

SARS-COV-2 В ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ: ФРАГМЕНТАРНОЕ И ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ.

А.А. Крицкий¹, Я.М. Краснов¹, М. Кейта², С. Кейта³, А.В. Федоров¹, А.П. Шевцова¹,
Н.П. Гусева¹, Е.В. Казорина¹, Е.А. Соседова¹, А.Д. Катышев¹, Е.А. Нарышкина¹,
Е.В. Коломеец⁴, С.А. Щербакова¹, А.Ю. Попова⁵, В.В. Кутырев¹.

*1– ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»,
Саратов, Российская Федерация;*

*2 – Национальный Институт Общественного Здравоохранения, Конакри, Гвинейская
Республика;*

*3 – Национальное Агентство Санитарной Охраны Гвинейской Республики, Конакри,
Гвинейская Республика;*

4 – ОК «РУСАЛ», Конакри, Гвинейская Республика;

*5 – Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, Российская
Федерация.*

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID19, S ген, полногеномное секвенирование, фрагментарное секвенирование, филогенетический анализ, Гвинейская Республика, Западная Африка.

Резюме

При помощи фрагментарного (S ген) и полногеномного секвенирования 14 изолятов SARS-CoV-2 циркулировавших на территории Гвинейской Республики в мае и июне 2020 года, а также в марте 2021 года показана их генетическая разнородность. Анализ нуклеотидных последовательностей и филогенетические построения позволяют разделить исследованные штаммы на 3 группы. Сопоставление полученных данных с уже имеющимися эпидемиологическими данными доказывает первоначальный завоз COVID19 из стран Западной Европы, а также демонстрирует четыре независимых пути завоза в два временных периода (март 2020 года и не позднее марта 2021 года).

Введение

Пандемия новой коронавирусной инфекции COVID-19, этиологическим агентом которой является коронавирус SARS-CoV-2, затронула абсолютно все государства мира. По состоянию на 27.05.2021 года в мире было зарегистрировано 169 094 726 лабораторно подтвержденных случаев заболевания, 3 512 510 из которых имели смертельный исход [1]. В государствах Африки зарегистрировано 4 830 593 случая, включая 129 620 летальных исходов. На долю Гвинейской Республики пришлось 23080 случая, в том числе 160 закончившихся смертью.

Распространившись по всему миру, с декабря 2019 года этиологический агент COVID-19 в ходе своей эволюции, претерпел различные изменения в геноме, сформировав множество штаммов – геновариантов [2, 3, 4]. Считается, что эпидемическую значимость представляют штаммы имеющие изменения в гене шипового гликопротеина («S gene» от англ. «Spike» – «шип») особенно в области кодирующей рецептор-связывающий домен (RBD). [5, 6] Изменение структуры шипового белка в первую очередь ассоциировано с повышением инфекционной способности возбудителя COVID-19, а также способствуют ускользанию вируса от иммунного ответа [7, 8, 9].

Среди всего разнообразия генетически измененных штаммов, по состоянию на 31.05.2021 г. Всемирной Организацией Здравоохранения эпидемически значимыми признаны следующие варианты вируса [10], для которых доказаны увеличение трансмиссивности, тяжести течения заболевания, а также снижение чувствительности к принятым схемам терапии [11, 12, 13, 14]:

- Alpha – B.1.1.7 (501Y.V1), впервые был обнаружен в образцах забранных в сентябре 2020 года в Великобритании. Alpha вариант был зарегистрирован в 114 странах.
- Beta – B.1.351 (501.V2), впервые описан в декабре 2020 года на территории ЮАР. Данный штамм получил распространение в 92 государствах мира.
- Gamma – P.1 (501Y.V3). Впервые был зарегистрирован в декабре 2020 года на территории Бразилии. Получил распространение в 49 государствах.
- Delta – B.1.617.2 (478K), впервые обнаружен в октябре 2020 года в Индии. Зарегистрирован в 63 государствах.

На сегодняшний день в мире проводятся интенсивные работы по секвенированию и биоинформационному анализу геномов SARS-CoV-2, с целью выявления новых

геновариантов а также установления путей распространения уже существующих, поскольку эпидемически значимые геноварианты представляют серьезную угрозу для общественного здравоохранения. Однако для развивающихся стран секвенирование выявляемых штаммов SARS-CoV-2 является проблематичным вследствие экономических причин, недостаточной материально-технической базы и иных факторов [15, 16]. В этой связи Гвинейская Республика не является исключением. В рамках Российско - Гвинейского научно-технического сотрудничества, осуществляемого путем реализации Распоряжений Правительства РФ на протяжении уже многих лет, было проведено фрагментарное и полногеномное секвенирование геновариантов SARS-CoV-2 циркулирующих на территории Гвинейской Республики.

Цели и задачи

Основной задачей исследования явилось изучение нуклеотидных последовательностей S гена, а также полных геномов штаммов SARS-CoV-2, изолированных на территории Гвинейской Республики в разные временные периоды, с целью изучения их генетического разнообразия, а также установления их происхождения.

Для реализации поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Сбор клинического материала на территории Гвинеи.
2. Сбор сведений эпидемиологического характера.
3. Проведение фрагментарного секвенирования (S ген).
4. Проведение полногеномного секвенирования.
5. Построение филогенетических деревьев по результатам секвенирования как S гена, так и полных геномов.
6. Биоинформационный анализ результатов.

Материалы и методы

Биологический материал – назофарингеальные смывы, собирались в рамках скрининговых исследований на COVID-19 от подозрительных на заболевание и контактных лиц на территории Гвинейской Республики. Каждый образец биологического материала сопровождался документом – направлением, содержащим необходимые эпидемические данные.

Выделение РНК из образцов биоматериала проводилось при помощи набора для выделения нуклеиновых кислот «РибоПреп» («ИнтерЛабСервис», Россия). Детекция генетического материала SARS-CoV-2 осуществлялась при помощи тест-систем «Detection Kit for 2019 Novel Coronavirus (2019-nCov) RNA (PCR-Fluorescence Probing)» (Da An Gene Co. Ltd., КНР), «Novel Coronavirus (2019-nCov) RT-PCR Detection Kit» (Fosun Pharma, КНР), «Novel Coronavirus (2019-nCov) Nucleic Acid Diagnostic Kit (PCR-Fluorescence Probing)» (SanSure Biotech Inc., КНР) в соответствии с протоколами производителей. Постановку полимеразной цепной реакции проводили на приборе RotorGene Q (Qiagen, ФРГ). Обратную транскрипцию РНК в кДНК проводили с использованием набора «Реверта – L» (ИнтерЛабСервис, РФ).

Секвенирование полных геномов осуществлялось при помощи технологии полупроводникового секвенирования на платформе Ion S5TM XL System (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу производителя. Первичная обработка данных проводилась при помощи программного обеспечения Torrent Suite Software версии 5.12.1 (Thermo Fisher Scientific, США). Сборка генома осуществлялась путем картирования отфильтрованных ридов на референс-геном (Wuhan-Hu-1 (NC_045512.2)) с использованием программы BWA версии 07.17. Секвенирование гена S осуществлялось по методу Сэнгера на приборе AB 3500xl (Applied Biosystems, США) с использованием программного обеспечения Data Collection v3.1. Выравнивание нуклеотидных последовательностей как полных геномов, так и S гена проводилось в программе MAFFT v.7 (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>). Поиск единичных нуклеотидных полиморфизмов (SNP) у сравниваемых геномов осуществлялся с помощью программы Snippy 2.0 (<https://github.com/tseemann/snippy>). Сравнительный филогенетический анализ проводился при помощи пакета программ BioNumerics 7.6 (Applied Maths NV, Бельгия), используя алгоритм Maximum Parsimony.

Всего в работе было проанализировано 14 образцов полученных в разные временные периоды и из разных регионов Гвинейской Республики. Полногеномное секвенирование проведено для 4 образцов, еще у 10 образцов был секвенирован только ген S. Полученные нуклеотидные последовательности депонированы в международную базу данных NCBI GenBank. Данные о исследованных образцах представлены в **Таблице 1.**

Результаты и обсуждение

Первый, лабораторно подтвержденный случай новой коронавирусной инфекции на территории Гвинейской Республики был зарегистрирован 12 марта 2020 года в столице г. Конакри у гражданина Евросоюза, незадолго до манифестации заболевания прибывшего из Франции воздушным судном [17]. Всего за март 2020 года, до момента закрытия международного сообщения (в соответствии с Распоряжением Правительства Гвинеи, 23 марта 2020 года, авиасообщение было приостановлено на неопределенный срок, а с 27 марта закрыты и сухопутные границы [18]) в Гвинейской Республике было зарегистрировано 22 случая заболевания, 9 из которых в соответствии с данными эпидемиологического анамнеза достоверно являлись завозными. Среди этих 9 случаев, 8 были связаны с завозом из Франции, и один из Италии [17]. Последующее распространение было связано с внутренней трансмиссией вируса, вплоть до открытия границ (август 2020). Следует отметить, что помимо завоза воздушным судном, не исключена также и вероятность завоза членами экипажей морских судов, в виду наличия на территории Гвинеи крупных портовых городов – Конакри, Боке и Боффа чья значимость, как «входных ворот COVID-19», была подчеркнута в «Национальном плане по ответу на эпидемию COVID-19» [19].

На протяжении всего периода специалисты Российско – Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней принимали непосредственное участие в диагностических и противоэпидемических мероприятиях на территории Гвинеи.

Количество выявляемых случаев COVID-19 за период с марта 2020 по июнь 2021 гг. было непостоянно, и претерпевало колебания. Пиковые показатели выявляемости были отмечены в мае, середине июня и июля, августе, октябре 2020 года а также в марте 2021 года [20]. Нами были исследованы образцы собранные в мае 2020 г. в г. Киндия и Камсар (по 1 образцу), июне 2020 г. (г. Колабуи и Сангареди, по 1 образцу), а также в марте 2021 г. в 8 населенных пунктах супрефектуры Киндия (10 образцов). Важно отметить, что н.п. Камсар, Колабуи и Сангареди находятся в префектуре Боке, регионе с развитой горной промышленностью, где традиционно проживает большое количество сотрудников зарубежных горнодобывающих компаний занятых в добыче полезных ископаемых. Супрефектура Киндия, откуда были остальные исследованные образцы, является крупным экономическим центром, а также ключевым транспортным узлом [21]. Именно через Киндию преимущественно осуществляется внутренняя миграция населения из столицы во

внутренние регионы страны и наоборот, а также в сопредельные государства. Всего в марте 2021 года, в супрефектуре Киндия было выявлено 107 лабораторно подтвержденных случаев COVID-19, таким образом нами было исследовано 9,3% изолятов с данной территории за март месяц.

Биоинформационный анализ показал, что исследованные образцы не были генетически однородны. Анализ нуклеотидной последовательности S гена, проведенный для всех 14 образцов, позволяет разделить образцы на 3 группы. К первой относятся образцы (C1, C2, C3, C4) отобранные в мае-июне 2020 года в префектурах Боке (н.п. Камсар, Колабуи, Сангареди) и Киндия (г. Киндия). Все они имеют мутацию D614G, а изолят C3 также имеет дополнительную мутацию Cys1235Phe, но при этом не относится к известным геновариантам, имеющим эпидемическую значимость. Штаммы такого же генотипа описаны для государств Западной Европы, Азии, Северной Америки. Важно отметить, что образец C1 относится к одному из первых лабораторно подтвержденных случаев COVID-19 на территории супрефектуры Киндия.

Ко второй группе образцов относилось 7 изолятов датированных мартом 2021 года, имеющие Alpha генотип (B.1.1.7), либо близкий к нему. Четыре образца (E10, E15, E17, E18) имели весь набор маркерных мутаций линии B.1.1.7 и ряд дополнительных мутаций. Так, изолят E10 имел дополнительную мутацию Glu619Lys, а E15 мутацию Pro9Ser, у E17 была выявлена мутация Gln965His, а у E18 Ser12Cys, Thr76Asn и Gln965His. Все они были зарегистрированы в разных населенных пунктах супрефектуры Киндия – Souguetta (E10), Damakania (E15), Ferefou I (E17), Gadawawa (E18). Еще три образца (E11, E14, E16), несмотря на наличие всех маркерных для Alpha генотипа единичных замен, не имели его маркерных делеций аминокислот в позициях 69, 70, 144, при этом образцы E11 и E14 имели дополнительную мутацию Asp138Tyr. Эти образцы также имеют разную географическую приуроченность внутри супрефектуры Киндия – Sinania (E11), Yabara (E14), Commoyah Plateau (E16).

В третью группу вошло три образца (E12, E13, E20, супрефектура Киндия, март 2021) несущих общий уникальный набор мутаций в S гене: K182R, L452R, T478K, D614G, P681H, D796Y. Интересно, что мутации L452R, T478K являются одними из маркерных для варианта Delta (B.1.617.2), однако другие отличия не позволяют отнести исследуемые изоляты к геноварианту Delta. Образцы E12 и E13 были абсолютно идентичны между собой и получены от членов одной семьи, проживающих вместе (н.п. Damakania, супрефектура Киндия) и находившихся в близком контакте. Образец E20 отличающийся

от E12 и E13 на 4 SNP, но находящийся с ними в одной группе, был выделен в другом населенном пункте (Sambaya). Штаммы сходного с третьей группой генотипа в международной базе данных NCBI GenBank представлены всего несколькими экземплярами из Франции, Люксембурга и Великобритании.

Важно отметить, что изоляты второй и третьей групп, несмотря на свою генетическую разнородность циркулировали на территории одной супрефектуры (Киндия) в один и тот же временной период (образцы биоматериала отбирались в период со второго по двадцатое марта 2021 года), что свидетельствует о независимых путях завоза инфекции на территорию. Результаты секвенирования S гена изолятов всех групп представлены в **Таблице 2.**

Филогенетический анализ с использованием нуклеотидной последовательности S гена показал, что образцы первой группы (полученные в 2020 году) были сильно дистанционированы от изолятов 2021 года, и находились в одной кладе с изолятами циркулировавшими в 2020 году во многих государствах мира, без четко выраженной территориальной принадлежности. Геноварианты второй группы также образовывали отдельную кладу, располагаясь вместе с типичными вариантами линии Alpha. Отдельную кладу, отстоящую от изолятов второй группы образовали образцы третьей группы, находясь ближе всего к образцам из Франции, Люксембурга и Великобритании. В данной кладе также оказались и штаммы из Гвинеи, представленные в открытой международной базе данных GISAID, секвенированные Научно – Исследовательским и учебным центром инфекционных болезней Гвинейской Республики (CERFIG, г. Конарки). Всего для построения филогенетического дерева было использовано 80 нуклеотидных последовательностей, выделенных в различных государствах мира в период с декабря 2019 по март 2021 года, и наиболее сходных с исследуемыми. Построенное по результатам филогенетического анализа S гена дерево представлено на **Рисунке 1.**

Поскольку четыре образца 2020 года, по данным нуклеотидной последовательности S гена не имели каких либо характерных особенностей, позволяющих судить о их происхождении, было проведено их полногеномное секвенирование с последующим построением филогенетического дерева. Мутации в геноме данных штаммов приведены в **Таблице 3.**

Результаты секвенирования полных геномов и последующего филогенетического анализа показали, что образцы 2020 года относились к двум филогенетическим кладам – GR и G. К первой кладе относятся образцы C1 и C2 отобранные в мае 2020 года в г.

Колабуи и Сангареди (префектура Боке). Оба образца относились к кластеру GR, не имеющему четкой географической приуроченности. Штаммы данного кластера выделялись на территории государств Западной Европы, Северной Америки и Азии. Образцы С3 и С4 (июнь 2020 года) принадлежали к кладе G и демонстрировали высокое филогенетическое сродство к штаммам циркулировавшим в странах Западной Европы. Так, при филогенетическом построении, данные изоляты располагались в кладе состоящей исключительно из геновариантов зарегистрированных на территории Франции и/или Швейцарии (**Рисунок 2**).

Учитывая высокую генетическую разнородность, а также разную временную приуроченность, можно говорить как минимум о четырех независимых завозах коронавирусной инфекции на территорию Гвинейской Республики. Поскольку изученные нами изоляты 2020 года продемонстрировали принадлежность к двум кластерам GR и G, можно предположить, что в марте 2020 года (до закрытия границ) произошло минимум два независимых завоза геновариантов SARS-CoV-2. А т.к. непосредственно после объявления вспышки COVID-19 границы Гвинеи стали закрыты, то внутренняя трансмиссия инфекции до повторного открытия границ, осуществлялась именно за счет данных завезенных штаммов.

В подтверждение эпидемиологическим данным, филогенетическая близость образцов С3 и С4 (кластер G) к образцам из Франции и Швейцарии, указывает на завоз коронавирусной инфекции из стран Западной Европы. Циркулирующие на территории Гвинеи штаммы кластера GR (образцы С1 и С2) в тот временной период были в основном распространены также в Западной Европе. Таким образом, по результатам проведенного анализа нами показано, что первоначальный завоз COVID-19 в Гвинею произошел минимум двумя независимыми путями, которые, скорее всего, связаны со странами Западной Европы.

После возобновления международного сообщения, несмотря на предпринимаемые противоэпидемические меры, завоза геновариантов новых типов также не удалось избежать. Так, вариант Alpha уже циркулировал на территории Гвинеи как минимум с начала марта 2021 года (дата забора материала образца E10 – 02 марта 2021). При том в это же время на этой же территории (супрефектура Киндия) циркулировали штаммы филогенетически отдаленные от Alpha варианта.

Таким образом, выявление четырех вариантов SARS-CoV-2, филогенетически близких к штаммам циркулирующим за пределами Гвинеи, но при этом филогенетически

отдаленных друг от друга, позволяет говорить как минимум о четырех независимых завозах COVID-19 на территорию Гвинеи - два из которых были осуществлены в марте 2020 года, и два не позднее марта 2021 года.

Выводы

На основе вышеприведенных данных можно сформулировать следующие выводы:

1. Циркулирующие на территории Гвинейской Республики изоляты SARS-CoV-2 генетически неоднородны и принадлежат к разным филогенетическим группам.
2. Современные геноварианты вытесняют первоначально завезенные.
3. Завоз COVID-19 на территорию Гвинейской Республики осуществлялся как минимум 4 независимыми путями.
4. Первоначальные пути завоза связаны со странами Западной Европы.

Таблица 1. Образцы клинического материала, использованные в работе.

№	Код	Пол	Возраст	Симптомы	Префектура	Супрефектура	Населенный пункт	Дата взятия материала	Генотип	Тип сиквенса
1.	C1	Ж	22	37,5°C, лихорадка, слабость	Kindia	Kindia	Kindia	14.05.2020	GR	Полный геном
2.	C2	М	74	кашель, боли в горле, летальный исход	Boke	Kamsar	Kamsar	13.05.2020	GR	Полный геном
3.	C3	М	34	без симптомов	Boke	Kolaboui	Kolaboui	14.06.2020	G	Полный геном
4.	C4	М	65	38,5°C, кашель	Boke	Sangaredi	Sangaredi	26.06.2020	G	Полный геном
5.	E10	М	32	без симптомов	Kindia	Kindia	Souguetta	02.03.2021	202012/01, B.1.1.7, Alpha	S ген
6.	E11	М	61	кашель, лихорадка, головная боль	Kindia	Kindia	Sinania	10.03.2021	Alpha alt*	S ген
7.	E12	М	61	без симптомов	Kindia	Kindia	Damakania	10.03.2021	н.о.	S ген
8.	E13	Ж	24	без симптомов	Kindia	Kindia	Damakania	10.03.2021	н.о.	S ген
9.	E14	Ж	25	без симптомов	Kindia	Kindia	Yabara	10.03.2021	Alpha alt*	S ген
10.	E15	Ж	21	аносмия, слабость	Kindia	Kindia	Damakania	10.03.2021	202012/01, B.1.1.7, Alpha	S ген
11.	E16	М	42	38,5°C, лихорадка	Kindia	Kindia	Comoyah Plateau	12.03.2021	Alpha alt*	S ген
12.	E17	М	40	35°C, головная боль, лихорадка, кашель, миалгия	Kindia	Kindia	Ferefou 1	16.03.2021	202012/01, B.1.1.7, Alpha	S ген
13.	E18	Ж	39	кашель, головная боль	Kindia	Kindia	Gadawawa	17.03.2021	202012/01, B.1.1.7, Alpha	S ген
14.	E20	Ж	24	кашель, головная боль	Kindia	Kindia	Sambaya	20.03.2021	н.о.	S ген

*Alpha alt – образцы, имеющие все маркерные мутации характерные для Alpha варианта, но при этом не имеющие маркерных делеций,

** н.о. – не определено

Таблица 2. Несинонимичные мутации в S гене у исследованных образцов.

Замены в нуклеотидной последовательности*	Замены в аминокислотной последовательности	Код образца													
		C1	C2	C3	C4	E10	E11	E12	E13	E14	E15	E16	E17	E18	E20
C21587T	Pro9Ser	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
C21597G	Ser12Cys	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
ATACATG21764A	del His69_Val70	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-
C21789A	Thr76Asn	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
G21974T	Asp138Tyr	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
TTTA21990T	del Tyr144	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-
A22107G	Lys182Arg	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
T22917G	Leu452Arg	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
C22995A	Thr478Lys	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
A23063T	Asn501Tyr	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
T23094G	Val511Gly	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
C23271A	Ala570Asp	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
A23403G	Asp614Gly	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G23417A	Glu619Lys	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C23604A	Pro681His	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C23709T	Thr716Ile	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
G23948T	Asp796Tyr	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
A24457C	Gln965His	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
T24506G	Ser982Ala	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
G24821T	Ala1087Ser	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
G24914C	Asp1118His	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
G25266T	Cys1235Phe	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+

* – указана позиция от начала генома

	мутации выявленные только в исследованных образцах
	мутации маркерные для Alpha варианта
	мутации маркерные для Delta варианта
	мутации характерные для обоих вариантов

Таблица 3. Мутации в геномах исследованных образцов 2020 года. Область S гена в таблице не приведена. Цветом отмечено наличие мутаций.

Замены в нуклеотидной последовательности*	Ген	Код образца			
		C1	C2	C3	C4
C241T	ORF1ab	+	+	+	+
T727A	ORF1ab	-	-	-	+
T1877A	ORF1ab	+	-	-	-
T1965A	ORF1ab	-	-	-	+
G2250T	ORF1ab	-	-	-	+
C3037T	ORF1ab	+	+	+	+
T4708C	ORF1ab	-	-	-	+
T5550C	ORF1ab	+	-	-	-
T7365A	ORF1ab	+	-	-	-
A8694T	ORF1ab	-	-	+	-
A8804G	ORF1ab	-	-	+	-
T9477A	ORF1ab	-	-	-	+
C10188T	ORF1ab	+	-	-	-
G11540T	ORF1ab	-	-	-	+
T13596A	ORF1ab	+	+	+	-
C14408T	ORF1ab	+	+	+	+
C15324T	ORF1ab	+	+	+	-
T15510A	ORF1ab	-	-	+	-
A17378T	ORF1ab	-	-	+	-
T19839C	ORF1ab	-	+	-	+
T21075A	ORF1ab	-	-	-	+
T25597C	ORF3a	-	-	+	-
G27364T	ORF6	-	+	-	-
G28557A	N	-	+	+	-
GGG28881AAC	N	-	-	+	+
A29394T	N	-	-	+	-
C29509T	N	-	-	+	-
C29739T	3'UTR	-	-	-	+

* — указана позиция от начала генома

Рисунок 1. Филогенетическое дерево, построенное на основе нуклеотидных последовательностей S гена. Исследованные образцы разделились на три группы (выделены цветом и помечены римскими цифрами): I – образцы 2020 года не относящиеся к известным геновариантам, имеющим эпидемическую значимость; II – образцы 2021 года, Alpha генотипа, либо близкого к нему; III – образцы 2021 года, несущие общий набор мутаций в гене S. Исследованные образцы выделены красным цветом.

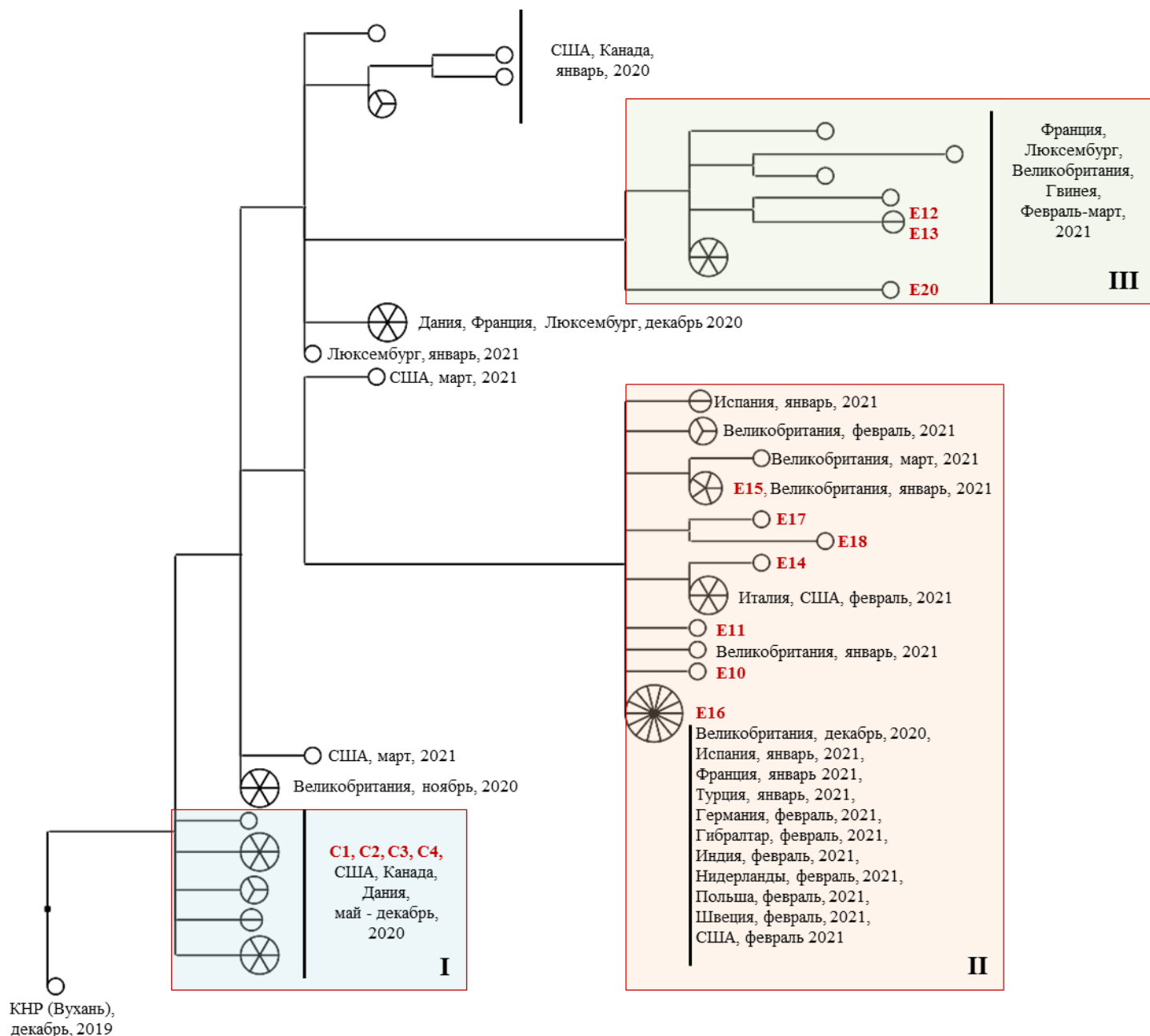
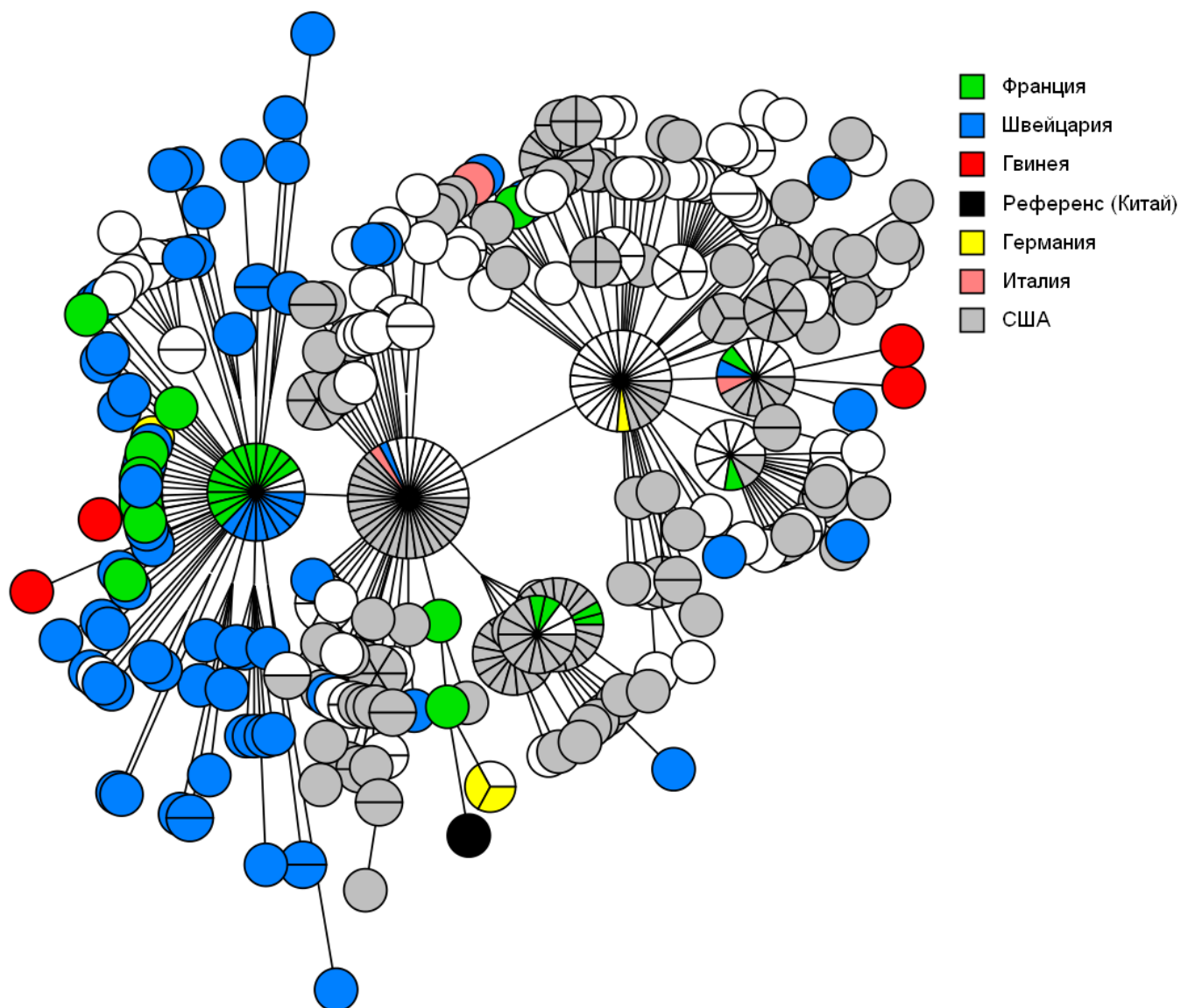


Рисунок 2. Филогенетическое дерево, построенное на основе данных секвенирования полных геномов штаммов SARS-CoV-2 циркулировавших в 2020 году. Географическая принадлежность показана цветом.



Список использованных источников

1. Online ресурс <https://www.worldometers.info/coronavirus/>
2. A. Rambaut, E. C. Holmes, Á. O'Toole, V. Hill, J. T. McCrone, C. Ruis, L. du Plessis & O. G. Pybus. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol* 5, 1403–1407 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0770-5>
3. T. Li, T. Huang, C. Guo, A. Wang, X. Shi, X. Mo, et al. Genomic variation, origin tracing, and vaccine development of SARS-CoV-2: A systematic review. *Innovation (N Y)*. 2021 May 28; 2(2):100116. doi: 10.1016/j.xinn.2021.100116
4. W.T. Harvey, A.M. Carabelli, B. Jackson, R.K. Gupta, E.C. Thomson, E.M. Harrison, et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nat Rev Microbiol*. 2021 Jun 1;1-16. doi: 10.1038/s41579-021-00573-0
5. S.B. Kadam, G.S. Sukhramani, P. Bishnoi, A. A. Pable, V.T. Barvkar. SARS-CoV-2, the pandemic coronavirus: Molecular and structural insights. *J Basic Microbiol*. 2021 Mar; 61(3):180-202. doi: 10.1002/jobm.202000537
6. D.J. Benton, A.G. Wrobel, C. Roustan, A. Borg, P. Xu, S.R. Martin et al. The effect of the D614G substitution on the structure of the spike glycoprotein of SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021 Mar 2; 118(9):e2022586118. doi: 10.1073/pnas.2022586118
7. P. Majumdar, S. Niyogi. SARS-CoV-2 mutations: the biological trackway towards viral fitness. *Epidemiol Infect*. 2021 Apr 30; 149:e110. doi: 10.1017/S0950268821001060
8. Qianqian L., Jiajing W., Jianhui N., et al. The Impact of Mutations in SARS-CoV-2 Spike on Viral Infectivity and Antigenicity. *Cell*, 2020, 182, P. 1284-1294.e9, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.07.012>
9. Laffeb C., Koning K., Kanaar R., Lebbink J.H.G. Experimental Evidence for Enhanced Receptor Binding by Rapidly Spreading SARS-CoV-2 Variants. *Journal of Molecular Biology*. 2021, 433, 167058, <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2021.167058>
10. Онлайн ресурс ВОЗ <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>

11. E. Volz, V. Hill, J. T. McCrone, A. Price, D. Jorgensen, Á. O'Toole et al. Evaluating the Effects of SARS-CoV-2 Spike Mutation D614G on Transmissibility and Pathogenicity. *Cell*. 2021 Jan 7; 184(1):64-75.e11. doi: 10.1016/j.cell.2020.11.020
12. N.G. Davies, S. Abbott, R.C. Barnard, C.I. Jarvis, A.J. Kucharski, J. D. Munday et al. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science*. 2021 Apr 9; 372(6538):eabg3055. doi: 10.1126/science.abg3055
13. B. Zhou, T.T.N. Thao, D. Hoffmann, A. Taddeo, N. Ebert, F. Labroussaa et al. SARS-CoV-2 spike D614G change enhances replication and transmission. *Nature*. 2021 Apr; 592(7852):122-127. doi: 10.1038/s41586-021-03361-1
14. S.B. Hudson, V. Kolte, A. Khan, G. Sharma. Dynamic tracking of variant frequencies depicts the evolution of mutation sites amongst SARS-CoV-2 genomes from India. *J Med Virol*. 2021 Apr; 93(4):2534-2537. doi: 10.1002/jmv.26756
15. M. Shey, J. C. Okeibunor, A. A. Yahaya, B. L. Herring, O. Tomori, S. O. Coulibaly, et al. Genome sequencing and the diagnosis of novel coronavirus (SARS-COV-2) in Africa: how far are we? *Pan Afr Med J*. 2020 Jun 9; 36:80. doi: 10.11604/pamj.2020.36.80.23723
16. A. Otu, E. Agogo, B. Ebenso. Africa needs more genome sequencing to tackle new variants of SARS-CoV-2. *Nat Med*. 2021 May; 27(5):744-745. doi: 10.1038/s41591-021-01327-4
17. Россия – Гвинея: итоги и перспективы сотрудничества в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения / под ред. д-ра мед. наук, проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН, д-ра мед. наук, проф. В.В. Кутырева. – Саратов: Амирит, 2020. – 272 с.
18. Р. Лама, С. Кейта, А.А. Крицкий, Е.В. Колomoец , В.К. Коному, Я.Ю. Ицков. Противоэпидемические мероприятия в Гвинейской Республике при борьбе с COVID-19 в 2020 году. Материалы Международной научно-практической конференции по вопросам противодействия новой коронавирусной инфекции и другим инфекционным заболеваниям / под ред. д-ра мед. наук, проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН, д-ра мед. наук, проф. В.В. Кутырева. – Саратов: Амирит, 2020. с 130 - 132

19. Plan Nationale De Preparation et De Riposte Contre L'Epidemie de Coronavirus (CoVid-19). Fevrier 2020, Conakry, Guinee.
20. Rapport de Situation. Sitrep №415. 27/05/2021. ANSS. Guinea, Conakry.
21. А.А. Крицкий, Е.В. Коломоец, К. Соу, С.А. Яковлев, В.К. Коному, Я.Ю. Ицков, и др. Трансмиссия коронавирусной инфекции в супрефектуре Киндия (Гвинея) в период с марта по август 2020 года. Материалы Международной научно-практической конференции по вопросам противодействия новой коронавирусной инфекции и другим инфекционным заболеваниям / под ред. д-ра мед. наук, проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН, д-ра мед. наук, проф. В.В. Кутырева. – Саратов: Амирит, 2020. с 114 - 116.