذف در پروتئین اسپایک استفاده شد.

نتایج: تفاوت در پروتئین اسپایک واریانت‌های SARS-CoV-2با تصویرسازی‌های انجام‌گرفته، توسط نرم‌افزار PyMOLمقایسه شد. داده‌های حاصل از جهش‌های گسترده در پروتئین اسپایک واریانت اومیکرون نشان‌دهندهٔ نوعی بازطراحی دوبارهٔ پروتئین اسپایک بود. این جهش‌های وسیع، تغییرات گسترده‌ای در ساختار و عملکرد پروتئین اسپایک به همراه دارد. براساس داده‌های حاصل از داکینگ مولکولی و مقایسه میزان سطح انرژی (امتیاز داکینگ) اتصال پروتئین اسپایک واریانت‌های مختلف ویروس با گیرنده‌های مختلف نشان‌دهندهٔ بالابودن تمایل اتصال - با سطح انرژی پایین‌تر و پایدارتر پروتئین اسپایک - با گیرنده KREMEN1 نسبت به گیرنده اصلی ACE2 است. میزان سطوح انرژی اتصال پروتئین اسپایک در واریانت‌های مختلف ویروس با سایر گیرنده‌ها غیر از گیرنده KREMEN1 تقریباً مشابه بود یا اختلاف اندکی با سطوح انرژی اتصال پروتئین اسپایک در واریانت‌های مختلف ویروس با گیرنده اصلی ACE2 دارد.

بحث و نتیجه‌گیری: تفاوت زیادی در تمایل اتصال پروتئین اسپایک واریانت‌های نوظهور و مهم ویروس (اصلی، آلفا، دلتا و اومیکرون) با گیرنده ACE2 وجود ندارد؛ اما میزان تمایل اتصال به گیرنده KREMEN1، رو به افزایش و در واریانت دلتا به اوج خود رسیده است. سطح انرژی اتصال پروتئین اسپایک به گیرنده KREMEN1 به‌طور محسوسی نسبت به سایر گیرنده‌ها منفی‌تر بوده و این نشان‌دهندهٔ ایجاد اتصالات و پایداری بیشتر است. با توجه به سطح انرژی‌های دریافتی از وب سرور HDOCK، می‌توان نتیجه گرفت اگرچه گیرنده ACE2 گیرنده اصلی پروتئین اسپایک نام گرفته است، همچنان گیرنده‌های دیگری نیز با پایداری خوبی می‌توانند به پروتئین اسپایک متصل شوند. براساس اطلاعات موجود، تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر انجام فرایند داکینگ بین پروتئین اسپایک با سایر گیرنده‌های غیراصلی پروتئین اسپایک (AXL، ASGR1 و KREMEN1) صورت نگرفته است؛ بنابراین، برای تأیید یا رد این یافته‌ها باید پژوهش‌های جامع‌تری انجام شود.

واژه‌های کلیدی: SARS-CoV-2، اسپایک، گیرنده ACE2، جهش، واریانت‌های جدید، بیوانفورماتیک

مقدمه

بیماری کروناویروس ۲۰۱۹[1] یا کووید-۱۹[2] یک بیماری عفونی نوظهور است که در اواخر سال ۲۰۱۹ آغاز شد و به‌صورت پاندمی جهان را درگیر کرد. این بیماری توسط یک ویروس جدید از خانواده کروناویروس‌ها به نام کروناویروس سندرم حاد تنفسی ۲ (SARS-CoV-2) به وجود آمد (۱). SARS-CoV-2 ازطریق پروتئین اسپایک موجود در سطح خود به سلول‌های میزبان حمله می‌کند. گیرنده اصلی این پروتئین در سلول‌های انسانی، آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ (ACE2)[3] است و یک عامل تعیین‌کننده برای انتقال بین گونه‌ای است. پس از اتصال اسپایک ویروس به گیرنده، پروتئازهای خاصی وارد عمل می‌شوند و این پروتئین را به زیرواحدهای آن یعنی S1 و S2 تقسیم می‌کنند (۲). همان‌طور که اشاره شد، آنزیم

مبدل آنژیوتانسین ۲ (ACE2)، گیرنده اصلی برای ورود به سلول است؛ اما سلول‌ها در اندام هدف اصلی (ریه‌ها)، سطوح پایینی از بیان ACE2 دارند؛ درحالی‌که SARS-CoV-2 به‌طور مؤثری می‌تواند ریه‌ها را درگیر کند. این شواهد نشان می‌دهند گیرنده‌های جایگزین دیگری می‌توانند در فرایند ورود ویروس به‌عنوان گیرنده نقش داشته باشند. بنا بر مشاهدات آزمایشگاهی گیرنده پروتئینی تایروزین کینازی (AXL)[۴]، نشانگر پروتئینی در چشم و بینی (KREMEN1)[۵] و گیرنده ASGR1[۶] نیز می‌توانند در ورود ویروس به سلول‌های میزبان نقش داشته باشد (۱و۲). تاکنون واریانت‌های مختلفی از این ویروس شناسایی شده‌اند که در همه آنها پروتئین اسپایک مهم‌ترین نقش را در جهش‌های مربوطه داشته است؛ زیرا این پروتئین در فرایند ورود ویروس به سلول میزبان نقش اصلی را دارد و به همین دلیل هرگونه جهش در آن، تغییرات گسترده‌ای در عملکرد پروتئین ایجاد می‌کند که بر میزان سرایت‌پذیری، بار ویروسی و همچنین افزایش یا کاهش مرگ‌ومیر نقش دارد (۳). SARS-CoV-2 متعلق به خانواده بتاکروناویروس‌ها است که بزرگ‌ترین ژنوم RNA را دارد. این ژنوم، ۲۹ پروتئین ساختاری، غیرساختاری و کمکی را کد می‌کند که در ورود ویروس به سلول‌های میزبان، تکثیر ژنوم، رونویسی، سرهم‌بندی و انتشار ویروس شرکت می‌کنند (۴). بنا بر بررسی‌های انجام‌گرفته بخشی از ژنوم SARS-CoV-2 و MERS-CoV[۷] (سویه خطرناک قبلی از این خانواده ویروسی که در سال ۲۰۱۲ باعث بیماری شبیه سارس[۸] به نام مرس[۹] یا سندرم تنفسی کشنده خاورمیانه[۱۰] شد) یکسان است (۵و۶). با توجه به جهش‌هایی که در SARS-CoV-2 رخ می‌دهد، یکی از نکات کلیدی درک عمیق تمامی این جهش‌ها و شناسایی زودهنگام جهش‌های مهم برای معرفی آنها به‌عنوان واریانت‌های خطرناک است تا جامعه بشری قبل از اینکه یک جهش بتواند به شکل گسترده‌ای منتشر شود، با اتخاذ تدابیر پیشگیرانه از این امر جلوگیری کند. همچنین درک علت تکامل ویروس کرونا به مدل فعلی یعنی SARS-CoV-2 هنوز به‌طور دقیق شناسایی نشده و بدون شک انجام پژوهش‌های ترکیبی بیوانفورماتیکی و آزمایشگاهی برای شناسایی علل این امر لازم است تا از تکرار پاندمی‌های مشابه در آینده پیشگیری کند. همچنین ارزیابی اثربخشی تمامی واکسن‌های رایج در جهان تاکنون تا حد خوبی انجام شده است؛ اما به تحقیقات بیشتری در این زمینه برای کشف دقیق‌تر میزان اثرگذاری واریانت‌های جدید بر اثر بخشی واکسن‌ها لازم است (۳و۷). هدف این پژوهش بررسی بیوانفورماتیکی ساختار و عملکرد پروتئین اسپایک SARS-CoV-2 برای شناسایی و پیش‌بینی عملکرد واریانت‌های جدید بر اثربخشی واکسن‌ها و داروها است. بدین منظور در این مطالعه واریانت‌های مهم پروتئین اسپایک با استفاده از تکنیک داکینگ مولکولی با گیرنده‌های بالقوه آن بررسی شده‌اند تا نحوه اتصال و میزان تمایل هریک برای اتصال به یکدیگر مشخص شوند.

مواد و روش‌ها

بررسی بیوانفورماتیکی ساختار پروتئین اسپایک SARS-CoV-2: در این مطالعه برای بررسی بیوانفورماتیکی ساختار پروتئین اسپایک SARS-CoV-2، ابتدا داده‌های پروتئین اسپایک با فرمت pdb با IDهای 6VXX، 7XK3، 7FEM، 7BNM، 7LWU، 7VX1، 7SBK، 6VYB و 6VXX از پایگاه دادهٔ پروتئینی PDB[۱۱] دریافت شدند. در مرحله بعد هریک از این داده‌ها با

نرم‌افزار PyMOL به شکل جداگانه از لحاظ توالی و ساختار سه‌بعدی بررسی شدند.

پیش‌پردازش[۱۲] داده‌های پروتئینی اسپایک واریانت‌های مختلف ویروس و گیرنده‌های مختلف سلولی در بدن انسان: در ادامه باید نحوه اتصالات پروتئین اسپایک در واریانت‌های با اهمیت SARS-CoV-2 بررسی شوند. برای این کار داده‌ها با فرمت pdb پروتئین اسپایک در ویروس پایه (ووهان)، واریانت‌های آلفا، دلتا و اومیکرون و همچنین داده‌های مربوط به گیرنده‌های ACE2، ASGR1، KREMEN1 و AXL از پایگاه دادهٔ پروتئینی PDB دریافت شدند. مطرح‌بودن احتمال دخالت گیرنده‌های دیگر موجود در بدن انسان، غیر از گیرنده اصلی ACE2 در مطالعات مختلف، دلیل دریافت و بررسی داده‌های پروتئینی گیرنده‌هایی غیر از گیرنده اصلی یعنی ACE2 بود.

قبل از بررسی نحوه اتصالات پروتئین اسپایک با گیرنده‌های سلولی و داکینگ مولکولی[۱۳]، داده‌های پروتئینی باید پیش‌پردازش شوند. برای انجام این فرایند، ابتدا داده‌های HETATOM داده‌های دریافتی از پایگاه PDB(با IDهای 7DK3، 7VX4، 6YAU، 5U6B، 6SNW، 7EDI، 7W92 و 7TGW) با نرم‌افزار Notepad++ (نسخه ۸,۳,۳) حذف شدند. سپس عمل پیش‌پردازش داده‌ها با نرم‌افزار UCSF Chimera (نسخه ۱,۱۶) ادامه یافت؛ بدین صورت که زنجیره یا ماده اضافی همراه با پروتئین اسپایک یا گیرنده سلولی گزارش‌شده، همگی حذف شدند و پروتئین اسپایک یا گیرنده خالص به دست آمد. در گام بعدی، آمینواسیدهای غیراستاندارد حذف شدند و سپس با استفاده از گزینه Dock Prep نرم‌افزار تمامی داده‌ها بنا به پیش‌فرض نرم‌افزار، پیش‌پردازش و آماده انجام فرایند داکینگ مولکولی شدند.

داکینگ مولکولی داده‌های پروتئینی اسپایک واریانت‌های مختلف ویروس با گیرنده‌های مختلف سلولی در بدن انسان: در این مرحله هدف بررسی تمایل اتصال کلی پروتئین اسپایک و گیرنده‌های سلولی بود؛ به همین دلیل از روش داکینگ سرتاسری[۱۴] استفاده شد تا تمایلات اتصال تمامی بخش‌های پروتئین اسپایک در واریانت‌های مهم و گیرنده‌های سلولی با هم بررسی شوند. بدین منظور از وب سرور HDOCK[۱۵] استفاده شد و ۱۶ حالت مختلف (۴ واریانت پروتئین اسپایک و ۴ نوع گیرنده) بررسی شدند. به‌دلیل اینکه ساختار باز پروتئین اسپایک در اتصال به گیرنده نقش دارد، تمامی فایل‌های مربوط به پروتئین اسپایک، فرم باز این پروتئین را داشتند. بعد از انجام محاسبات توسط سرور و اطلاعات به‌دست‌آمده، ۱۰ مدل اصلی با اولویت مدل اول و پایدارتر تجزیه و تحلیل شدند.

پردازش نهایی پس از داکینگ مولکولی[۱۶]: در این مرحله، مدل یک و بهترین مدل مطرح‌شده توسط وب سرور HDOCK (از لحاظ سطح انرژی و RMSD[۱۷]) در رابطه با ۱۶ حالت، بررسی و برای انجام پردازش پس از داکینگ و تحلیل داده‌های وب سرور HDOCK استفاده شد. RMSD، درجه انطباق دو جزء با هم Dock شده است و این مقدار عددی هرچه به صفر نزدیک‌تر باشد، یعنی دو جزء (برای مثال پروتئین اسپایک و گیرنده) بهتر روی هم منطبق شده‌اند. برای انجام فرایند پس از داکینگ مولکولی از وب سرور PDBsum[۱۸] استفاده شد. این مرحله درواقع برای اطمینان از درستی داده‌ها و فرایند داکینگ انجام شد.

بحث و نتیجه‌گیری

ساختار و عملکرد پروتئین اسپایک SARS-CoV-2 در

مطالعات بیوانفورماتیکی: با توجه به اهمیت پروتئین اسپایک، در مکانیسم‌های ورود ویروس به سلول میزبان، تلاش‌های زیادی برای مطالعه ساختاری این پروتئین انجام گرفته است؛ این مطالعات ساختاری را می‌توان به دو دسته تقسیم کرد: ۱- روش‌های آزمایشگاهی و ۲- روش‌های بیوانفورماتیکی (۴).

میکروسکوپ الکترونی کرایو (Cryo-EM): یکی از مناسب‌ترین و در عین حال بهترین روش برای شناسایی ساختار پروتئین اسپایک استفاده از میکروسکوپ الکترونی کرایو است که می‌تواند تا سطح اتمی، پروتئین اسپایک را شناسایی کند و در ارزیابی و پیش‌بینی نحوه عملکرد این پروتئین بسیار خوب عمل کرده است. در میکروگراف الکترونی پروتئین اسپایک به راحتی می‌توان تریمرهای آزاد و کمپلکس‌های تریمر را دید. با استفاده از میکروگراف، حالت بسته و باز دومین اتصال گیرنده (RBD)[19] تشخیص داده می‌شود که درنتیجه می‌توان با بررسی پروتئین اسپایک در حالت پیش از ادغام و پس از ادغام به تغییر شکل فضایی طی ادغام غشایی پی برد. همچنین با استفاده از این میکروگراف، زیرواحدهای S1 و S2 پروتئین اسپایک به شکلی کاملاً واضح مشاهده می‌شوند (۸و۵۰).

آنالیز گلیکانی سایت ویژه اسپایک (Site-specific glycan analysis): گلیکان‌ها در گلیکوپروتئین‌های ویروسی نقش بی‌بدیلی در تاخوردگی پروتئین، پایداری، شناسایی توسط سیستم ایمنی و فرار از سیستم ایمنی دارند. آنالیزهای گلیکانی که برای ارزیابی میزان گلیکوزیلاسیون انجام شدند، گلیکوزیلاسیون را در تمام ۲۲ توالی گلیکان متصل به N موجود در پروتئین اسپایک SARS-CoV-2 نشان دادند. براساس مطالعات، ۹۸ درصد پروتئین اسپایک SARS-CoV-2 گلیکوزیله است؛ اما در موقعیت‌های ۶۰۳ و ۶۵۷ پروتئین اسپایک گلیکانی وجود ندارد؛ درحالی‌که سایر نقاط پروتئین اسپایک به شدت گلیکوزیله‌اند. نکته جالب توجه این است که گلیکوزیله‌بودن اسپایک در بعضی از نقاط دیگر آن با میکروسکوپ الکترونی کرایو مشاهده نشده است که درواقع نشان می‌دهد آنالیز گلیکانی می‌تواند تکمیل‌کنندهٔ روش میکروسکوپ الکترونی باشد (۸).

همترازی توالی: ترازکردن و هم‌ارزکردن توالی‌های پروتئین اسپایک SARS-CoV-2 و SARS-CoV برای مشخص‌کردن میزان مشابهت و تفاوت‌های این دو در سطح توالی انجام شده‌اند که اینگونه مطالعات می‌توانند بینش بسیار دقیقی را برای تولید واکسن‌ها و مبارزه با کووید-۱۹ در اختیار ما قرار بدهند (۳).

تجزیه و تحلیل جهش: اطلاعات توالی در این مطالعات از پایگاه داده GISAID[20] (ابتکار جهانی برای به اشتراک‌گذاری تمامی داده‌های آنفلوانزا پرندگان) به دست می‌آید. در ابتدا توالی‌های نوکلئوتیدی گلیکوپروتئین اسپایک با استفاده از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی تبدیل به توالی‌های پروتئینی می‌شوند. سپس این توالی‌های پروتئینی با واریانت ووهان، هم‌ردیف و نقاط جهش‌یافته تجزیه و تحلیل می‌شوند (۲۶).

مطالعات داکینگ مولکولی: این رویکرد برای پیش‌بینی اتصال پروتئین اسپایک با گیرنده سلولی انجام می‌شود. همچنین این داده‌ها می‌توانند در پیش‌بینی و ارزیابی اولیه توانایی مواد مختلف به‌عنوان دارو در ایجاد تداخل در اتصال پروتئین اسپایک به گیرنده استفاده شوند (۵۱).

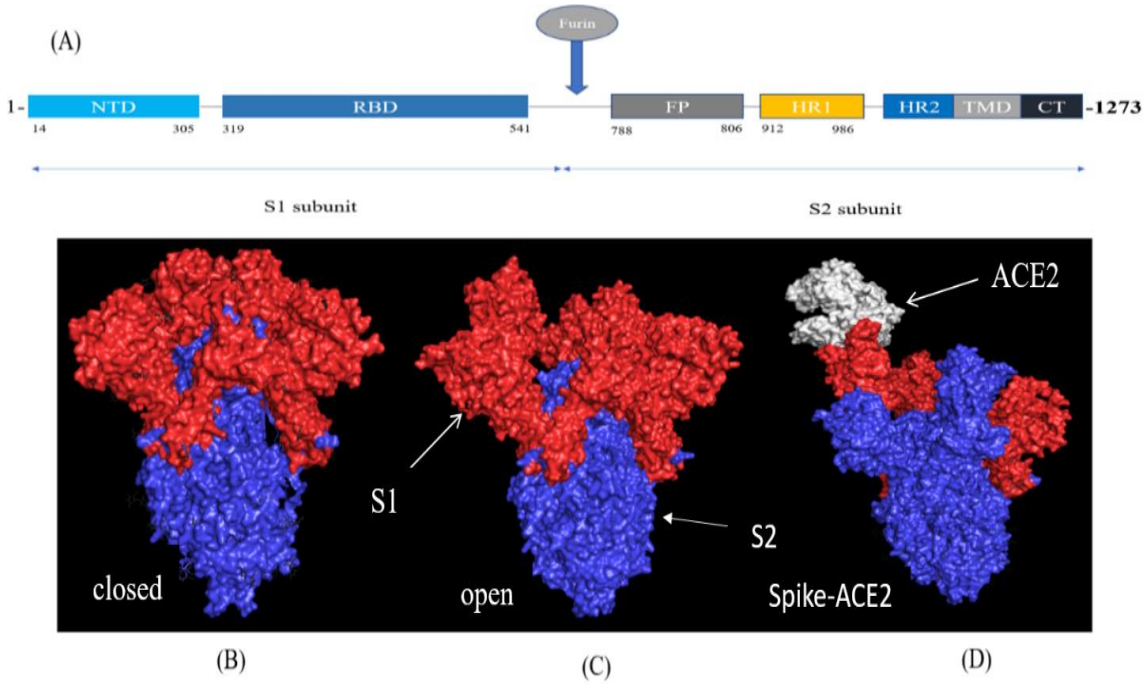
آنالیز مبتنی بر ساختارهای اپی‌توپ‌های ساختاری روی پروتئین اسپایک: در این روش به آنتی‌بادی‌های

گوناگون که به نواحی مختلف پروتئین اسپایک حمله می‌کنند، امتیازات مختلفی براساس آنالیزهای بیوانفورماتیکی داده می‌شود. در این رویکرد میزان دسترسی آنتی‌بادی برای پروتئین اسپایک در حالت باز و بسته، تعیین و به شکل نمودارهای heatmap تحلیلی به نمایش گذاشته می‌شود (۴۳).

مطالعه حاضر براساس روش‌های بیوانفورماتیکی به‌ویژه مطالعات داکینگ مولکولی انجام شده است. همان‌طور که در شکل ۱ مشخص است، توالی ۱۲۷۳ آمینواسیدی پروتئین اسپایک SARS-CoV-2 دارای زیرواحد S1 (آمینواسیدهای ۱۴ تا ۶۸۵) و زیرواحد S2 (آمینواسیدهای ۶۸۶ تا ۱۲۷۳) است که با رنگ‌های متفاوت از هم تفکیک شدند (۱و۲). گفتنی است جایگاه برخی از ریشه‌های آمینواسیدی در داخل زیرواحدها از داده‌های دریافتی از پایگاه دادهٔ PDB حذف شده بود که این امر به‌علت ۱۰۰ درصد نبودن بازده دستگاه‌های توالی‌یاب است و به همین دلیل در این مطالعه، این نواحی نادیده گرفته شدند. علاوه بر این در شکل ۱، ساختار باز و بسته پروتئین اسپایک و حالت متصل به گیرنده ACE2 نشان داده شده است.

پروتئین اسپایک یک گلیکوپروتئین است که بخش‌های پروتئینی توسط مولکول‌های پلی‌ساکاریدی پوشیده می‌شوند تا آنها را استتار کنند و به فرار ویروس از سیستم ایمنی میزبان منجر شوند. اسپایک نقش کلیدی در شناسایی گیرنده و فرایند ادغام غشایی SARS-CoV-2 بر عهده دارد. در این پروتئین سه پیش‌ساز به هم می‌رسند تا یک تریمر را تشکیل دهند و از دو زیرواحد S1 و S2 تشکیل شده است (۱و۳). پروتئین اسپایک حاوی ۲۲ سایت به شدت گلیکوزیله است، مطالعات نشان می‌دهند گلیکوزیلاسیون پروتئین اسپایک می‌تواند بر عفونت‌زایی SARS-CoV-2 مؤثر باشد و کاهش گلیکوزیلاسیون این پروتئین می‌تواند میزان عفونت‌زایی ویروس را کاهش دهد (۷). بنا بر بررسی‌های صورت‌گرفته با میکروسکوپ الکترونی کرایو زیرواحد S1 حول یک محور سه‌گانه می‌پیچید و زیرواحد S2 را می‌پوشاند (۴). عناصر ساختاری پروتئین اسپایک شامل یک توالی سیگنال جداشده (SS)[۲۱]، دومین پایانه N (NTD)[۲۲]، دومین اتصال به گیرنده (RBD)، محل برش پروتئاز، فیوژن پپتید (FP)[۲۳]، هپتاد تکرارشونده ۱(HR1)[۲۴]، هپتاد تکرارشونده ۲ (HR2)[۲۵] هستند (۸). به‌طور متوسط ۳۰ تا ۶۰ تریمر اسپایک از پوشش SARS-CoV-2 با فاصله حدود ۱۵ نانومتری از یکدیگر بیرون آمده‌اند. زیرواحد S1 حاوی دومین اتصال به گیرنده (RBD) است که مسئولیت اتصال به گیرنده آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ (ACE2) را به‌عنوان گیرنده اصلی ویروس دارد و زیرواحد S2 میانجی همجوشی ویروس با غشای سلولی میزبان است. اسپایک با اندازه ۱۸۰ تا ۲۰۰ کیلودالتون و با طول ۱۲۷۳ آمینواسید، یک پایانه N خارج سلولی دارد که حاوی زیرواحد S1 (آمینواسیدهای ۱۴ تا ۶۸۵) مسئول اتصال به گیرنده و زیرواحد S2 (آمینواسیدهای ۶۸۶ تا ۱۲۷۳) مسئول همجوشی با غشا است. در زیرواحد S1 یک دومین N ترمینال (آمینواسید ۱۴ تا ۳۰۵) و دومین اتصال به گیرنده یا RBD (آمینواسید ۳۱۹ تا ۵۴۱) وجود دارد (قسمت A شکل ۱) (۱و۲). زیرواحدهای S1 و S2 اسپایک در فضای خارج SARS-CoV-2 قرار می‌گیرند؛ اما بخش گذرندهٔ غشایی[۲۶] آن درون غشا قرار دارد و یک دومین پایانه C نیز در فضای داخل ویروس قرار می‌گیرد (۹). اسپایک به شکل عادی در حالت پیش‌ادغام[۲۷] قرار دارد؛ اما هنگامی که ویروس با سلول میزبان تعامل پیدا می‌کند، تغییر شکل فضایی ساختاری گسترده‌ای در

پروتئین اسپایک اتفاق می‌افتد که درنهایت به ترکیب ویروس با غشای سلولی میزبان منجر خواهد شد. دومین اتصال به گیرنده قبل از اتصال در حالت بسته قرار دارد؛ اما در هنگام اتصال شکل باز آن به ACE2 متصل می‌شود. اتصال به ACE2 باعث ایجاد تغییرات ساختاری می‌شود که تعاملات بین زیرواحدهای S1 و S2 را بی‌ثبات می‌کند. هنگام عفونت ویروسی زیرواحدهای S1 و S2 اسپایک SARS-CoV-2 توسط پروتئازهای سلولی از هم جدا می‌شوند و بیشتر به‌صورت تریمرهای هترودایمر S2/S1 تجمع می‌یابند و به این روش فعال‌سازی پروتئین صورت می‌گیرد؛ سرین پروتئاز TMPRSS2[۲۸] فعال‌کنندهٔ اصلی اسپایک است. دومین اصلی برای فرایند پروتئولیز، در سایت S2 قرار دارد که توسط TMPRSS2 یا سایر پروتئازها یک پایانه N آزاد برای فیوژن پپتید ایجاد می‌کند و باعث ایجاد تغییرات ساختاری برای در دسترس قرارگرفتن فیوژن پپتید برای غشای سلولی می‌شود. این قسمت درواقع محل شکست اصلی پروتئین اسپایک است. فیوژن پپتید یک سرین پروتئاز اولیه است که در بسیاری از سلول‌های اپیتلیال بیان می‌شود؛ به همین دلیل یک هدف ضدویروسی ایدئال برای مهار ورود ویروس است. علاوه بر این پروتئاز اصلی، سرین اندوپروتئاز پروپروتئین کانورتاز ۱[۲۹]، ترپیسن[۳۰]، ماتریپتاز (سرین پپتیداز غشای شبه‌ترپسین[۳۱]) و کاتپسین[۳۲] در فرایند پروتئولیز اسپایک طی ورود ویروس به سلول میزبان می‌توانند نقش داشته باشند. این تنوع در گیرنده‌ها نیز وجود دارد (۱و۲).



شکل ۱ – ساختار پروتئین اسپایک SARS-CoV-2. A) ساختار خطی پروتئین اسپایک SARS-CoV-2 و محل برش فورین. B) پروتئین اسپایک در حالت بسته؛ در این حالت پروتئین نمی‌تواند به گیرنده ACE2 متصل شود، زیرواحد S1 (قرمز)، زیرواحد S2 (آبی) (PDB ID 6VXX). C) پروتئین اسپایک در حالت باز و آماده اتصال (PDB ID 7XK3). D) پروتئین اسپایک درحال اتصال به گیرنده ACE2 که گیرنده ACE2 به رنگ سفید نشان داده شده است (PDB ID7FEM).

همان‌طور که اشاره شد هنگامی که زیر واحد S1 به ACE2 متصل می‌شود یک ادغام رخ می‌دهد؛ مارپیچ N

ترمینال ACE2 با سطح بیرونی دومین متصل‌شونده به گیرنده، در زیرواحد S1 متصل می‌شود که این اتصال شامل ۱۶ آمینواسید در دومین متصل‌شونده به گیرنده و ۲۰ آمینواسید در ACE2 است که شبکه‌ای متشکل از ۱۴ پیوند هیدروژنی و یک پل نمکی را تشکیل می‌دهند (۴). مطالعات نشان می‌دهند شبه‌ویروس‌های SARS-CoV-2 فاقد محل برش برای پروتئین اسپایک هستند؛ بنابراین، به نظر می‌رسد به دست آوردن محل برش فورین یکی از اولین رخدادهای سازگاری خانواده ویروس‌های کرونا برای ایجاد عفونت‌های شدید در انسان است (۱۳). توالی‌های دومین متصل‌شونده به گیرنده SARS-COV و SARS-CoV-2 درجه بالای تشابه ۷۴ درصدی دارند؛ البته برخی از جایگزینی‌ها در مناطق کلیدی اتصالی در دومین اتصال به گیرنده SARS-CoV-2 رخ داده است که به تماس‌های اتمی بیشتر بین دو پروتئین منجر می‌شوند و به‌طور بالقوه به میل اتصال بالاتر به ACE2 در SARS-CoV-2 منجر می‌شود (حدود ۴ برابر). یک موتیف باقیمانده پلی بازیک در مرز بین زیرواحدهای S1 و S2 وجود دارد که آن را مستعد شکافتن توسط فورین / شبه‌فورین پروتئازها در طول بیوژنز و ورود به سلول می‌کند. پروتئازهای شبه‌فورین تقریباً در تمام بافت‌ها و اندام‌های مختلف توزیع می‌شوند؛ این امر توجیه‌کنندهٔ علت انتقال‌پذیری بسیار کارآمد SARS-CoV-2 بین جمعیت‌های انسانی است. همچنین تنوع پروتئازهای استفاده‌شده در ورود ویروس، علت دیگر این انتقال‌پذیری بالاتر و عفونت سیستماتیک چند عضوی در بیماران آلوده به SARS-CoV-2 است (۲). داده‌های حاصل از SDS-PAGE و وسترن‌بلات دربارهٔ نحوه ورود خانواده کروناویروس‌ها به سلول میزبان، شکست پروتئولیز اسپایک در هنگام ورود ویروس را تأیید می‌کنند و این موضوع را می‌توان از باندهای تشکیل‌شده در حالت‌های قبل و بعد از ورود ویروس مشاهده کرد (۱۴و۱۵).

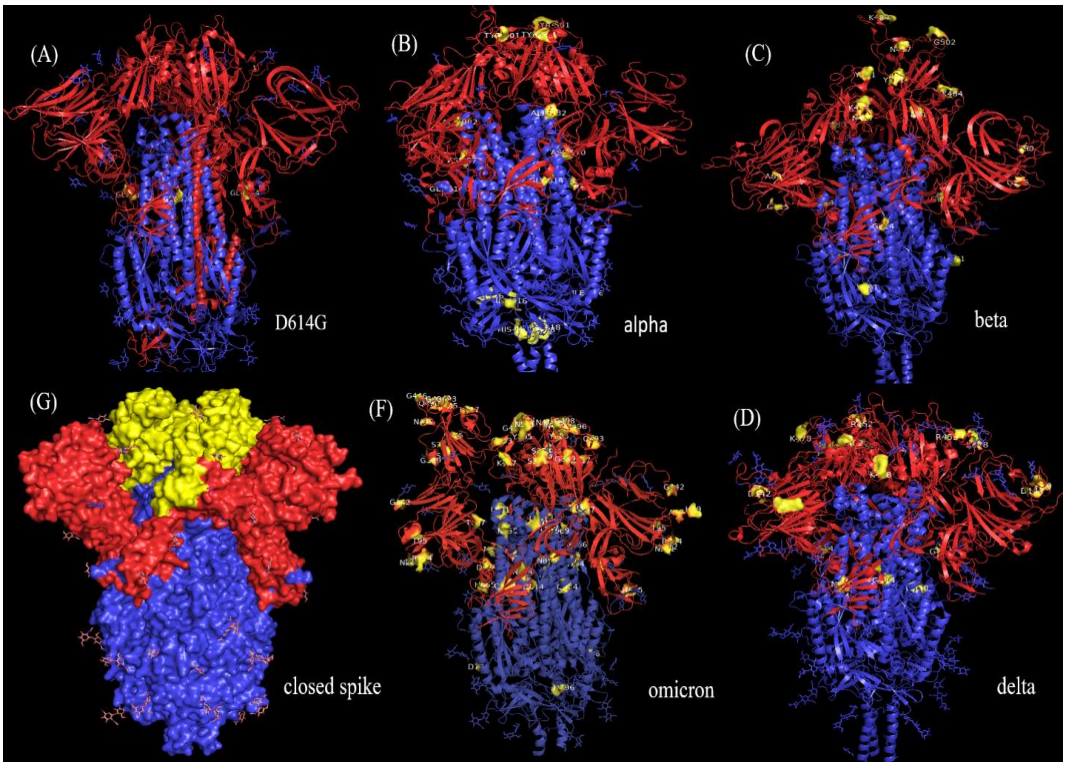
ایجاد واریانت‌های جدید SARS-CoV-2 با تکیه بر جهش‌های پروتئین اسپایک: SARS-CoV-2 جزء معدود ویروس‌های RNAدار است که مکانیسم تصحیح ژنوم[۳۳] طبیعی دارد و این عملکرد را توسط nsp[۳۴] با فعالیت ´۳ به ´5 اگزونوکلئازی انجام می‌دهد (۱۶). گزارش‌های ژنومی نشان می‌دهند تاکنون هزاران جهش شناخته‌شده و ناشناخته در SARS-CoV-2 رخ داده‌اند؛ اما به جهش‌هایی بیشتر توجه می‌شود که می‌توانند عملکرد ورود ویروس به سلول‌های میزبان را بهبود بخشند و همچنین بر اثرگذاری واکسن‌ها تأثیر بگذارند (۱۷).

برای مدل‌سازی پروتئین اسپایک در واریانت‌های جدید SARS-CoV-2، تمامی جهش‌های صورت‌گرفته (اعم از جهش‌های حذف و جانشینی) از واریانت‌های مختلف که از مقالات مختلف استخراج شده بودند برای واریانت‌های آلفا، بتا، دلتا و اومیکرون روی پروتئین اسپایک اعمال شدند که با رنگ مجزا از بقیه نواحی پروتئین در شکل ۲ و ۳ تفکیک شدند. درواقع این بررسی‌ها که ترکیبی از تکیه بر داده‌های توالی و ظاهر پروتئین اسپایک هستند، دید عمیقی برای ارزیابی جهش‌های صورت‌گرفته در پروتئین اسپایک به ما می‌دهند.

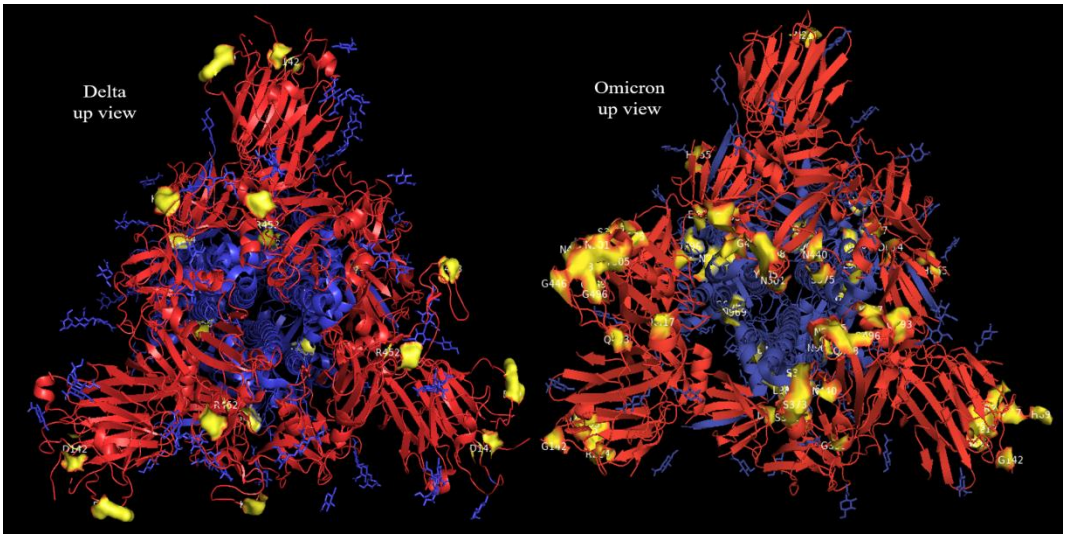
جهش مهم D614G (B.1): این جهش از نوع نقطه‌ای بوده (۱۸) که شامل جایگزینی آمینواسید گلایسین به جای آمینواسید آسپارتات در موقعیت ۶۱۴ پروتئین اسپایک است. یافته‌ها نشان می‌دهند این تغییر می‌تواند برهمکنش پروتئین اسپایک و گیرنده ACE2 را افزایش

دهد؛ البته این جهش با افزایش شدت عفونت ناشی از SARS-CoV-2 مرتبط نیست؛ اما می‌تواند میزان بار ویروسی واردشده به سلول‌های انسانی را افزایش دهد. در ویروس پایه ووهان، وجود آسپارتات در موقعیت ۶۱۴ باعث ایجاد پل‌های نمکی بین این نقطه پروتئین اسپایک با K854 و T859 آن می‌شود؛ درنتیجه به فشرده‌سازی این پروتئین منجر خواهد شد؛ اما با جایگزینی گلایسین در این موقعیت، پل‌های نمکی دیگر وجود نخواهند داشت؛ بنابراین، تریمر پروتئین اسپایک با استحکام کمتری در کنار هم قرار خواهند گرفت. این ترکیب سست‌تر توجیه‌کنندهٔ این واقعیت است که چرا واریانت حاوی D614G نسبت به نوع ووهان عفونی‌تر است (قسمت A شکل ۲). درواقع این جهش موجب می‌شود پروتئین اسپایک برای تعامل با گیرنده ACE2 آزادتر باشد و راحت‌تر به گیرنده خود متصل شود. این جهش میزان انتقال در مقادیر کم ویروس را افزایش می‌دهد. D614G شکست فورین را کاهش می‌دهد و درنتیجه خطر ریزش زودرس S1 را کم می‌کند و پایداری حرارتی اسپایک را افزایش خواهد داد. این تغییرات درنهایت به افزایش بار ویروسی در دستگاه تنفسی فوقانی (بینی و حلق) و نه در ریه‌ها منجر می‌شوند؛ به همین دلیل این جهش موجب تسهیل انتقال فرد به فرد می‌شود (۳و۸و۱۸-۲۰). مطالعات نشان دادند ویروس‌های با پروتئین‌های اسپایک حاوی G614 با کارایی بالاتری وارد سلول‌های میزبان می‌شوند (۲۱) و همچنین G614 علاوه بر بار ویروسی بالاتر با سن کمتر بیماران مرتبط است (۲۲). این تغییرات ساختاری موجب شد در مدت بسیار کمی جهش D614G در غالب واریانت‌های نوظهور کووید-۱۹ نمایان شود و به نوعی تمامی واریانت‌های جدید نوادگان این جهش نقطه‌ای مهم بودند. ویروس‌شناسان بر این عقیده‌اند که این جهش به تسریع فرایند تکامل SARS-CoV-2 منجر شده است و به همین دلیل جهش بسیار حائز اهمیتی است (۱۹). ردیابی این واریانت جدید نشان داده است میزان بیان ژن ACE2 در جمعیت‌های مختلف انسانی در ایجاد این جهش مؤثر بوده است؛ زیرا بنا بر بررسی‌های انجام‌شده بیان این ژن در جمعیت‌های اروپایی، آمریکای شمالی و آفریقایی بیشتر است و به همین دلیل این واریانت در این مناطق بیشتر مشاهده شده است؛ درحالی‌که در چین به این شکل گسترده دیده نشد. درواقع این ایده در اینجا مطرح می‌شود که ممکن است سطح بیان ACE2 نیروی محرکه‌ای برای جهش D614G بوده باشد (۱۷). با توجه به اینکه بیشتر شرکت‌های واکسن‌سازی پروتئین اسپایک را به‌عنوان پروتئین هدف اصلی خود در توسعه واکسن‌ها به کار برده‌اند، این جهش در کاهش اثرگذاری واکسن‌ها تأثیر مهمی داشته است (۲۳).

تکامل واریانت‌های جدید: تغییرات انجام‌شده در پروتئین اسپایک تاکنون به افزایش انعطاف‌پذیری ویروس منجر شده است. بنا بر ارزیابی‌های انجام‌شده سرعت جهش در پروتئین اسپایک حدود سه برابر بیشتر از کل ژنوم SARS-CoV-2 است (شکل ۲ و ۳). براساس توصیه سازمان بهداشت جهانی، تمامی جهش‌های نوظهور کشف‌شده توسط دانشمندان در پایگاه داده GISAID[۳۵] (ابتکار جهانی برای به اشتراک‌گذاری تمامی داده‌های آنفلوانزا پرندگان) قرار داده می‌شوند و درحال حاضر برای هر آمینواسید پروتئین اسپایک یک جهش در این پایگاه داده به ثبت رسیده است.



شکل ۲- پروتئین اسپایک در واریانت‌های مختلف SARS-CoV-2 (مناطق جهش‌یافته با رنگ زرد مشخص شدند). A) جهش D614G باعث بازشدن بیشتر پروتئین شده است (PDB ID 7BNM)، B) واریانت آلفا (B.1.1.7) (PDB ID 7LWU)، C) واریانت بتا (B.1.351) (PDB ID 7VX1)، D) واریانت دلتا (B.1.617.2) (PDB ID 7SBK) ، D) نقاط جهش واریانت اومیکرون در مقایسه با ویروس ووهان (PDB ID 6VYB)، G) پروتئین اسپایک اولیه و فاقد جهش؛ دومین اتصال به گیرنده RBD (زرد)، زیرواحد S1 پروتئین اسپایک (قرمز)، زیرواحد S2 پروتئین اسپایک (آبی) (PDB ID 6VXX).



شکل ۳- تصویر از دید بالا پروتئین اسپایک در واریانت‌های جدیدتر اومیکرون و دلتا. تعداد جهش‌ها در اومیکرون به‌خصوص در زیرواحد S1 که مسئول اتصال پروتئین به گیرنده را بر عهده دارد، به شکل قابل ملاحظه‌ای بالاتر بوده است و به نوعی می‌توان این را بازطراحی دوباره پروتئین اسپایک تعبیر کرد (PDB ID 6VYB) و (PDB ID 7SBK).

تنها تعداد کمی از این جهش‌ها می‌توانند مزیت‌های فرار از سیستم ایمنی، واکسن‌ها و آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده را به ویروس بدهند (۱۹)؛ بنابراین، بین واریانت‌های جدید تنها جهش‌هایی که اهمیت بالینی و نگران‌کننده داشته باشند، عنوان VOC[۳۶] را به خود اختصاص خواهند داد. علاوه بر این، واریانت‌های با اهمیت کمتر با عنوان VOI[۳۷] شناخته می‌شوند (۲۴و۲۵). مشخص شده است فرکانس نواسانات مولکولی ارتباط نزدیکی با خواص عملکردی مولکول‌های زیستی دارند. کاهش نوسانات مولکولی در ناحیه اتصال به گیرنده گلیکوپروتئین اسپایک جهش‌یافته را می‌توان از دو جنبه ارزیابی کرد. نخست، کاهش حرکت مولکولی به کاهش میل ترکیبی ACE2 می‌تواند منجر شود و دوم، کاهش حرکت مولکولی می‌تواند کمپلکس اسپایک-ACE2 را قادر کند پس از اتصال به ساختاری پایدارتر و محکم‌تر تبدیل شود. درواقع دو حالت up-formation و down-formation در اینجا مطرح است؛ در حالت up-formation پایداری مولکولی و ساختاری محکم روی خواهد داد که به اثر منفی بر اتصال بین اسپایک و ACE2 منجر خواهد شد. درواقع این یافته‌ها می‌توانند درک عمیقی را دربارهٔ شیوه پیش‌بینی و ارزیابی عملکرد هر جهش جدید روی عملکرد پروتئین اسپایک به ما بدهد و می‌تواند در کنترل پاندمی کمک شایانی به جامعه بشری ارائه کند (۲۶). همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود واریانت‌های اپسیلون، اتا، لوتا، کاپا و لامبدا روی عملکرد آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده تأثیرکمتری دارند و به همین دلیل با عنوان VOI شناخته می‌شوند (۱۳).

داکینگ مولکولی داده‌های پروتئینی اسپایک واریانت‌های مختلف ویروس با گیرنده‌های مختلف سلولی در بدن انسان: شایان ذکر است علت استفاده از توالی پروتئین اسپایک چهار واریانت اصلی، آلفا، دلتا و اومیکرون اهمیت بالینی بیشتر (VOC) و تأثیر بیشتر این جهش‌ها در تداخل در عملکرد آنتی‌بادی‌های خنثی‌کنندهٔ این پروتئین‌های اسپایک به نسبت سایر پروتئین‌های اسپایک واریانت‌های دیگر کمتر مهم (VOI) بوده است. پس از انجام فرایند داکینگ مولکولی توسط وب سرور HDOCK مدل اول و محتمل‌تر هرکدام از محاسبات با نرم‌افزار PyMOL ترسیم شد. همان‌طور که در جدول ۲ نمایان است گیرنده مدنظر با رنگ سبز، زیرواحد S1 با رنگ قرمز و زیرواحد S2 با رنگ آبی مشخص شدند. سطح انرژی یا امتیاز داکینگ منفی‌تر نشان‌دهندهٔ پایداری بالاتر پیش‌بینی‌های انجام‌گرفته است؛ درنتیجه می‌توان گفت این عدد با تمایل اتصال دو جزء به هم ارتباط دارد. مقایسه سطح انرژی دریافتی از هرکدام از محسابات نشان‌دهندهٔ تمایل بالای جهش‌های جدید SARS-CoV-2 برای اتصال به گیرنده KREMEN1 بود که این تمایل اتصال حتی از گیرنده اصلی ACE2 نیز بیشتر بود. این در حالی است که هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در سطح انرژی اتصال گیرنده ACE2 با واریانت‌های جدید پروتئین اسپایک در مقایسه با سایر گیرنده‌ها مشاهده نشد و درواقع تمایل اتصال تفاوت چشمگیری نداشت. همان‌طور که مشخص است به‌علت منفی‌تربودن قابل ملاحظه و محسوس گفتنی است تمایل اتصال پروتئین اسپایک واریانت‌های نوظهور کووید-۱۹ نسبت به گیرنده جایگزین و غیراصلی

KREMEN1 درحال افزایش است؛ به‌طوری‌که هرچه از واریانت اصلی به سمت دلتا پیش می‌رویم، تمایل اتصال به KREMEN1 (از ۳۰۸/۲۷- تا ۳۸۸/۵۱- کیلوژول بر مول) افزایش یافته است. پایداری ساختار به‌وجودآمده در واریانت اومیکرون با KREMEN1 با کاهش محسوسی در سطح انرژی (۳۲۳/۰۶- کیلوژول بر مول) همراه بوده است؛ درحالی‌که تفاوت محسوسی در تمایل اتصال پروتئین اسپایک به گیرنده ACE2 مشاهده نشده است. گفتنی است با وجود اینکه ما در این مطالعه از تکنیک داکینگ سرتاسری استفاده کردیم، باز هم زیرواحد S1 پروتئین اسپایک محل اصلی اتصال بین پروتئین اسپایک و گیرنده‌های آن بوده است؛ درحالی‌که زیرواحد S2 که در اصل در داخل پوشش ویروس قرار می‌گیرد و قاعدتاً نقشی در اتصال ندارد، بنا بر مطالعات داکینگ، حتی در صورتی که به شکل خالص و جدا از ساختمان ویروس نیز بررسی شود، نقشی در اتصال ویروس نمی‌تواند داشته باشد. علت این امر مناسب‌بودن ریشه‌های موجود در زیرواحد S1 برای اتصال به گیرنده بوده است و این اتصالات با زیرواحد S1 کمترین انرژی ممکن را دارند و پایدارترند؛ بنابراین، محتمل‌تر نیز هستند. این اتصالات در تصاویر جدول ۲ نمایان‌اند.

برای اطمینان از انجام درست و بی‌عیب فرایند داکینگ مولکولی از وب سرور PDBsum می‌توان استفاده کرد. تجزیه و تحلیل‌های آماری که این وب سرور در اختیار قرار داد بررسی شدند. میزان G-Factor و نمودار راماچاندران در اولویت بودند. در بررسی‌های انجام‌شده G-Factor بسیار غیرطبیعی (کمتر از ۱/۰-) در مورد هیچ‌کدام از اتصالات جدول ۲ مشاهده نشد. در کل با آنالیز نمودارهای راماچاندران و G-Factorها به این نتیجه رسیدیم که فرایند داکینگ مولکولی به خوبی صورت گرفته است و خطای سیستماتیک و بزرگی در تحلیل نتایج مشاهده نشد.

داروها و واکسن‌های استفاده‌شده برای درمان کووید-۱۹: داروهای استفاده‌شده برای درمان کووید-۱۹ به سه دسته تقسیم‌بندی می‌شوند: ۱) آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده، ۲) مهارکننده‌های فیوژن و ۳) مهارکننده‌های پروتئازها. علاوه بر این داروها، داروهای ضدویروس غیراختصاصی مانند IFN-alpha نوترکیب انسانی، رمدیسیویر (ضدابولا و عملکرد آن مهار RNA پلی‌مرازها است)، کلروکین (تولید سایتوکین‌های التهابی را کاهش می‌دهد)، فاویپیراویر (داروی ضدآنفلوانزا)، لوپیناویر - ریتوناویر (مهارکنندهٔ پروتئازها) و آرابیدول (داروی ضدآنفلوانزا) ازنظر بالینی برای درمان کووید-۱۹ استفاده شده‌اند (۱و۲). همچنین هدف قراردادن فعل و انفعالات آلوستریک آنزیم‌های دخیل در مکانیسم ویروس یک استراتژی پذیرفتنی را برای مداخله درمانی ارائه دادند (۴۱). گفتنی است آنتی‌بادی‌های مونوکلونال به‌دست‌آمده از اشخاص بهبودیافته از کووید-۱۹ می‌توانند به اپی‌توپ‌های جدیدی ازجمله حفره‌های بسیار داخلی پروتئین اسپایک حمله کنند (۴).

علاوه بر داروها، واکسن‌ها نیز برای کنترل پاندمی کووید-۱۹ استفاده شدند و پلتفرم‌های مختلفی برای ساخت واکسن‌ها به کار رفتند؛ ازجمله ۱) ویروس کامل غیرفعال، ۲) پروتئین زیرواحد ویروسی، ۳) استفاده از حامل آدنوویروس و ۴) استفاده از قطعات mRNA پوشیده‌شده با لیپوزوم (۱۳). دلیل این تنوع

گسترده در پلتفرم‌های ساخت واکسن تلاش برای کنترل پاندمی SARS-CoV-2 با کمک واکسن‌های ایمن و مؤثر بود (۴۲). پروتئین اسپایک با توجه به نقش مهمی که در فرایند ورود ویروس به سلول‌های میزبان بازی می‌کند، هدف اصلی برای ساخت واکسن و آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده و مهارکننده‌های پروتئازی است (۱و۲و۸).

ارزیابی اثر داروها بر واریانت‌های SARS-CoV-2: اثرات جهش بر آنتی‌بادی‌ها ارزیابی شده‌اند. مطالعات نشان می‌دهند جهش‌های دومین اتصال به گیرنده (RBD) پروتئین اسپایک می‌توانند بر برهمکنش‌های آنتی‌ژن - آنتی‌بادی‌های استفاده‌شده تأثیرگذار باشند (۴۳)؛ برای مثال، بنا بر ارزیابی‌های انجام‌گرفته در مورد واریانت اومیکرون و اعلام سازمان بهداشت جهانی، کورتیکواستروئیدها و مهارکننده‌های گیرنده اینترلوکین ۶ همچنان مؤثرند؛ اما دربارهٔ سایر داروها باید اثرگذاری آنها به‌طور مجدد ارزیابی شود (۳۹).

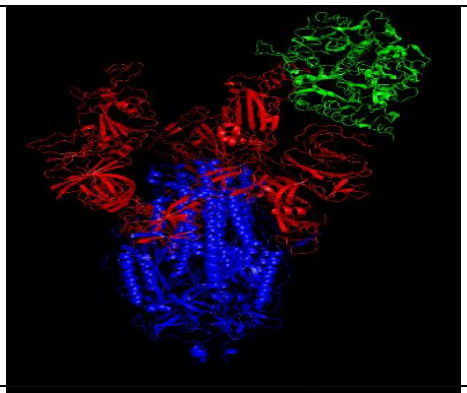
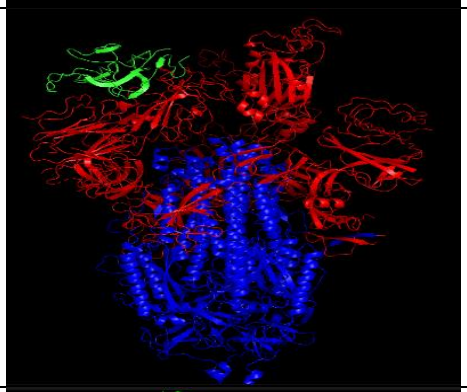
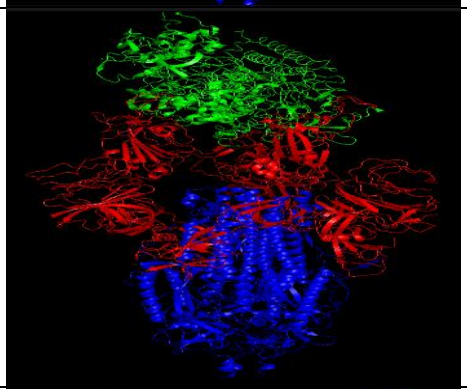
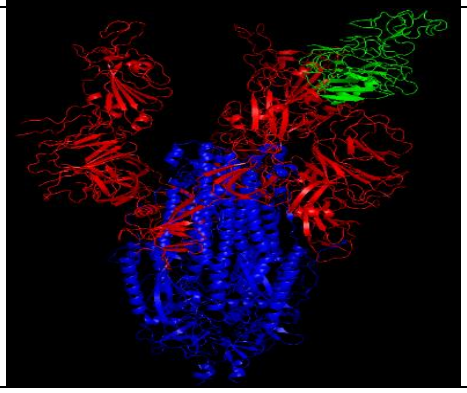
ارزیابی اثر واکسن‌ها بر واریانت‌های SARS-CoV-2: با توجه به ظهور واریانت‌های جدید SARS-CoV-2 و اینکه هنوز افراد واکسینه‌شده بخش کوچکی از جمعیت جهانی را تشکیل می‌دهند، نمی‌توان با استناد به میزان مرگ‌ومیر و تعداد مبتلایان به ارزیابی دقیقی از میزان اثرگذاری واکسن‌ها دست یافت؛ اما با استفاده از آزمایش میزان خنثی‌سازی سرم خون افراد واکسینه‌شده در برابر انواع واریانت‌های نوظهور می‌توان ارزیابی تقریباً مناسبی از میزان کارایی واکسن‌های مختلف داشت (۱۸و۴۳و۴۴). دو ابزار آزمایشگاهی که در ارزیابی عملکرد واکسن‌ها در مقابل انواع جهش‌های SARS-CoV-2 استفاده می‌شوند (۲۱)، شامل شبه‌ویروس‌ها و ذرات شبه‌ویروسی هستند. شبه‌ویروس‌ها هترولوگ‌هایی هستند که با پروتئین‌های ساختاری ایمن و غیرقابل تکثیر ویروس مدنظر پوشیده شدند؛ اما ذرات شبه‌ویروسی همان پروتئین‌های ساختاری ویروس مطالعه‌شده هستند و بنابراین، خواص مشابه‌تری نسبت به ویروس‌هایی دارند که از آنها مشتق شدند و می‌توان از آنها برای مطالعه کل مجموعه ویروس‌ها استفاده کرد (۱۳). علاوه بر روش‌های خنثی‌سازی سرم می‌توان از تکنیک بیوانفورماتیکی ISM[۳۸] برای تشخیص اثربخشی انواع واکسن‌های توسعه‌داده‌شده در برابر واریانت‌های نوظهور کووید-۱۹ استفاده کرد. این روش قبلاً هر ساله برای ساخت واکسن‌های فصلی آنفلوانزا استفاده می‌شد. بیشترین کاربرد ISM برای شناسایی جهش‌های مهمی است که می‌توانند بر اثربخشی واکسن‌ها علیه ویروس تأثیرگذار باشند (۴۲). همان‌طور که از نتایج فرایند داکینگ مولکولی در جدول ۲ مشخص است، واریانت‌های مختلف کووید-۱۹ در تمایل اتصال این ویروس به گیرنده‌ها می‌توانند نقش داشته باشند و تمایل اتصال از واریانت اصلی تا اومیکرون به گیرنده‌های مختلف ویروس در بدن انسان افزایش یافته است؛ این داده‌ها می‌توانند تأییدکنندهٔ عملکرد خنثی‌سازی واکسن‌های مختلف علیه پروتئین اسپایک باشند که در جدول خنثی شده‌اند. درواقع کاهش در عملکرد خنثی‌سازی واکسن‌ها (جدول ۳) به نوعی می‌تواند مربوط به افزایش تمایلات اتصال پروتئین اسپایک در واریانت‌های VOC با گیرنده‌های آن باشد.

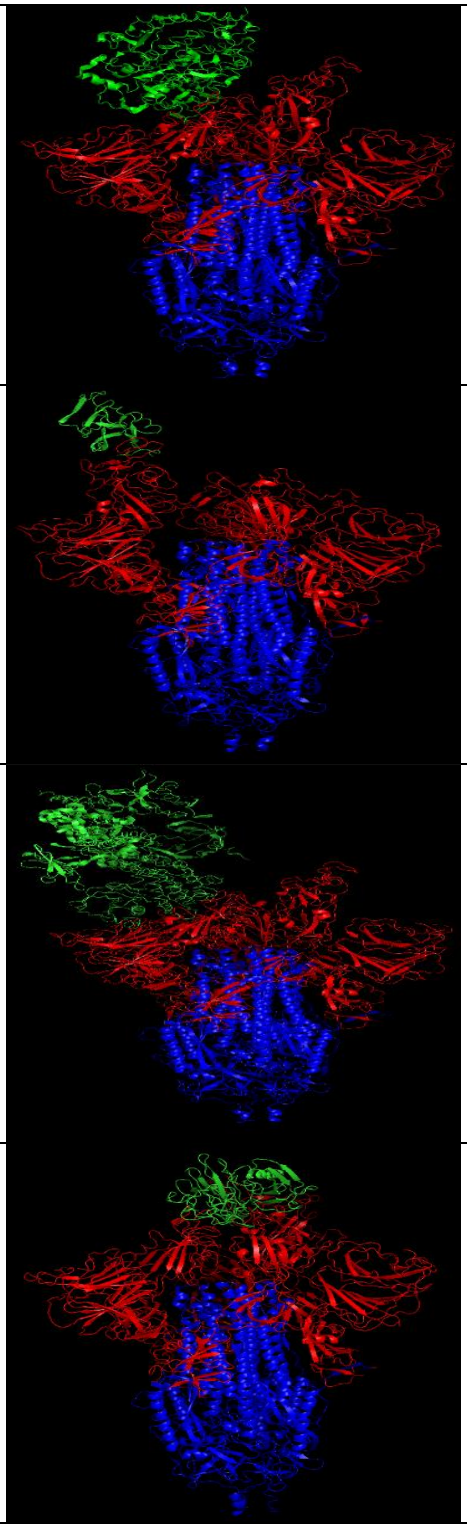
جدول ۱- جهش‌های با اهمیت پروتئین اسپایک در واریانت‌های SARS-CoV-2

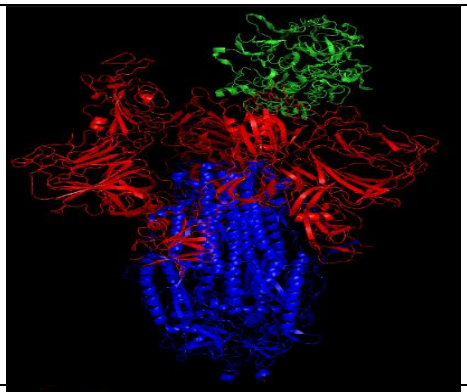
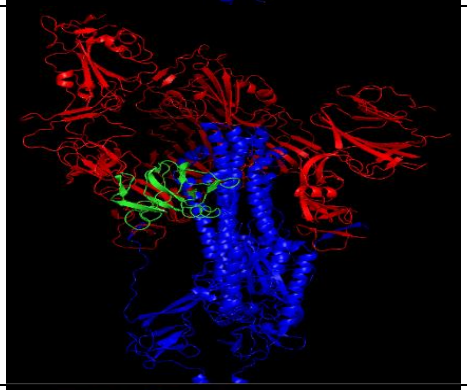
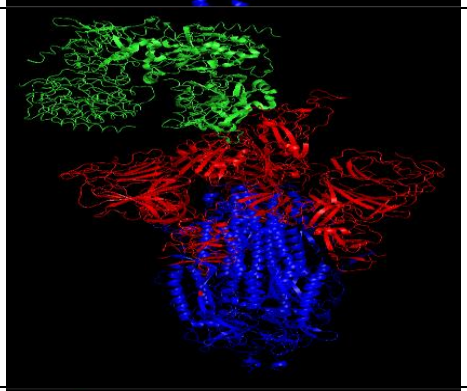
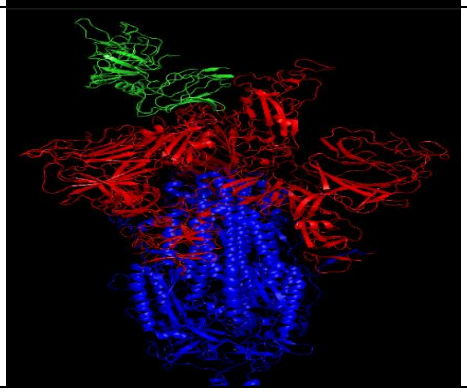
عملکرد جهش	اسپایک	اسپایک	اسپایک	اسپایک	کلاد GISAID	نام‌گذاری WHO
	سایر	سایت فورین	RBD	NTD	نام رایج	
افزایش سرایت‌پذیری (۲۷و۲۸)	D614G	----------	----------	----------	D614G واریانت ایتالیایی	(B.1)
افزایش سرایت‌پذیری و فرار از آنتی‌بادی‌ها (۱۹و۲۹)	A570D D614G T716I S982A D1118H K1191N	P681H	E484K S494P N501Y	حذف 69-70 حذف ۱۴۴	GRY واریانت انگلیسی	آلفا (B.1.1.7)
افزایش سرایت‌پذیری و فرار از آنتی‌بادی‌ها (۳)	D614G A701V	----------	K417N E484K N501Y	D80A D215G حذف ۲۴۱-۲۴۳	GH/501Y.V2 واریانت آفریقای جنوبی	بتا (B.1.351)
افزایش سرایت‌پذیری و کاهش اثر واکسن‌ها (۱۹)	D614G H655Y T1027I	----------	K417T E484K N501Y	L18F T20N P26S D138Y R190S	GR/501Y/V3 واریانت برزیلی	گاما (P.1)
افزایش سرایت‌پذیری، افزایش میزان شکست بین S1/S2، کاهش اثر واکسن‌ها (۱۹)	D614G D950N	P681R	K417N L452R T478K	T19R G142D حذف ۱۵۶-۱۵۷ R158G	G/478K.V1 واریانت هند	دلتا (B.1.617.2)
افزایش سرایت‌پذیری و فرار از آنتی‌بادی‌ها به میزان متوسط (۳۰-۳۲)	D614G	----------	L452R	S13I W152C	GH/452R.V1 واریانت کالیفرنیا	اپسیلون (B.1.427) (B.1.429)
فرار از آنتی‌بادی‌ها به میزان متوسط به‌دلیل E484K (۳۰)	D614G Q677H F888L	----------	E484K	A67V حذف H69 حذف V70 حذف V144	G/484K.V3	اتا (B.1.525)
فرار از آنتی‌بادی‌ها به میزان متوسط (۳۳)	L5F D614G A701V	----------	S477N E484K	T95I D253G	GH/253G.V1 واریانت نیویورک	لوتا (B.1.526)
فرار از آنتی‌بادی‌ها به میزان متوسط و افزایش میزان شکست S1/S2 (۳۴-۳۶)	D614G Q1071H	P681R	L452R E484Q	T95I G142D E154K	G/452R.V3 واریانت هند	کاپا (B.1.617.1)
افزایش عفونت‌زایی و تا حد کمی فرار از آنتی‌بادی‌ها (۳۷)	D614G T859N	----------	L452Q F490S	G75V T76I حذف ۲۴۶-۲۵۲	GR/452Q/V1 واریانت پرو	لامبدا (C.37)
بسیاری از جهش‌ها در دومین اتصال به گیرنده (RBD) هستند؛ بنابراین به سرایت‌پذیری بالاتر ویروس منجر خواهد شد (۲۵و ۳۸-۴۰).	T547K H655Y N679K N764K D796Y N856K Q954H N969K L981F	P681H	N501Y–Y505H G496S–Q498R E484A–Q493K S477N –T478K G440K–G446S S375F–K417N S371L–S373P G339D	A67V حذف 69-70 T95I G142D حذف 143-145 حذف N211 L212I D614G	GR/484A واریانت آفریقای جنوبی	اومیکرون (B.1.1.529)

جدول ۲- نتایج داکینگ مولکولی بین پروتئین اسپایک اصلی و واریانت‌های آلفا، دلتا و اومیکرون SARS-CoV-2 با گیرنده‌های مختلف سلولی در بدن انسان به همراه سطح انرژی اتصال و درجه انطباق پروتئین اسپایک و گیرنده با هم (rmsd)

نوع اتصال (واریانت-گیرنده)	سطح انرژی Kj/mol	Ligand rmsd(A)	تصویر نحوه اتصال
Main-ACE2 [7DK3-7VX4]	-237.40	101.47	
Main-ASGR1 [7DK3-6YAU]	-281.11	347.05	
Main-AXL [7DK3-5U6B]	-279.86	452.26	
Main-KREMEN1 [7DK3-6SNW]	-308.27	177.06	

Alpha-ACE2 [7EDI-7VX4]	-252.63	151.01			
Alpha-ASGR1 [7EDI-6YAU]	-256.27	339.37			
Alpha-AXL [7EDI-5U6B]	-281.33	478.38			
Alpha-KREMEN1 [7EDI-6SNW]	-294.33*	244.63			

Delta-ACE2 [7W92-7VX4]	-275.37	193.00			
Delta-ASGR1 [7W92-6YAU]	-266.58	355.62			
Delta-AXL [7W92-5U6B]	-274.67	329.82			
Delta-KREMEN1 [7W92-6SNW]	-388.51*	317.57			

Omicron-ACE2 [7TGW-7VX4]	-262.54	99.14			
Omicron-ASGR1 [7TGW-6YAU]	-270.68	320.16			
Omicron-AXL [7TGW-5U6B]	-277.18	220.88			
Omicron-KREMEN1 [7TGW-6SNW]	-323.06*	287.67			

* سطح انرژی پایین‌تر و درنتیجه ایجاد ساختار پایدارتر ساختار متصل پروتئین اسپایک با KREMEN1 مشهود است و در واریانت دلتا به اوج خود رسیده است.

* rmsd: درجه انطباق دو جزء به هم متصل‌شده که این مقدار عددی هرچه به صفر نزدیک‌تر باشد، یعنی دو جزء (برای مثال پروتئین اسپایک و گیرنده) بهتر روی هم منطبق شده‌اند.

جدول ۳- اثربخشی واکسن‌های معروف در جهان پس از ۱۴ روز از تزریق دو یا سه دوز در برابر انواع واریانت‌های مهم SARS-CoV-2 خلاصه شده است.

نوع واکسن	آلفا (B.1.1.7)	بتا (B.1.351)	گاما (P.1)	دلتا (B.1.617.2)	اومیکرون (B.1.1.529)
فایزربیونتک (mRNA)	۹۰ درصد در برابر عفونت علامت‌دار ۱۰۰ درصد در برابر فرم شدید (۴۶و۴۸)	حدود ۸۵ درصد در برابر عفونت حدود ۹۵ درصد در برابر فرم شدید (۴۷, ۴۸)	۸۵ درصد در برابر عفونت ۹۸ درصد در برابر فرم شدید (۴۸)	۸۵ درصد در برابر عفونت ۹۴/۷ درصد در برابر فرم شدید (۴۶-۴۸)	کاهش چشمگیر خنثی‌سازی در افراد پس از دو دوز پس از دوز بوستر ۲۵ برابر تیتر آنتی‌بادی در برابر آن افزایش خواهد یافت (۴۵)
مدرنا (mRNA)	۹۱ درصد در برابر عفونت حدود ۹۴ درصد در برابر فرم شدید (۴۸)	۸۰ درصد در برابر عفونت حدود ۹۴ درصد در برابر فرم شدید (۴۷, ۴۸)	۸۰ درصد در برابر عفونت ۹۴ درصد در برابر فرم شدید (۴۸)	۷۲ درصد در برابر عفونت ۹۶/۱ درصد در برابر فرم شدید (۴۷, ۴۸) پس از دریافت دوز سوم ایمنی در برابر عفونت تا حدود ۹۰ درصد بالا می‌رود (۵۲)	۴۴ درصد ایمنی در برابر عفونت بعد از دو دوز پس از حدود ۱۴ روز از دریافت دوز دوم و ۷۲ درصد بعد از دریافت دوز سوم و پس از گذشت ۱۴ روز (۵۲)
آکسفورد- آسترازنکا (وکتور آدنوویروسی)	۸۰ درصد در برابر عفونت ۹۵ درصد در برابر فرم شدید (۴۶, ۴۸)	۷۰ درصد در برابر عفونت ۸۲ درصد در برابر بستری‌شدن (۴۸)	۸۰ درصد در برابر بستری ۸۵ درصد در برابر مرگ ۷۰ درصد در برابر عفونت علامت‌دار (۴۸, ۴۹)	۷۰ درصد در برابر عفونت ۹۵ درصد برابر فرم شدید (۴۶, ۴۸)	به میزبان کمتری نسبت به سایر خنثی می‌کند ولی تا حد زیادی خنثی کرده است (۴۵)
بهارات بیوتک (ویروس غیرفعال)	خاصیت خنثی‌سازی دارد	خاصیت خنثی‌سازی دارد	خاصیت خنثی‌سازی دارد	۶۵,۲ درصد در برابر عفونت علامت‌دار (۴۳)	تیتر آنتی‌بادی پس از دریافت دوز سوم تا حد چشمگیری بیشتر از دوز دوم بوده است (۵۳)
سینوفارم (ویروس غیرفعال)	داده موجود نیست	کاهش جزئی خنثی‌سازی کم تر از دوبرابر (۴۳)	داده موجود نیست	۶۲ درصد در برابر عفونت جزئی و ۹۵ درصد در برابر نوع شدید (۵۴)	اومکیرون می‌تواند از آنتی‌بادی‌های القایی فرار کند و اثر واکسن را کاهش دهد ولی همچنان تا حد زیادی مؤثر است (۵۵)
جانسون اند جانسون (وکتور ویروسی)	داده موجود نیست	۵۲ درصد در برابر عفونت ۹۱ درصد در برابر مرگ ۶۶ درصد در برابر فرم شدید (۴۸)	۵۲ درصد در برابر عفونت ۹۱ درصد در برابر مرگ ۶۶ درصد در برابر فرم شدید (۴۸)	برای عفونت علامت‌دار داده موجود نیست حدود ۷۱ درصد برای فرم شدید (۴۸)	۵۴ درصد بعد از دو دوز در برابر عفونت‌زایی، با این توضیح که واکسن تک دوزی است و دوز دوم بوستر است (۵۶)

جمع‌بندی

مطالعه حاضر با ارائه نکات مهم در زمینهٔ پروتئین اسپایک SARS-CoV-2، گامی در جهت درک بهتر و مبارزه با کووید-۱۹ و همچنین بیماری‌های نوظهور ویروسی در آینده است. بدون شک انجام آزمایشات جدید برای به دست آوردن بینش بهتر در مورد SARS-CoV-2 لازم است و این امر برای درک اثر واریانت‌های نوظهور و استراتژی‌های جدید برای مبارزه با این ویروس بسیار با اهمیت است. درواقع تغییرات انجام‌شده در ساختار SARS-CoV-2، به‌خصوص پروتئین اسپایک باید پیوسته، ارزیابی و با ویروس اولیه و اصلی (ووهان) مقایسه شود. همچنین باید تحقیقات بیشتری در زمینهٔ مکانیسم‌های ورود این ویروس به سلول‌های میزبان صورت بگیرد تا مشخص شود چه گیرنده‌ها و پروتئازهای جایگزین دیگری می‌توانند در مکانیسم ورود ویروس به سلول‌های میزبان نقش داشته باشند. بدون شک درگیری ریه با وجود اینکه آنها ازجمله بافت‌هایی‌اند که پایین‌ترین میزان بیان گیرنده ACE2 را بین بافت‌های دیگر دارند، شاهد بزرگی بر این ادعا است؛ امید است با پژوهش‌هایی که در آینده در این زمینه انجام می‌گیرند، به این سؤال اساسی پاسخ داده شود. همان‌طور که در این مطالعه به آن اشاره شد، بنا بر مطالعات داکینگ مولکولی انجام‌گرفته در این مقاله تفاوت زیادی در تمایل اتصال پروتئین اسپایک واریانت‌های نوظهور و مهم ویروس (اصلی، آلفا، دلتا و اومیکرون) با گیرنده ACE2 وجود ندارد؛ اما میزان تمایل اتصال به گیرنده جایگزین KREMEN1 رو به افزایش بوده و در واریانت دلتا به اوج خود رسیده است و سطح انرژی اتصال پروتئین اسپایک به گیرنده KREMEN1 به‌طور محسوسی به نسبت سایر گیرنده‌ها منفی بوده و این نشان‌دهندهٔ پایداری بیشتر و احتمال بیشتر ایجاد این اتصالات بوده است که این موارد در جدول ۲ مشاهده می‌شوند. همچنین با توجه به سطح انرژی‌های دریافتی از وب سرور HDOCK، می‌توان به این نتیجه رسید که اگرچه گیرنده ACE2 گیرنده اصلی پروتئین اسپایک نام گرفته است، همچنان گیرنده‌های دیگری با پایداری خوب می‌توانند به پروتئین اسپایک متصل شوند. براساس اطلاعات و دانش ما و بنا بر بررسی‌های صورت‌گرفته، تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر انجام فرایند داکینگ بین پروتئین اسپایک با سایر گیرنده‌های غیراصلی و جایگزین پروتئین اسپایک (AXL، ASGR1 و KREMEN1) انجام نگرفته است (تا آوریل ۲۰۲۲)؛ به همین دلیل باید برای تأیید یا رد این یافته پژوهش‌های گسترده‌تر و بیشتری انجام شود. یکی از چالش‌های مهم و اساسی، ارزیابی میزان اثرگذاری واکسن‌ها بر واریانت‌های نوظهور است که متأسفانه در این زمینه داده‌های متناقض فراوانی وجود دارند؛ البته تحقیقات گسترده دانشمندان در جهان در زمینهٔ میزان اثربخشی واقعی واکسن‌ها بر واریانت‌های نوظهور درحال توسعه است که در صورت نیاز به واکسن‌های جدید برای واریانت‌های جدید به کار خواهند رفت. واکسن‌های استفاده‌شده در جهان در مقابل واریانت‌های جدید و مهم کارایی لازم را دارند؛ اما تقریباً کارایی همگی آنها به مرور و با ظهور واریانت‌های جدید درحال کاهش است. یکی دیگر از نکات اساسی، شناخت دقیق نقاط مستعد جهش در پروتئین اسپایک ویروس SARS-CoV-2 است که با توجه به این نقاط مستعد جهش، با ارزیابی‌های بیوانفورماتیکی جهش‌های مهمی که ممکن است در آینده در پروتئین اسپایک رخ دهد را می‌توان پیش‌بینی کرد. درواقع دانشمندان علاوه بر ارزیابی و ردیابی مداوم تمامی واریانت‌های جدید از نمونه‌های گزارش‌شده در جهان، باید به دنبال پیش‌بینی انواع جهش‌های جدید و خطرناک بودن یا نبودن آنها بروند تا بتوان حتی قبل از ظهور جهش‌های جدید خود را برای مقابله با آنها آماده کرد و در صورت لزوم واکسن‌های جدیدی را در این زمینه طراحی و توسعه داد.

References

(1) Huang Y, Yang C, Xu XF, Xu W, Liu SW. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antivirus drug development for COVID-19. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2020; 41(9): 1141-9.

(2) Peng R, Wu LA, Wang Q, Qi J, Gao GF. Cell entry by SARS-CoV-2. *Trends in Biochemical Sciences*. 2021; 46(10): 848-60.

(3) Yoshimoto FK. A Biochemical Perspective of the Nonstructural Proteins (NSPs) and the Spike Protein of SARS CoV-2. *The protein journal*. 2021; 40(3): 260-95.

(4) Yang H, Rao Z. Structural biology of SARS-CoV-2 and implications for therapeutic development. *Nature Reviews Microbiology*. 2021; 19(11): 685-700.

(5) Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, Song ZG & et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020; 579(7798): 265-9.

(6) Schoch CL, Ciufo S, Domrachev M, Hotton CL, Kannan S, Khovanskaya R & et al. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*. 2020; 2020.

(7) Li Q, Wu J, Nie J, Zhang L, Hao H, Liu S & et al. The impact of mutations in SARS-CoV-2 spike on viral infectivity and antigenicity. *Cell*. 2020; 182(5): 1284-94.

(8) Bangaru S, Ozorowski G, Turner HL, Antanasijevic A, Huang D, Wang X & et al. Structural analysis of full-length SARS-CoV-2 spike protein from an advanced vaccine candidate. *Science*. 2020; 370(6520): 1089-94.

(9) Buonvino S, Melino S. New Consensus pattern in Spike CoV-2: potential implications in coagulation process and cell–cell fusion. *Cell death discovery*. 2020; 6(1): 1-5.

(10) Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*. 2020; 181(2): 281-92.

(11) Xu C, Wang Y, Liu C, Zhang C, Han W, Hong X & et al. Conformational dynamics of SARS-CoV-2 trimeric spike glycoprotein in complex with receptor ACE2 revealed by cryo-EM. *Science advances*. 2021; 7(1): eabe5575.

(12) Xia S, Wen Z, Wang L, Lan Q, Jiao F, Tai L & et al. Structure-based evidence for the enhanced transmissibility of the dominant SARS-CoV-2 B. 1.1. 7 variant (Alpha). *Cell discovery*. 2021; 7(1): 1-5.

(13) Jackson CB, Farzan M, Chen B, Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2022; 23(1): 3-20.

(14) Shang J, Wan Y, Liu C, Yount B, Gully K, Yang Y & et al. Structure of mouse coronavirus spike protein complexed with receptor reveals mechanism for viral entry. *PLoS pathogens*. 2020; 16(3): e1008392.

(15) Whittaker GR, Millet JK. Biochemical characterization of Middle East respiratory syndrome coronavirus spike protein proteolytic processing. InMERS Coronavirus 2020 (pp. 21-37). Humana, New York, NY.

(16) Groves DC, Rowland-Jones SL, Angyal A. The D614G mutations in the SARS-CoV-2 spike protein: Implications for viral infectivity, disease severity and vaccine design. *Biochemical and biophysical research communications*. 2021; 538: 104-7.

(17) Huang SW, Miller SO, Yen CH, Wang SF. Impact of genetic variability in ACE2 expression on the evolutionary dynamics of SARS-CoV-2 spike D614G mutation. *Genes*. 2020; 12(1): 16.

(18) Plante JA, Liu Y, Liu J, Xia H, Johnson BA, Lokugamage KG & et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Nature*. 2021; 592(7852): 116-21.

(19) Winger A, Caspari T. The spike of concern—the novel variants of SARS-CoV-2. *Viruses*. 2021; 13(6): 1002.

(20) Gobeil SM, Janowska K, McDowell S, Mansouri K, Parks R, Manne K & et al. D614G mutation alters SARS-CoV-2 spike conformation and enhances protease cleavage at the S1/S2 junction. *Cell reports*. 2021; 34(2): 108630.

(21) Zhang L, Jackson CB, Mou H, Ojha A, Peng H, Quinlan BD & et al. SARS-CoV-2 spike-protein D614G mutation increases virion spike density and infectivity. *Nature communications*. 2020; 11(1): 1-9.

(22) Volz E, Hill V, McCrone JT, Price A, Jorgensen D, O'Toole Á & et al. Evaluating the effects of SARS-CoV-2 spike mutation D614G on transmissibility and pathogenicity. *Cell*. 2021; 184(1): 64-75.

(23) Becerra-Flores M, Cardozo T. SARS-CoV-2 viral spike G614 mutation exhibits higher case fatality rate. *International journal of clinical practice*. 2020; 74(8): e13525.

(24) Hojjat Jodaylami M, Djaïleb A, Ricard P, Lavallée É, Cellier-Goetghebeur S, Parker MF & et al. Cross-reactivity of antibodies from non-hospitalized COVID-19 positive individuals against the native, B. 1.351, B. 1.617. 2, and P. 1 SARS-CoV-2 spike proteins. *Scientific reports*. 2021; 11(1): 1-1.

(25) Vaughan, A. Omicron emerges. *New Scientist*. 2021; 252(3363): 7.

(26) Akbulut E. Mutations in the SARS CoV-2 spike protein may cause functional changes in the protein quaternary structure. *Turkish Journal of Biochemistry*. 2021; 46(2): 137-44.

(27) Hou YJ, Okuda K, Edwards CE, Martinez DR, Asakura T, Dinnon III KH & et al. SARS-CoV-2 reverse genetics reveals a variable infection gradient in the respiratory tract. *Cell*. 2020; 182(2): 429-46.

(28) Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W & et al. Tracking changes in SARS-CoV-2 spike: evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus. *Cell*. 2020; 182(4): 812-27.

(29) Fiorentini S, Messali S, Zani A, Caccuri F, Giovanetti M, Ciccozzi M & et al. First detection of SARS-CoV-2 spike protein N501 mutation in Italy in August, 2020. The Lancet. *Infectious Diseases*. 2021; 21(6): e147.

(30) Deng X, Garcia-Knight MA, Khalid MM, Servellita V, Wang C, Morris MK & et al. Transmission, infectivity, and neutralization of a spike L452R SARS-CoV-2 variant. *Cell*. 2021; 184(13): 3426-37.

(31) Shen X, Tang H, Pajon R, Smith G, Glenn GM, Shi W & et al. Neutralization of SARS-CoV-2 variants B. 1.429 and B. 1.351. *New England Journal of Medicine*. 2021; 384(24): 2352-4.

(32) Starr TN, Greaney AJ, Dingens AS, Bloom JD. Complete map of SARS-CoV-2 RBD mutations that escape the monoclonal antibody LY-CoV555 and its cocktail with LY-CoV016. *Cell Reports Medicine*. 2021; 2(4): 100255.

(33) Zhou H, Dcosta BM, Samanovic MI, Mulligan MJ, Landau NR, Tada T. B. 1.526 SARS-CoV-2 variants identified in New York City are neutralized by vaccine-elicited and therapeutic monoclonal antibodies. *MBio*. 2021; 12(4): e01386-21.

(34) Edara VV, Pinsky BA, Suthar MS, Lai L, Davis-Gardner ME, Floyd K & et al. Infection and vaccine-induced neutralizing-antibody responses to the SARS-CoV-2 B. 1.617 variants. *New England Journal of Medicine*. 2021; 385(7): 664-6.

(35) Ferreira IA, Kemp SA, Datir R, Saito A, Meng B, Rakshit P & et al. SARS-CoV-2 B. 1.617 mutations L452R and E484Q are not synergistic for antibody evasion. *The Journal of infectious diseases*. 2021; 224(6): 989-94.

(36) Lubinski B, Frazier LE, Phan MV, Bugembe DL, Tang T, Daniel S & et al. Spike protein cleavage-activation mediated by the SARS-CoV-2 P681R mutation: a case-study from its first appearance in variant of interest (VOI) A. 23.1 identified in Uganda. *bioRxiv*. 2021.

(37) Tada T, Zhou H, Dcosta BM, Samanovic

MI, Mulligan MJ, Landau NR. SARS-CoV-2 lambda variant remains susceptible to neutralization by mRNA vaccine-elicited antibodies and convalescent serum. BioRxiv; 2021.

(38) Chen J, Wang R, Gilby NB, Wei GW. Omicron (B. 1.1. 529): Infectivity, vaccine breakthrough, and antibody resistance (preprint).

(39) Karim SS, Karim QA. Omicron SARS-CoV-2 variant: a new chapter in the COVID-19 pandemic. *The Lancet*. 2021; 398(10317): 2126-8.

(40) Woo HG, Shah M. Omicron: A heavily mutated SARS-CoV-2 variant exhibits stronger binding to ACE2 and potently escape approved COVID-19 therapeutic antibodies. *bioRxiv*. 2021.

(41) Verkhivker GM, Di Paola L. Integrated biophysical modeling of the SARS-CoV-2 spike protein binding and allosteric interactions with antibodies. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2021; 125(18): 4596-619.

(42) Veljkovic V, Perovic V, Paessler S. Prediction of the effectiveness of COVID-19 vaccine candidates. F1000Research. 2020; 9(365): 365.

(43) Harvey WT, Carabelli AM, Jackson B, Gupta RK, Thomson EC, Harrison EM & et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nature Reviews Microbiology*. 2021; 19(7): 409-24.

(44) Haque A, Pant AB. Efforts at COVID-19 vaccine development: challenges and successes. *Vaccines*. 2020; 8(4): 739.

(45) Roessler A, Riepler L, Bante D, von Laer D, Kimpel J. SARS-CoV-2 B. 1.1. 529 variant (Omicron) evades neutralization by sera from vaccinated and convalescent individuals. *medRxiv*. 2021.

(46) Bernal JL, Andrews N, Gower C, Gallagher E, Simmons R, Thelwall S & et al. Effectiveness of Covid-19 vaccines against the B. 1.617. 2 (Delta) variant. *New England Journal of Medicine*. 2021.

(47) Tang P, Hasan MR, Chemaitelly H, Yassine HM, Benslimane FM, Al Khatib HA & et al. BNT162b2 and mRNA-1273 COVID-19 vaccine effectiveness against the SARS-CoV-2 Delta variant in Qatar. *Nature medicine*. 2021; 27(12): 2136-43.

(48) Cevik M, Grubaugh ND, Iwasaki A, Openshaw P. COVID-19 vaccines: Keeping pace with SARS-CoV-2 variants. *Cell*. 2021; 184(20): 5077-81.

(49) Hitchings MD, Ranzani OT, Dorion M, D'Agostini TL, de Paula RC, de Paula OF & et al. Effectiveness of ChAdOx1 vaccine in older adults during SARS-CoV-2 Gamma variant circulation in São Paulo. *Nature communications*. 2021; 12(1): 1-8.

(50) Herrera NG, Morano NC, Celikgil A, Georgiev GI, Malonis RJ, Lee JH & et al. Characterization of the SARS-CoV-2 S protein: biophysical, biochemical, structural, and antigenic analysis. *ACS omega*. 2020; 6(1): 85-102.

(51) Perrella F, Coppola F, Petrone A, Platella C, Montesarchio D, Stringaro A & et al. Interference of Polydatin/Resveratrol in the ACE2: Spike recognition during COVID-19 infection. A focus on their potential mechanism of action through computational and biochemical assays. *Biomolecules*. 2021; 11(7): 1048.

(52) Tseng HF, Ackerson BK, Luo Y, Sy LS, Talarico C, Tian Y & et al. Effectiveness of mRNA-1273 against SARS-CoV-2 omicron and delta variants. *medRxiv*. 2022.

(53) Deshpande GR, Yadav PD, Abraham P, Nyayanit DA, Sapkal GN, Shete AM & et al. Booster dose of the inactivated COVID-19 vaccine BBV152 (Covaxin) enhances the neutralizing antibody response against alpha, Beta, Delta and omicron variants of concern. *Journal of Travel Medicine*. 2022.

(54) Safiya AlShamsi MD, Nada Al Marzouqi MD, Tayba Alawadi MD, Hussain Alrand MD. Similar effectiveness of the inactivated vaccine BBIBP-CorV (Sinopharm) and the mRNA vaccine BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) against COVID-19 related

hospitalizations during the Delta outbreak in the UAE. *Journal of Travel Medicine*. 2022; 1: 3.

(55) Zhou W, He P, Li J, Liu H, Shi M, Yu J & et al. Steep Decline in Binding Capability of SARS-CoV-2 Omicron Variant (B. 1.1. 529) RBD to the Antibodies in Early COVID-19 Convalescent Sera and Inactivated Vaccine Sera. *Viruses*. 2022; 14(2): 335.

(56) Natarajan K, Prasad N, Dascomb K, Irving SA, Yang DH, Gaglani M & et al. Effectiveness of Homologous and Heterologous COVID-19 Booster Doses Following 1 Ad. 26. COV2. S (Janssen [Johnson & Johnson]) Vaccine Dose Against COVID-19–Associated Emergency Department and Urgent Care Encounters and Hospitalizations Among Adults—VISION Network, 10 States, December 2021–March 2022. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2022; 71(13): 495.

[1]- Coronavirus disease 2019
[2]- COVID-19
[3]- Angiotensin-converting enzyme 2 (encoded by ACE2 gene)
[4]- Tyrosine-protein kinase receptor UFO (encoded by the AXL gene)
[5]- Kringle-containing protein marking the eye and nose protein1(Kremen protein 1 in humans is encoded by the KREMEN1 gene)
[6]- Asialogylcoprotein receptor 1 (encoded by the ASGR1 gene)
[7]- Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)
[8]- SARS
[9]- MERS
[10]- Middle East respiratory syndrome
[11]- Protein Data Bank (PDB)
[12]- Preprocessing
[13]- Molecular docking
[14]- Global Docking
[15]- http://hdock.phys.hust.edu.cn/
[16]- Postprocessing
[17]- Root-mean-square deviation (RMSD)
[18]- https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/pdbsum/GetPage.pl?pdbcode=index.html
[19]- Receptor-binding domain (RBD)
[20]- Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data (GISAID)
[21]- Signal sequence
[22]- N-terminal domain
[23]- Fusion peptide
[24]- heptad-repeat region 1
[25]- heptad-repeat region 2
[26]- Transmembrane
[27]- Prefusion
[28]- Transmembrane serine protease 2
[29]- Serin endoprotease proprotein convertase1
[30]- Trypsin
[31]- Trypsin-like integral membrane serine peptidase
[32]- Cathepsin
[33]- Proofreading
[34]- nonstructural protein (nsp)
[35]- Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data (GISAID)
[36]- Variants of Concern (VOC)
[37]- Variant of Interest (VOI)
[38]- Informational spectrum method (ISM)