https://doi.org/10.17116/molgen20234104115

Мониторинг распространения геновариантов SARS-CoV-2 в Свердловской, Челябинской областях и Пермском крае

© А.Е. ЧЕРНЫШЕВА[1], И.А. КОРОТКОВА[1], Е.В. БОЛГАРОВА[1], А.Ю. МАРКАРЯН[1], А.В. СЕМЕНОВ[1, 2]

[1]ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Вирион» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Екатеринбург, Россия;
[2]ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

РЕЗЮМЕ

Исследование геномного разнообразия SARS-CoV-2 проведено во время снятия коронавирусных ограничений и открытия государственных границ России с другими странами.

Цель исследования. Выявление геновариантов SARS-CoV-2 на территориях Свердловской, Челябинской областей и Пермского края.

Материал и методы. Методом секвенирования по Сэнгеру исследовано 1127 носоглоточных мазков больных новой коронавирусной инфекцией, находящихся на лечении в Свердловской, Челябинской областях и Пермском крае.

Результаты. В работе продемонстрирована динамика появления штаммов нового короновируса и нескольких мутаций за период с мая по декабрь 2022 г., проведена описательная статистика. В период проведения исследования наблюдалось превалирование варианта Omicron (~97%), содержашего по сравнению с вариантами Delta и Alpha большее количество мутаций, приводящих к замене аминокислот. Субвариант Omicron BA.2 преобладал в период исследования с мая по сентябрь, затем с октября по декабрь 2022 г., субварианты BA.4/BA.5 вытеснили BA.2.

Заключение. Анализ молекулярного состава вариантов SARS-CoV-2 показал присутствие нетипичных мутаций в некоторых образцах (E484K,G485R, R408I), а также увеличение в числе мутаций у вариантов, в особенности в рецепторсвязывающем домене RBD. По данным литературы, аминокислотные замены приводят к изменению конформации S-белка, что, в свою очередь, повышает аффинность связывания RBD с ACE2 и влияет на более легкое течение заболевания и высокую контагиозность по сравнению с ранними вариантами SARS-CoV-2.

Ключевые слова: *SARS-CoV-2, мониторинг, секвенирование.*

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:
Чернышева А.Е. — https://orcid.org/0000-0001-6137-5437; e-mail: chernysheva_ae@niivirom.ru
Короткова И.А. — https://orcid.org/0000-0002-5074-7925; e-mail: korotkova_ia@niivirom.ru
Болгарова Е.В. — https://orcid.org/0000-0001-6140-2546; e-mail: bolgarova_ev@niivirom.ru
Маркарян А.Ю. — https://orcid.org/0000-0002-7286-6079; e-mail: markaryan_ay@niivirom.ru
Семенов А.В. — https://orcid.org/0000-0003-3223-8219; e-mail: semenov_av@niivirom.ru
Автор, ответственный за переписку: Чернышева А.Е. — e-mail: chernysheva_ae@niivirom.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:
Чернышева А.Е., Короткова И.А., Болгарова Е.В., Маркарян А.Ю., Семенов А.В. Мониторинг распространения геновариантов SARS-CoV-2 в Свердловской, Челябинской областях и Пермском крае. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2023;41(4):15–20. https://doi.org/10.17116/molgen20234104115

Monitoring spread of SARS-CoV-2 gene variants in Sverdlovsk and Chelyabinsk regions and Perm krai

© A.E. CHERNYSHEVA[1], I.A. KOROTKOVA[1], E.V. BOLGAROVA[1], A.Yu. MARKARYAN[1], A.V. SEMENOV[1, 2]

[1]Federal Research Institute of Viral Infections “Virome”, Yekaterinburg, Russia;
[2]Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

ABSTRACT

The genomic diversity study of SARS-CoV-2 was conducted in the context of lifting the coronavirus restrictions and reopening Russia’s national borders.

Objective. Identification of SARS-CoV-2 genovariants in Sverdlovsk and Chelyabinsk regions and Perm krai.

Material and methods. A total of 1,127 nasopharyngeal smears from patients with a new coronavirus infection treated in Sverdlovsk and Chelyabinsk regions and Perm krai were studied by Sanger sequencing.

Results. The paper demonstrates the dynamics of new coronavirus strains and its several mutations for the period from May to December 2022, using descriptive statistics. The study period was notable for Omicron predominance (~97%) with a greater number of amino acid mutations compared with that for Delta and Alpha variants. Omicron BA.2 subvariant prevailed during the study period from May to September and from October to December 2022, then BA.2 was displaced by BA.4/BA.5 subvariants.

Conclusion. Molecular similarity analysis for assessment of SARS-CoV-2 showed the presence of atypical mutations at positions E484K, G485R, R408I in some samples, as well as an increase in the number of mutations between variants, especially in the receptor-binding domain RBD. According to the literature amino acid substitutions led to an S protein conformational alteration

which in turn increased the affinity of RBD binding to ACE2 and resulted in a milder disease and higher contagiousness compared with earlier SARS-CoV-2 variants.

Keywords: *SARS-CoV-2, monitoring, sequencing.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Chernysheva A.E. — https://orcid.org/0000-0001-6137-5437; e-mail: chernysheva_ae@niivirom.ru
Korotkova I.A. — https://orcid.org/0000-0002-5074-7925; e-mail: korotkova_ia@niivirom.ru
Bolgarova E.V. — https://orcid.org/0000-0001-6140-2546; e-mail: bolgarova_ev@niivirom.ru
Markaryan A.Yu. — https://orcid.org/0000-0002-7286-6079; e-mail: markaryan_ay@niivirom.ru
Semenov A.V. — https://orcid.org/0000-0003-3223-8219; e-mail: semenov_av@niivirom.ru
Corresponding author: Chernysheva A.E. — e-mail: chernysheva_ae@eniivi.ru

TO CITE THIS ARTICLE:
Chernysheva AE, Korotkova IA, Bolgarova EV, Markaryan AYu, Semenov AV. Monitoring spread of SARS-CoV-2 gene variants in Sverdlovsk and Chelyabinsk regions and Perm krai. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya (Molecular Genetics, Microbiology and Virology)*. 2023;41(4):15–20. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/molgen20234104115

Введение

Пандемия COVID-19, вызванная коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2-го типа (SARS-CoV-2), с 2019 г. изменила мир, в котором мы живем. Общий уровень смертности, по данным ВОЗ, на 10.04.23 составил 6 893 190 человек (https://covid19.who.int).

РНК-вирусы имеют более высокую частоту мутаций по сравнению с ДНК-вирусами В связи с постоянной циркуляцией вирусов новые варианты появляются из-за селективного давления и продолжающейся репликации вируса в человеческой популяции [1]. Известно, что SARS-CoV-2 эволюционирует со скоростью ~$1{,}1 \cdot 10^{-3}$ замен на сайт в год [2]. Адаптивные мутации в вирусном геноме могут влиять на патогенность вируса (например, замена всего одной аминокислоты может способствовать уклонению от иммунной системы хозяина) [3]. В настоящее время во всем мире циркулируют многочисленные варианты, которые в конце 2020 г. ВОЗ предложила классифицировать следующим образом: варианты, вызывающие озабоченность (VOC), варианты, представляющие интерес (VOI), и варианты, находящиеся под наблюдением (VUM) [4—5].

Оригинальный штамм SARS-CoV-2 с течением времени эволюционировал, с тех пор было описано пять новых вызывающих озабоченность вариантов (VOC), включая Alpha (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gamma (P.1), Delta (B.1.617.2), и 26 ноября 2021 г. ВОЗ включила в эту классификацию Omicron (B.1.1.529) [6—7].

В июле 2022 г. в Российской Федерации были отменены ограничительные мероприятия, связанные с пандемией COVID-19, открыты наземные границы России с другими государствами. Уральский Федеральный округ (УрФО) и соседний Приволжский Федеральный округ (ПФО) являются одними из наиболее развитых индустриальных субъектов Российской Федерации, имеют большую плотность населения, высокую внешнюю и внутреннюю миграционную активность, что может способствовать активному распространению коронавирусной инфекции, появлению новых вариантов вируса SARS-CoV-2 благодаря его высокой мутационной изменчивости.

На сегодняшний день секвенирование остается одним из основных методов и играет важную роль в исследовании функций вируса, в разработке новых реагентов, методологий для прогнозирования или мониторинга масштабов заражения, для создания новых, более совершенных вакцин.

Материал и методы

Сбор образцов и данных

Образцы из носоглотки/ротоглотки были собраны в период с мая 2022 г. по декабрь 2022 г., подтверждены положительными результатами ПЦР РНК SARS-CoV-2 (значения Ct 6—28,3). Собранные пробы транспортированы в термоконтейнерах с охлаждающими элементами, после чего сразу же использованы для экстракции вирусных нуклеиновых кислот.

Выделение РНК и ОТ-ПЦР

Вирусную РНК экстрагировали из 1127 образцов набором «Рибо-Преп» («АмплиСенс», Россия) согласно инструкции производителя. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием комплекта «Реверта-L» («АмплиСенс», Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

ПЦР

Праймеры к гену S были подобраны в соответствии с рекомендациями информационного бюллетеня для организаций Роспотребнадзора, осуществляющих секвенирование последовательностей геномов SARS-CoV-2 (приложение №9 к Приказу Роспотребнадзора от 19.02.21 №56 (в редакции Приказа Роспотребнадзора от 08.07.21 №377), они представлены в **табл. 1**.

Таблица 1. **Последовательности праймеров, используемые в исследовании**

Протокол Университета Женевы		
Название	Последовательность 5'—3'	Длина праймера
R47	CATATGAGTTGTTGACATGTTCAG	24
F47	TATCAGGCCGGTAGCACAC	19
CACV_51_R	GAGGGAGATCACGCACTAAA	20
CACV_55_F	ATGGAACCATTACAGATGCTGTAG	24
	Протокол ARTIC V4.1.	
SARS-CoV-2_72_LEFT 2	GTGATGTTCTTGTTAACAACTAAACGAAC	29
SARS-CoV-2_73_RIGHT 1	ACCTAGTGATGTTAATACCTATTGGCA	27
SARS-CoV-2_76_LEFT 2	GCTGATTATTCTGTCCTATATAATTCCGC	29
SARS-CoV-2_77_RIGHT	CACTGACACCACCAAAAGAACATG	24

ПЦР проводили в объеме 25 мкл. Реакционная смесь содержала 5 мкл готовой смеси 5X ScreenMix («Евроген», Россия), 30 нг кДНК, концентрацию определяли на спектрофотометре NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, США) по соотношению поглощения на длинах волн 260 нм и 280 нм, прямого и обратного праймера по 0,2 мкМ («ДНК-Синтез», Россия).

Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 1,5% агарозном геле в присутствии бромистого этидия и визуализировали с помощью УФ-излучения. Фрагменты ДНК вырезали из агарозного геля и очищали набором реактивов Cleanup Standard («Евроген», Россия).

Секвенирование

Для дифференциации геновариантов и выявления мутаций осуществляли секвенирование фрагментов гена S по методу Сэнгера. Реакцию секвенирования проводили набором BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems, США), праймеры, использованные в работе, представлены в **табл. 1**, очистку продуктов реакции проводили методом осаждения Ethanol/EDTA (Amresco, США) в соответствии с протоколом набора BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems, США). Очищенные ампликоны в объеме 10 мкл секвенировали на приборе Applied Biosystems 3500 series genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, США).

Биоинформационный анализ

Сборку и анализ данных фрагментного секвенирования осуществляли в программе UGENE и выравнивали относительно эталонной последовательности SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 (NC_045512.2). Fasta-файл загружали в базу данных VGARus.

Перед множественным выравниванием геномные последовательности отфильтрованы по качеству в Python (версия 3.10.2) и выравнены на эталонную последовательность SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 (NC_045512.2) в программе MEGA X.

Филогенетические деревья построены с помощью веб-инструмента Nextclade v. 213.0 относительно последовательности Wuhan-Hu-1 (NC_045512.2) [12].

Описательную статистику производили с применением языка программирования Python с использованием библиотек: pandas, matplotlib.

Результаты

Описание когорты больных COVID-19

Эпидемическая ситуация в части COVID-19 в мире на 2022 г. оставалось непростой: по данным ВОЗ, на начало мая было зарегистрировано 514 млн подтвержденных случаев COVID-19 и более 6 млн смертей [13]. К концу года (по состоянию на декабрь 2022 г.) во всем мире было зарегистрировано более 649 млн подтвержденных случаев COVID-19 и более 6,6 млн смертей [14].

Среди больных (n=903) в трех выбранных для исследования субъектах РФ большинство составляли женщины — 552 (61,00%), мужчин — 351 (39,00%) (p<0,05). Данные о занятости были доступны только для 324 человек, при этом значительную часть выборки составили пенсионеры — 174 (53,70%), работающих — 125 (38,58%), учащихся — 22 (6,79%), неработающих — 3 (0,93%).

Доля вакцинированных против COVID-19 больных составила n=285 (31,56%), из них женщин — 193 (67,72%), мужчин — 92 (32,28%) (p<0,05). Средний возраст заболевших привитых женщин — 58 лет, мужчин — 56 лет. Число лиц, не вакцинированных против новой коронавирусной инфекции, составило 618 (68,44%), из них женщин — 359 (58,09%), мужчин — 259 (41,75%), при этом средний возраст непривитых женщин — 52 года, мужчин — 42 года.

Анализ данных о клинической картине заболевания показал, что респираторные симптомы наблюдались в 80,06% случаев, или у 723 пациентов из 903 больных новой коронавирусной инфекцией, бессимптомное течение заболевания отмечено у 7 (0,78%) больных, у 136 (15,06%) больных клиническая форма заболевания была неизвестна, а у 13 (4,10%) пациентов выявлена внебольничная пневмония.

Таблица 2. **Краткое описание вариантов SARS-CoV-2**

Наименование			Классификация ВОЗ	Место обнаружения	Дата	Летальность	Трансмиссивность	Специфические мутации в RBD	Влияние вариантов на эффективность вакцины
ВОЗ	PANGOLIN	Nextstrain							
Alpha	B.1.1.7	20I	VOC	Великобритания	Сентябрь 2020	↑	↑	E484K, S494P, N501Y	Без снижения для Спутника V, Covaxin, BBIBP-CorV; снижение в 1,5—4,1 раза для CoronaVac; отсутствует / минимальное снижение (в 0—3,3 раза) для BNT162b2 [15]
Omicron	BA.1	21K	VOC	Южная Африка	Ноябрь 2021	↓	↑	S371L, G446S, Q393R, G496S	Снижение нейтрализации антител [16—18]
	BA.2	21L	VOC		Декабрь 2021	↓	↑	S371F, T376A, D405N, R408S	
	BA.4/BA.5	22/22B	VOC		Январь 2022 / Февраль 2022	↓	↑	L452R, F486V, R493Q	
	BA.2.75	22D	VOC	Индия	Май 2022	↓	↑	339H, G446S и N460K, R493Q	Снижение нейтрализации антител [19]

Генетические варианты SARS-CoV-2, циркулирующие в Свердловской и Челябинской областях, Пермском крае

Для анализа было взято 903 сиквенса, полученных в период с мая по декабрь 2022 г. На основе полученных данных с использованием библиотеки matplotlib были построены графики распределения частот геновариантa SARS-COV-2 для каждого субъекта РФ (Свердловской и Челябинской областей, Пермского края) во времени. Анализ графиков **(рис. 1, см. https://mediasphera.ru/upload/medialibrary/files/Mol_genetika_2023_04_018_add.zip)** показал, что в период с мая по сентябрь 2022 г. во всех трех субъектах РФ преобладала линия варианта Omicron BA.2 (клада 21L по номенклатуре Nextstrain), с октября по декабрь 2022 г. — варианты Omicron BA.4/BA.5 (клада 22A/22B по номенклатуре Nextstrain) постепенно вытесняли Omicron BA.2.

Филогенетический анализ Nextclade объединил всемирную базу данных с нашими данными для каждого субъекта. Были идентифицированы пять различных филогенетических клад: 20I, 21L, 21K, 22B, 22D, краткое описание вариантов представлено в **табл. 2**.

Клада 20I наблюдалась только в Челябинской области и была относительно ранней с точки зрения времени дивергенции в сравнении с остальными **(рис. 2, 3, см. https://mediasphera.ru/upload/medialibrary/files/Mol_genetika_2023_04_018_add.zip)**. Клада 21K встречалась только в Пермском крае **(рис. 4, см. https://mediasphera.ru/upload/medialibrary/files/Mol_genetika_2023_04_018_add.zip)**. Наконец, клады 21L, 22B продемонстрировали наибольшее географическое разнообразие интродукции и наблюдались во всех трех субъектах РФ **(см. рис. 2—4)**. В исследуемый период из ранних вариантов был идентифицирован только Alpha (20I), он составлял всего ~3%, остальная доля приходилась на Omicron (~97%).

Обсуждение

Мутационный ландшафт варианта Omicron SARS-CoV-2

Учитывая тот факт, что любые мутации могут повлиять на взаимодействие вирусного RBD с рецептором хозяина, информация о мутациях играет ключевую роль при разработке новых терапевтических средств. Избирательность и сродство спайка к его основному рецептору, ACE2, остаются решающими факторами, определяющими контагиозность и вирулентность SARS-CoV-2. Стоит отметить, что контагиозность зависит не только от способности вируса связываться с рецептором, но и от способности накапливаться в эпителии верхних дыхательных путей, где происходит его первичная репродукция.

Выравнивание последовательностей с использованием алгоритма ClustalW в программе MEGA X показало, что наибольший интерес представляют результаты мутаций в RBD-области, поскольку они расположены близко или рядом с межфазной областью RBD S-белка, который тесно участвует в прикреплении вириона к рецептору ACE2. В основном распространенными мутациями в RBD-области были:

G339D, S371F, S373P, S375F, T376A, D405N, R408S, R408I, K417N, N440K, L452R, S477N, T478K, E484A, E484Q, G485R, F486V,R493Q, Q498R, N501Y, Y505H **(рис. 5, см. https://mediasphera.ru/upload/medialibrary/files/Mol_genetika_2023_04_019_add.zip)**.

Линия BA.2

В 8 секвенированных последовательностях была обнаружена мутация в 484-м сайте, где произошла замена остатков глицина глутамином. Глутамин в своей структуре содержит карбоксамид (-$CONH_2$), который может взаимодействовать с остатками ACE2 через карбонильные и аминогруппы, способные образовывать водородные связи и pi-pi-взаимодействия, мутация E484Q может приводить к образованию более стабильного комплекса ACE2-RBD по сравнению с мутацией E484K [9]. Мутация G485R, где нейтральный остаток аминокислоты глицина заменился положительно заряженным остатком аргинина, наблюдалась у нескольких изолятов вируса. Ранее было показано, что мутация G485R вызвала снижение вируснейтрализующей активности антител [8]. При проведении анализа мутаций в полученных нами последовательностях мы обнаружили, что вариант (R408I) в домене, связывающем рецептор (RBD), мутировал с положительно заряженного остатка аргинина на нейтральный и меньшего размера остаток изолейцина.

Линия BA.5

Линии BA.4/5 по сравнению с линией BA.2 содержали дополнительные мутации в RBD-области: замена лейцина аргинином в 452-й сайте увеличивает сродство вариантов BA.4/5 за счет электростатической комплементарности [11]. Мутация F486V приводит к потере взаимодействия с гидрофобным карманом в hACE2, нарушается спайковое сродство к вирусному рецептору, в то время как мутация реверсии R493Q улучшила сродство рецепторов, так как данная мутация восстанавливает водородную связь с H34 и избегает отталкивания заряда K31, по-видимому имея противоположный эффект F486V [10].

Заключение

Фрагментное секвенирование по методу Сэнгера позволило оценить динамику геновариантов SARS-CoV-2, циркулирующих на территориях Свердловской, Челябинской областей и Пермского края, и выявить превалирование варианта Omicron в исследуемых регионах в период с мая по декабрь 2022 г., что соответствует данным по РФ. Доля субварианта Omicron BA.2 преобладала в период исследования с мая по сентябрь 2022 г.. Стремительное распространение субвариантов BA.4/BA.5 наблюдалось в период с октября по декабрь 2022 г. Анализ молекулярного сходства последовательностей SARS-CoV-2 показал присутствие нетипичных мутаций в некоторых образцах, а также увеличение числа мутаций между вариантами, в особенности в RBD-области. Аминокислотные замены привели к изменению конформации S-белка, что, в свою очередь, повысило аффинность связывания RBD с ACE2 и повлияло на более легкое течение заболевания и повышенную контагиозность по сравнению с более ранними вариантами SARS-CoV-2.

Финансирование. Работа выполнена по целевой субсидии в рамках федерального проекта «Санитарный щит — безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)», а также в рамках выполнения научно-исследовательской работы «Интегрированный подход к изучению эпидемиологических и молекулярно-генетических особенностей гриппа и ОРВИ при тяжелых клинических формах в период массовой вакцинопрофилактики» (рег. №121041500044-2).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Plante JA, Mitchell BM, Plante KS, Debbink K, Weaver SC, Menachery VD. The variant gambit: COVID-19's next move. *Cell Host Microbe.* 2021;29(4):508-515. https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.02.020
2. Fernandes Q, Inchakalody VP, Merhi M, Mestiri S, Taib N, Moustafa Abo El-Ella D, et al. Emerging COVID-19 variants and their impact on SARS-CoV-2 diagnosis, therapeutics and vaccines. *Ann Med.* 2022;54(1):524-540. https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2031274
3. Aleem A, Akbar Samad AB, Slenker AK. *Emerging Variants of SARS-CoV-2 And Novel Therapeutics Against Coronavirus (COVID-19). 2022 Oct 10.* In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. PMID: 34033342.
4. Liu H, Wei P, Kappler JW, Marrack P, Zhang G. SARS-CoV-2 Variants of Concern and Variants of Interest Receptor Binding Domain Mutations and Virus Infectivity. *Front Immunol.* 2022;13:825256. PMID: 35154144; PMCID: PMC8828474. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.825256
5. Choi JY, Smith DM. SARS-CoV-2 Variants of Concern. *Yonsei Med J.* 2021;62(11):961-968. PMID: 34672129; PMCID: PMC8542474. https://doi.org/10.3349/ymj.2021.62.11.961
6. Tiecco G, Storti S, Degli Antoni M, Focà E, Castelli F, Quiros-Roldan E. Omicron Genetic and Clinical Peculiarities That May Overturn SARS-CoV-2 Pandemic: A Literature Review. *Int J Mol Sci.* 2022;23(4):1987. PMID: 35216104; PMCID: PMC8876558. https://doi.org/10.3390/ijms23041987
7. Le TTB, Vasanthakumaran T, Thi Hien HN, Hung IC, Luu MN, Khan ZA, et al. SARS-CoV-2 Omicron and its current known unknowns: A narrative review. *Rev Med Virol.* 2023;33(1):e2398. Epub 2022 Sept 23. PMID: 36150052; PMCID: PMC9538895. https://doi.org/10.1002/rmv.2398
8. Greaney AJ, Loes AN, Crawford KHD, Starr TN, Malone KD, Chu HY, Bloom JD. Comprehensive mapping of mutations in the SARS-CoV-2 receptor-binding domain that affect recognition by polyclonal human plasma

antibodies. *Cell Host Microbe.* 2021;29(3):463-476.e6. Epub 2021 Feb 08. PMID: 33592168; PMCID: PMC7869748.
https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.02.003

9. Ridgway H, Ntallis C, Chasapis CT, Kelaidonis K, Matsoukas MT, Plotas P, et al. Molecular Epidemiology of SARS-CoV-2: The Dominant Role of Arginine in Mutations and Infectivity. *Viruses.* 2023;15(2):309. PMID: 36851526; PMCID: PMC9963001.
https://doi.org/10.3390/v15020309

10. Wang Q, Guo Y, Iketani S, Nair MS, Li Z, Mohri H, et al. Antibody evasion by SARS-CoV-2 Omicron subvariants BA.2.12.1, BA.4 and BA.5. *Nature.* 2022;608(7923):603-608. Epub 2022 July 05. PMID: 35790190; PMCID: PMC9385487.
https://doi.org/10.1038/s41586-022-05053-w

11. Cox M, Peacock TP, Harvey WT, Hughes J, Wright DW; COVID-19 Genomics UK (COG-UK) Consortium; Willett BJ, Thomson E, Gupta RK, Peacock SJ, Robertson DL, Carabelli AM. SARS-CoV-2 variant evasion of monoclonal antibodies based on in vitro studies. *Nat Rev Microbiol.* 2023;21(2):112-124. Epub 2022 Oct 28. PMID: 36307535; PMCID: PMC9616429.
https://doi.org/10.1038/s41579-022-00809-7

12. Aksamentov I, Roemer C, Hodcroft EB, Neher RA. Nextclade: clade assignment, mutation calling and quality control for viral genomes. *Journal of Open Source Software.* 2021;6(67):3773.
https://doi.org/10.21105/joss.03773

13. World Health Organization. *COVID-19 weekly epidemiological update, edition 96, June 15, 2022.* 2022.

14. World Health Organization. *COVID-19 weekly epidemiological update, edition 121, December 07, 2022.* 2022.

15. Fiolet T, Kherabi Y, MacDonald CJ, Ghosn J, Peiffer-Smadja N. Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern: A narrative review. *Clin Microbiol Infect.* 2022;28(2):202-221. Epub 2021 Oct 27. PMID: 34715347; PMCID: PMC8548286.
https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.10.005

16. Kumar V, Singh J, Hasnain SE, Sundar D. Possible Link between Higher Transmissibility of Alpha, Kappa and Delta Variants of SARS-CoV-2 and Increased Structural Stability of Its Spike Protein and hACE2 Affinity. *Int J Mol Sci.* 2021;22(17):9131. PMID: 34502041; PMCID: PMC8431609.
https://doi.org/10.3390/ijms22179131

17. Khan K, Karim F, Ganga Y, Bernstein M, Jule Z, Reedoy K, Cele S, Lustig G, Amoako D, Wolter N, Samsunder N, Sivro A, San JE, Giandhari J, Tegally H, Pillay S, Naidoo Y, Mazibuko M, Miya Y, Ngcobo N, Manickchund N, Magula N, Karim QA, von Gottberg A, Abdool Karim SS, Hanekom W, Gosnell BI; COMMIT-KZN Team; Lessells RJ, de Oliveira T, Moosa MS, Sigal A. . Omicron BA.4/BA.5 escape neutralizing immunity elicited by BA.1 infection. *Nat Commun.* 2022;13(1):4686. Erratum in: *Nat Commun.* 2022;13(1):6057. PMID: 35948557; PMCID: PMC9364294.
https://doi.org/10.1038/s41467-022-32396-9

18. Ai J, Wang X, He X, Zhao X, Zhang Y, Jiang Y, Li M, Cui Y, Chen Y, Qiao R, Li L, Yang L, Li Y, Hu Z, Zhang W, Wang P. Antibody evasion of SARS-CoV-2 Omicron BA.1, BA.1.1, BA.2, and BA.3 sub-lineages. *Cell Host Microbe.* 2022;30(8):1077-1083.e4. Epub 2022 May 08. PMID: 35594867; PMCID: PMC9080084.
https://doi.org/10.1016/j.chom.2022.05.001

19. Shaheen N, Mohamed A, Attalla A, Diab RA, Swed S, Nashwan AJ, Rababah AA, Hefnawy MT, Soliman Y, Abdelwahab OA, Desouki MT, Khaity A, Shaheen A, Ramadan A, Meshref M. Could the New BA.2.75 Sub-Variant Cause the Emergence of a Global Epidemic of COVID-19? A Scoping Review. *Infect Drug Resist.* 2022;15:6317-6330. PMID: 36345537; PMCID: PMC9635999.
https://doi.org/10.2147/IDR.S387551

Поступила 01.06.2023
Received 01.06.2023
Принята к печати 17.08.2023
Accepted 17.08.2023

Приложение к статье *А.Е. Чернышевой и соавт.* «Мониторинг распространения геновариантов SARS-CoV-2 в Свердловской, Челябинской областях и Пермском крае»

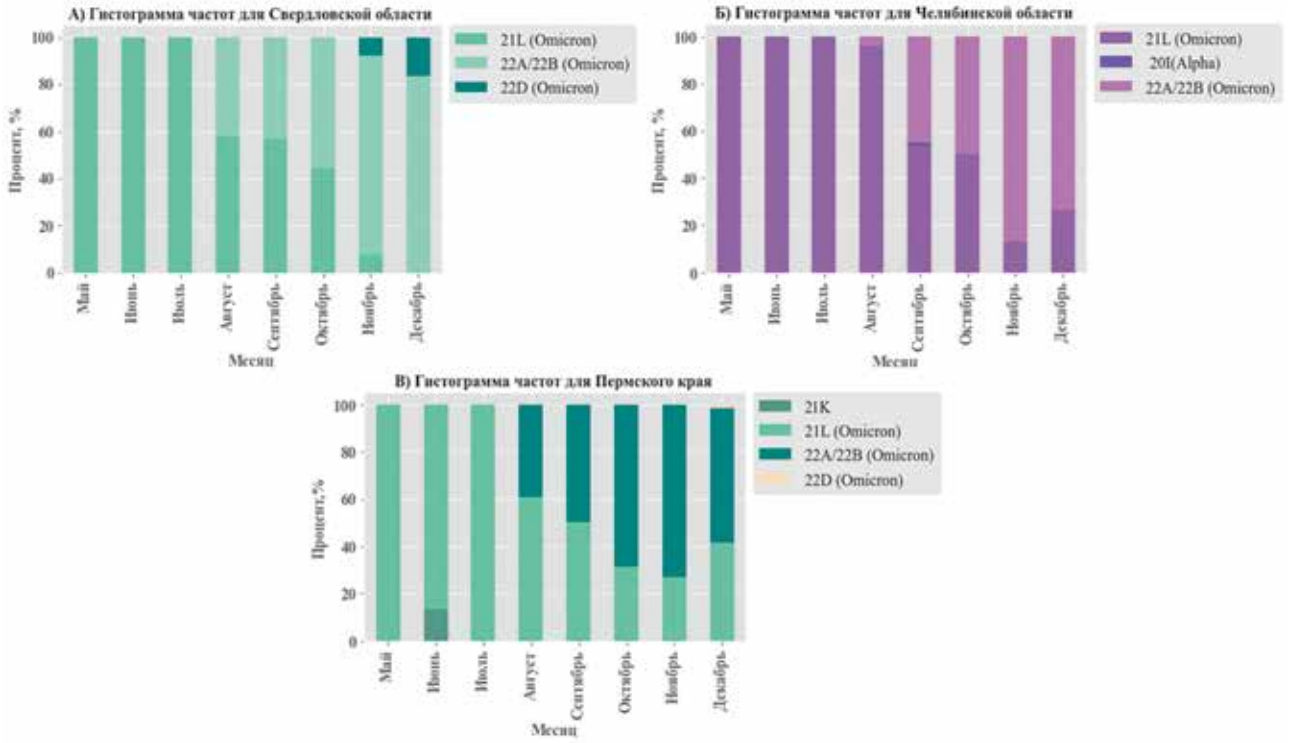


Рис. 1. **Гистограммы частот геновариантов для Свердловской, Челябинской областей и Пермского края с мая 2022 г. по декабрь 2022 г. по данным национальной базы VGARus.**

а — гистограмма частот для Свердловской области; б — гистограмма частот для Челябинской области; в — гистограмма частот для Пермского края.

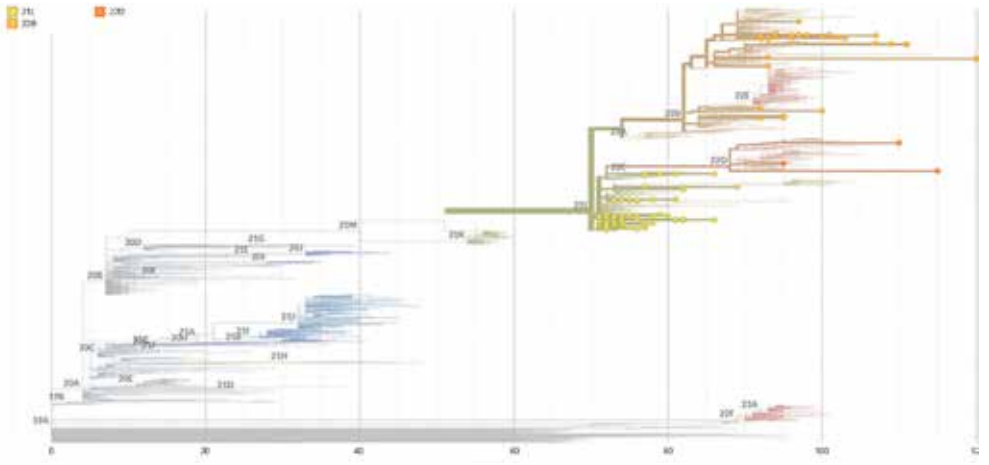


Рис. 2. **Филогенетическое дерево Nextclade образцов из когорты Свердловской области, наложенное на глобальный набор образцов.**

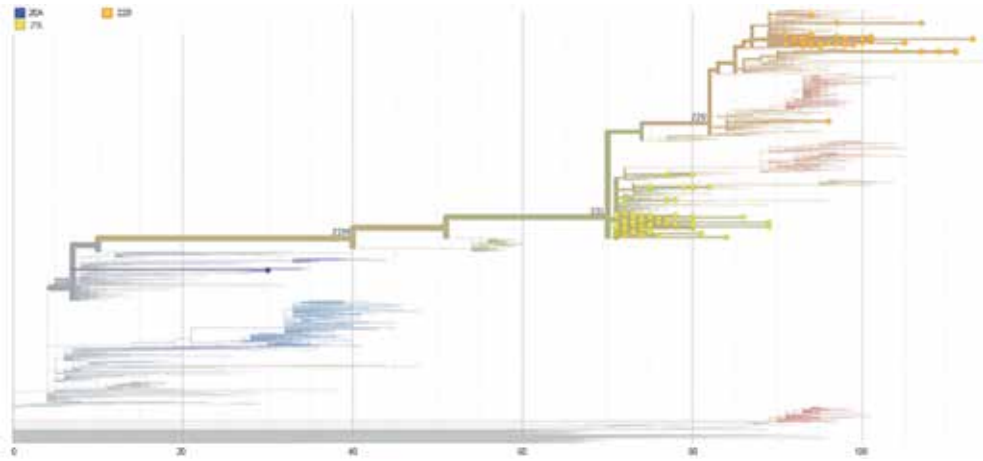


Рис. 3. **Филогенетическое дерево Nextclade образцов из когорты Челябинской области, наложенное на глобальный набор образцов.**

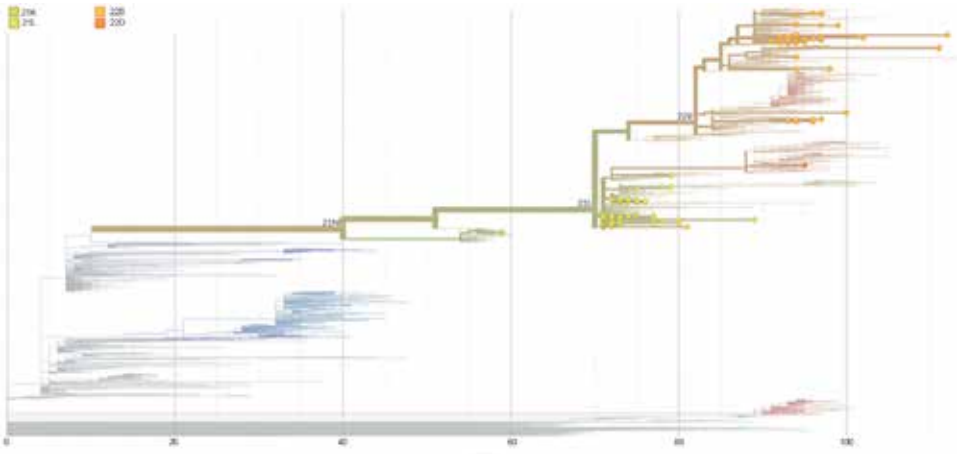


Рис. 4. **Филогенетическое дерево Nextclade образцов из когорты Пермского края, наложенное на глобальный набор образцов.**

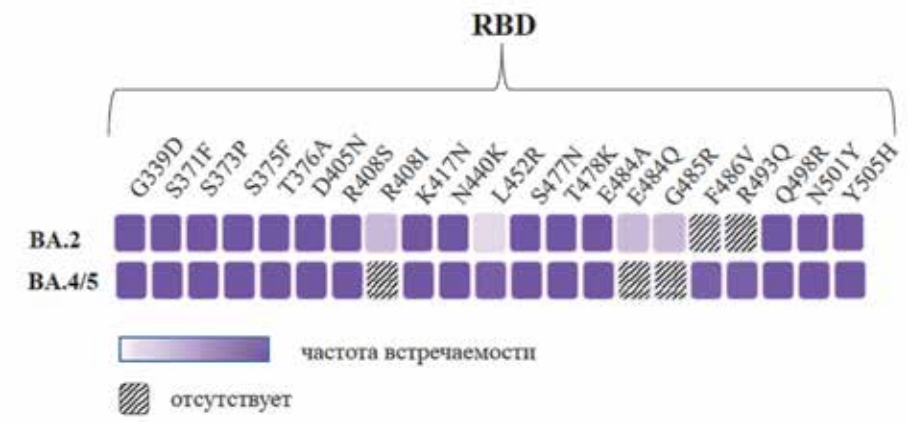


Рис. 5. **Наиболее распространенные мутации SARS-CoV-2 в RBD-области.**