

Д.В. Антонец, М.Е. Старчевская, Н.П. Колосова, И.М. Сулопаров, А.В. Даниленко,  
С.А. Боднев, А.Н. Швалов, Т.В. Трегубчак, А.Б. Рыжиков, О.В. Пьянков, Р.А. Максютков

**Предварительный анализ генетической изменчивости изолятов вируса SARS-CoV-2,  
относящихся к варианту Омикрон, циркулирующих на территории Российской  
Федерации**

1 – ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «ВЕКТОР»  
Роспотребнадзора, 630559, Новосибирская область, р. п. Кольцово.

## **Резюме**

С момента начала пандемии COVID-19 в 2020 году в России наблюдалось пять волн циркуляции SARS-CoV-2. Наблюдалась быстрая эволюция SARS-CoV-2, которая привела к появлению новых вариантов вируса, которые последовательно сменялись более адаптированным вариантом. Вариант Омикрон, выявленный в ноябре 2021 года, быстро распространяется в мире и в России и вытесняет предыдущий вариант Дельта. **Целью** данного исследования было описание результатов мониторинга и проведение сравнительной генетической характеристики изолятов варианта Омикрон вируса SARS-CoV-2, выделенных в России и секвенированных во ФБУН ГНЦ ВБ “Вектор” Роспотребнадзора. **Материалы и методы:** в качестве материала для исследования использовали мазки из рото- и носоглотки, собранные Центрами Гигиены и Эпидемиологии Роспотребнадзора. Секвенирование образцов с использованием Illumina Miseq. Биоинформатический анализ геномных данных проводился с помощью ряда программ, таких как FastQC (v.0.11.9), MAFFT (v.7.475), IQ-TREE, Pangolin (v.3.17), Minimap2 (v.2.17-r941), SnpEff (v.5.0e). **Результаты и выводы:** В работе было отсеквенировано и проанализировано 324 изолята варианта Омикрон вируса SARS-CoV-2, выделенных в России в период с 13.12.2021 по 17.01.2022. Выделенные изоляты имели большинство основных характерных мутаций варианта Омикрон, включая 32 мутации в S-белке, которые могут быть ассоциированы с повышенной трансмиссивностью, уклонением от иммунного ответа и изменением тропизма и патогенности. Изоляты варианта Омикрон, выявленные в России, по основным генетическим маркерам сходны со штаммами, циркулирующими в мире, для которых было показано преимущество в заражении по сравнению с вариантом Дельта, снижение эффективности вакцин, но при этом, возможно, менее тяжелое течение заболевания. Вариант Омикрон на данное время считается опасным патогеном и необходимые меры предосторожности, профилактики и лечения являются актуальными на данном этапе пандемии.

**Ключевые слова:** COVID-19, SARS-CoV-2, вариант Омикрон, мониторинг, генетическая изменчивость, мутации

## **Введение/Цель**

Коронавирусная инфекция SARS-CoV-2, впервые выявленная в конце 2019 года в городе Ухань в Китае [1], быстро распространилась на глобальном уровне и это распространение SARS-CoV-2 было признано ВОЗ пандемией в марте 2020 года [2]. В настоящее время зарегистрировано более 352 миллионов случаев заболевания COVID-19 во всем мире [3]. В России SARS-CoV-2 был выявлен в начале 2020 года от завезенных случаев (в январе и марте) и к маю 2020 стал распространяться по всей стране [4]. На начало 2022 года с начала пандемии в России зарегистрировано больше 11 миллионов случаев заболевания COVID-19 [3]. В циркулирующих изолятах вируса SARS-CoV-2 была продемонстрирована относительно высокая изменчивость генома, при этом большинство функционально значимых мутаций, приводящих к существенным изменениям свойств вируса было отмечено в S-белке, который является высоко иммуногенным и определяющим антигенные свойства вируса [5].

С момента появления первых вариантов коронавируса SARS-CoV-2 в человеческой популяции, вызвавшего масштабную эпидемию в материковом Китае, переросшую затем в глобальную пандемию по всему миру, возник ряд мутантных вариантов, вызвавших несколько пандемических волн. Эти варианты характеризовались определенными генетическими изменениями, среди которых, в течении пандемии ВОЗ было отмечено пять основных VOC (варианты, вызывающие опасения) SARS-CoV-2: Альфа штамм (B.1.1.7), Бета (B.1.351), Гамма (P.1), Дельта (B.1.617.2) и доминирующий в настоящее время Омикрон (B.1.1.529) [6]. Три варианта из этих пяти широко распространились по всему миру - сначала вариант Альфа (B.1.1.7), который появился в циркуляции с сентября 2020 года [6, 7], затем Дельта (B.1.617.2), который был признан VOC в мае 2021 года [6] и Омикрон (B.1.1.529), который был выявлен в ноябре 2021 года в Южной Африке [6, 8] и продолжает вытеснять вариант Дельта SARS-CoV-2 из циркуляции, достигая глобального доминирования [9, 10].

Вариант Альфа (линия B.1.1.7) впервые был выявлен в Англии, он быстро распространился по всему миру и имел относительно высокую трансмиссивность по данным эпидемиологии [7]. Вариант Дельта (B.1.617.2), вытеснивший вариант Альфа с середины 2021 г., имел еще более высокую трансмиссивность, более эффективное расщепление белка S фуриновой протеазой и уклонение от иммунного ответа [11]. Вариант Омикрон (B.1.1.529), также как вариант Альфа, происходит от генетической линии B.1.1. Вариант Омикрон представляет собой наиболее генетически удаленный вариант из всех исследованных штаммов SARS-CoV-2 на основе анализа S белка. Штаммы варианта Омикрон имеют большое количество (30 и более) мутаций в S-белке по сравнению с начальным референсным штаммом Wuhan-Hu-1, из них 15 аминокислотных замен в рецептор связывающем домене (RBD) в участках, ассоциированных с иммунным ответом. Также вариант омикрон имеет две мутации в сайте расщепления фурином, которые могут повысить эффективность

расщепления. Мутации присутствующие в Омикрон могут быть ассоциированы с более высокой трансмиссивностью, измененным связыванием с рецепторами и с уклонением от иммунного ответа [8, 12].

Высокая относительная трансмиссивность варианта Омикрон наблюдалась по быстрому распространению и вытеснению Дельта варианта в Южной Африке и других странах. По эпидемиологическим оценкам и моделированию предварительно показано, что трансмиссивность варианта Омикрон существенно выше, чем варианта Дельта (приблизительно в 3-5 раз) [13, 14]. Уклонение от иммунного ответа возможно внесло существенную роль в повышенную трансмиссивность варианта Омикрон по сравнению с вариантом Дельта так, как на животных было показано, что Омикрон уступает варианту Дельта в условиях отсутствия вирус-нейтрализующих антител, но демонстрирует значительное преимущество в присутствии нейтрализующих антител к варианту Дельта, которые не эффективны против варианта Омикрон [12].

Исследования на культурах клеток показывают, что вариант Омикрон обладает измененным тропизмом по сравнению с Дельта вариантом. На культуре клеток назального эпителия репликация штаммов вариантов Омикрона и Дельта была сходной, но в клетках легких и желудка Омикрон реплицировался значительно хуже. Также было снижено образование синцитиев (слияния клеток) при заражении штаммом варианта Омикрон. Эти изменения могут быть ассоциированы со сниженной патогенностью *in vivo* и более легким течением заболевания по сравнению с Дельта штаммом, которое наблюдается по предварительным данным [8, 12, 14].

Ряд исследований показал, снижение эффективности широко используемых вакцин против варианта Омикрон по сравнению с вариантом Дельта или предыдущими штаммами. При этом в реакции нейтрализации наблюдалось снижение эффективности в широких пределах от снижения в 2-4 раза до полного отсутствия нейтрализации [8, 15]. Эти данные согласуются с быстрым распространением штамма Омикрон и ростом заболеваемости в странах и регионах с высоким процентов вакцинированного населения. Однако ожидается, что вакцинопрофилактика может значительно снизить тяжесть заболевания [8, 13].

С целью изучения генетической изменчивости вируса SARS-CoV-2, циркулирующего на территории Российской Федерации, Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) с июня 2020 года организован регулярный сбор биологического материала из всех регионов Российской Федерации. С февраля 2021 года на территории Российской Федерации, был утвержден список из 18 научно-исследовательских учреждений, проводящих секвенирование, организован широкомасштабный сбор биологического материала по всем субъектам Российской Федерации. Специалистами ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора был разработан облачный сервис – российская платформа агрегации информации о геномах вирусов

(VGARus – Virus Genome Aggregator of Russia; <https://genome.crie.ru/>), предназначенный для интеграции и анализа данных мониторинга генетической изменчивости SARS-CoV-2.

По состоянию на 28.01.2022 г. на территории Российской Федерации секвенировано и депонировано в базе данных VGARus 44435 полногеномных последовательностей SARS-CoV-2 и 32355 последовательностей фрагментов S белка.

С середины декабря 2021 г. на территории Российской Федерации широкое распространение получили вызывающие обеспокоенность варианты Дельта (линия AY.122) и Омикрон (линия BA.1). Согласно данным полногеномного секвенирования доля варианта Дельта в ноябре и декабре 2021 г. составляла свыше 90%. На конец января вариант Омикрон стал доминирующим на территории Российской Федерации. По данным полногеномного секвенирования его доля составляла свыше 87%, по данным фрагментного секвенирования – свыше 65%. Доля варианта Дельта сократилась по данным полногеномного секвенирования до 9,6%, по данным фрагментного секвенирования – до 28,5%. В последнее время по данным GISAID в мире происходит рост распространенности генетической линии BA.2 варианта Омикрон. По данным VGARus в России также наметилась тенденция к увеличению доли линии BA.2.

**Целью** данного исследования было описание результатов мониторинга и проведение сравнительной генетической характеристики изолятов вируса SARS-CoV-2, принадлежащих к варианту Омикрон, выделенных в России и секвенированных ФБУН ГНЦ ВБ “Вектор” Роспотребнадзора с момента появления в декабре 2021 года.

### **Материалы и методы**

**Образцы для исследования.** Образцы в виде носо- и ротоглоточных мазков получали из лабораторий ЦГиЭ регионов Российской Федерации. Исследование одобрено Этическим Комитетом IRB 00001360 ФБУН ГНЦ Вирусологии и Биотехнологии «Вектор» (<http://www.vector.nsc.ru/eticheskiy-komitet/>). Мазки собирали в транспортную среду VTM или аналог, содержащий глицерин и антибиотики-антимикотики. Критерием отправки на исследование служил условный показатель порогового цикла (Ct) не более 25, полученный с помощью ПЦР-тест-систем, зарегистрированных в России как медицинское изделие в установленном порядке.

**Пробоподготовка и секвенирование.** Тотальную РНК выделяли с помощью набора для выделения ДНК/РНК из биологического материала «РИБО-преп» (ЦНИИэ, Россия). Экстрагированную РНК незамедлительно использовали для получения тотальной кДНК с использованием набора LunaScript RT SuperMix Kit (New England Biolabs, Великобритания). Полногеномное секвенирование осуществляли по протоколу ARTIC v3 (COVID-19 ARTIC v3 Illumina library construction and sequencing protocol V.5) с двумя пулами олигонуклеотидных праймеров, покрывающими весь геном SARS-CoV-2. Для проведения амплификации

использовали набор реагентов Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix (New England Biolabs, Великобритания). Полученные фрагменты двухцепочечной ДНК очищали от неизрасходованных компонентов и продуктов реакции с помощью AMPure beads (Beckman Coulter, США), измеряли концентрацию нуклеиновых кислот с помощью Qubit 3.0 с применением набора реагентов Qubit dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США) и затем использовали для подготовки библиотек NGS. Для подготовки библиотек использовали метод лигирования Y-образных адаптеров (Illumina). Секвенирование проводили на платформе MiSeq (Illumina) с использованием набора для секвенирования MiSeq Reagent Kit v2 (500-cycles) (Illumina, США).

**Биоинформатический анализ.** Проверка качества проводилась с помощью программы FastQC (v. 0.11.9) (<https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>), удаление прочтений низкого качества, удаление адаптеров, тримминг проводились с помощью Cutadapt (v.2.8) [16a]. Выравнивание прочтений на референс проводилось с помощью BWA-MEM (v. 0.7.17) [17a]. Обработка и анализ файлов SAM/BAM проводилась с помощью Samtools (v. 1.9) [18a]. Для извлечения консенсусной последовательности из BAM файлов использовалась программа iVar (v. 1.1; <https://github.com/andersen-lab/ivar/>) [19a]. В качестве референсной была использована полногеномная последовательность NC\_045512.2 вируса SARS-CoV-2 (Wuhan-Hu-1). Полученные последовательности были депонированы в базе данных российской платформы агрегации информации о геномах вирусов (VGARus - Virus Genome Aggregator of Russia; <https://genome.crie.ru/>), разработанной и поддерживаемой ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

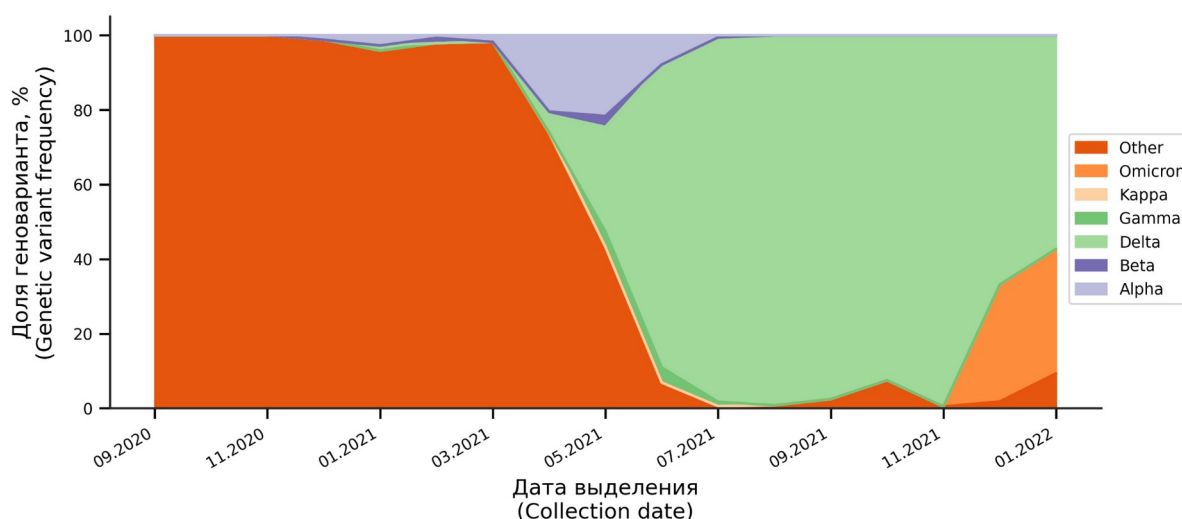
Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей геномов проводилось с помощью программы MAFFT (v. 7.475) [20a]. Филогенетический анализ последовательностей геномов проводился с помощью метода максимального правдоподобия с использованием модели GTR. Использовалось программное обеспечение IQ-TREE (v.2.0.3) [21a]. Для определения генетических линий использовалось программное обеспечение Pangolin (v.3.17) [22a].

Идентификация мутаций относительно референсной последовательности проводилась с использованием программ Minimap2 (v.2.17-r941) [23a], bcftools (v.1.11-35-g8a744dd) [19a] и freebayes (v.0.9.21) [24a]. Аннотация мутаций проводилась с использованием программы SnpEff (v.5.0e) [25a]. В качестве референсной была использована полногеномная последовательность NC\_045512.2 вируса SARS-CoV-2 (Wuhan-Hu-1). Дополнительная информация для аннотации функциональных районов вирусных белков была взята из UniProt (последовательности с номерами P0DTC1, P0DTC2, P0DTC3, P0DTC4, P0DTC5, P0DTC6, P0DTC7, P0DTC8, P0DTC9, P0DTD1, P0DTD2, P0DTD3, P0DTD8, P0DTF1, P0DTG0 и P0DTG1). Визуализация деревьев выполнена с помощью библиотеки ape (v.5.6-1) [26a] для R (v.4.0.4; <https://www.R-project.org/>). Чтение и анализ файлов в формате VCF и

GFF были реализованы с помощью оригинальных скриптов, написанных на языке программирования Python (v.3.8.12) с использованием библиотеки scikit-allel (v.1.3.3.) [27a].

### **Результаты и обсуждение**

В России с начала пандемии (с начала 2020 года) в течении двух лет было отмечено пять волн циркуляции SARS-CoV-2. Среди VOC, Альфа вариант присутствовал в циркуляции в России во время второй волны коронавируса (с пиком в конце 2020 года), во время третьей волны (с пиком в июле 2021 года). С мая 2021 года и во время четвертой волны (с пиком в ноябре 2021) в России преимущественно циркулировал вариант Дельта. Первые случаи инфекции, вызванной вариантом Омикрон, были выявлены в России в декабре 2021 года. Текущая пятая волна коронавируса в России, которая началась в середине января 2022 включает совместную циркуляцию вариантов Дельта и Омикрон с ожидаемым увеличением доли варианта Омикрон (B.1.1.529) в циркуляции до полного доминирования. На рис. 1 представлена динамика смены доминирующих вариантов SARS-CoV-2 в России с сентября 2020 г. по январь 2022 г. по данным ГНЦ ВБ “Вектор” Роспотребнадзора. На конец января вариант Омикрон стал доминирующим на территории Российской Федерации.



**Рис. 1.** Смена доминирующих генетических вариантов среди изолятов SARS-CoV-2. Использованы данные об изолятах выделенных на территории Российской Федерации и секвенированных ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Приведены данные по ежемесячной динамике для вариантов, вызывающих беспокойство (Альфа, Бета, Гамма, Дельта и Омикрон), варианта Каппа и всех остальных (N = 3559; для 65 субъектов Российской Федерации).

С июля 2020 г. ГНЦ ВБ “Вектор” было секвенировано более 3559 полногеномных последовательностей SARS-CoV-2, выделенных из биологических образцов, собранных в 65 субъектах Российской Федерации. Генетический материал нового варианта коронавируса SARS-CoV-2, получившего название Омикрон, на территории Российской Федерации был

впервые выделен из носоглоточных мазков, взятых 03.12.2021 г. у путешественников, вернувшихся из ЮАР. На момент подготовки данного сообщения (на 26.01.2022 г.) ГНЦ ВБ “Вектор” Роспотребнадзора было секвенировано 324 полногеномных последовательности, относящихся к варианту Омикрон SARS-CoV-2, полученных из 24 субъектов Российской Федерации. Наибольшее количество образцов, содержащих генетический материал варианта Омикрон, было получено из Москвы, Санкт-Петербурга и Свердловской области.

В результате анализа полученных полногеномных последовательностей, отнесенных к варианту Омикрон, с помощью программы freebayes было обнаружено 431 отличие относительно референсной последовательности SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 (NC\_045512.2). Из них 401 SNP, 6 MNP и 24 делеции/инсерции. Выявлено 300 транзиций и 94 трансверсии, отношение транзиций и трансверсий составило 3,19. Большинство мутаций было обнаружено в составе гена, кодирующего полипротеин ORF1ab (260 мутаций), большая часть из которых являются миссенс-мутациями, приводящими к изменению аминокислотных остатков (142). В составе гена, кодирующего белок S, было обнаружено 88 мутаций, большая часть из которых также приводят к замене аминокислотных остатков (55). Распределение обнаруженных мутаций по генам и по типам указано в табл. 1.

OPT	Тип мутации	К-во	Частота	
			Макс.	Средн.
ORF1ab	делеции	3	0,932	0,586
	сдвиг рамки	3	0,003	0,003
	миссенс-мутации	142	0,994	0,058
	синонимичные	105	0,985	0,047
	5'UTR	7	0,972	0,170
	Общее к-во	260		
S	делеции	5	0,957	0,360
	инсерции	2	0,809	0,809
	3'UTR	8	0,028	0,022
	сдвиг рамки	2	0,957	0,480
	миссенс-мутации	55	1,000	0,470
	синонимичные	16	0,969	0,070
	Общее к-во	88		
ORF3a	делеции	2	0,009	0,006
	сдвиг рамки	1	0,009	0,009
	миссенс-мутации	14	0,985	0,078
	нонсенс-мутации	1	0,003	0,003
	синонимичные	8	0,985	0,126
	потеря стартового кодона	1	0,003	0,003
	Общее к-во	27		
E	миссенс-мутации	2	0,994	0,498
	Общее к-во	2		
M	миссенс-мутации	6	0,975	0,443
	синонимичные	3	0,003	0,003
	5'UTR	2	0,019	0,011
	Общее к-во	11		
ORF6	миссенс-мутации	1	0,019	0,019

	синонимичные	4	0,997	0,256
	Общее к-во	5		
ORF7a	синонимичные	1	0,009	0,009
	5'UTR	1	0,003	0,003
	Общее к-во	2		
ORF7b	миссенс-мутации	2	0,059	0,031
	синонимичные	1	0,972	0,972
	Общее к-во	3		
ORF8	миссенс-мутации	2	0,003	0,003
	синонимичные	4	0,006	0,004
	Общее к-во	6		
N	делеции	1	0,951	0,951
	миссенс-мутации	15	0,991	0,191
	синонимичные	7	0,074	0,015
	5'UTR	1	0,994	0,994
	Общее к-во	24		
ORF10	миссенс-мутации	2	0,003	0,003
	синонимичные	1	0,022	0,022
	Общее к-во	3		
	Всего мутаций:	431		

**Табл. 1.** Количество и типы мутаций, выявленных у 324 изолятов варианта Омикрон SARS-CoV-2, секвенированных ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора.

Вариант омикрон вызвал серьезное беспокойство в первую очередь из-за большого количества мутаций в гене S (Spike). Многие из этих мутаций находятся в рецептор-связывающем домене и N-концевом домене и играют важную роль в связывании с ACE2 и распознавании вирусных частиц антителами.

У референсного варианта Омикрон (hCoV-19/SouthAfrica/NICD-N21398/2021; EPI\_ISL\_7456440) по сравнению с изначальным референсным штаммом Wuhan-Hu-1 (NC\_045512.2) было выявлено 58 мутаций, 47 из которых приводили к аминокислотным заменам в вирусных белках, 31 из них локализована в белке S.

Всего среди 324 изолятов варианта Омикрон, секвенированных ГНЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора, было выявлено 57 мутаций, приводящих к изменению аминокислотной последовательности вирусных белков, с частотой встречаемости не менее 4%. Из них – 48 мутаций, характерных для варианта Омикрон (таблица 2). В белке S присутствовала 31 характерная для Омикрона мутация. 15 из выявленных характерных для Омикрона мутаций и 1 дополнительная мутация (R346K) находятся в рецептор-связывающем домене (RBD) и 10 характерных для Омикрона мутаций - в рецептор-связывающем мотиве. В таблице 2 также указана локализация выявленных мутаций в функциональных районах белков SARS-CoV-2.

Семь мутаций – K417N, G446S, E484A, Q493R, G496S, Q498R и N501Y - связаны с ускользанием от взаимодействия с антителами [8]. Мутация R346K может быть



ассоциирована с изменением антигенности [28, 29], как и мутация S371L [30]. По сравнению с вариантом Альфа в варианте Омикрон присутствуют мутации N679K и P681H в сайте протеолитического расщепления, которые связаны с увеличением эффективности разрезания сайта фуриновыми протеазами, что ассоциируется с повышенной инфекционностью [14]. При этом следует отметить, что в варианте Дельта в сайте протеолитического расщепления присутствовала мутация P681R, которая усиливает эффективность расщепления фуриновой протеазой [31]. Совместное влияние двух новых мутаций в сайте протеолитического расщепления в варианте Омикрон на эффективность разрезания S белка необходимо исследовать. По предварительным данным протеолитическое расщепление S белка варианта Омикрон было менее эффективно, чем варианта Дельта [14]. Мутация H655Y, расположенная вблизи сайта расщепления фурином субъединиц S1-S2, также связана с повышенной трансмиссивностью [11, 32]

Для мутаций Δ69-70, N501Y, K417N, S477N, T478K, D614G, которые в различных комбинациях встречались и ранее, было показано влияние на усиление трансмиссивности и контагиозности вируса. D614G, которая появилась в начале 2020 года и быстро распространилась по миру, улучшает взаимодействие с ACE2, повышая контагиозность вируса [33], N501Y, характерная для вариантов Альфа, Бета и Гамма, также усиливает связывание с человеческим ACE2 [34]. Мутация Q498R в комбинации с N501Y значительно увеличивает аффинность связывания с человеческим ACE2 [35], как и замена T478K [36]. K417N, которая помимо варианта Омикрон встречается в различных линиях, в том числе у вариантов Бета и Каппа, дестабилизирует закрытую конформацию белка S и способствует образованию открытой, что увеличивает эффективность проникновения вируса в клетки [37].

Ряд потенциально важных мутаций обнаружены и в других белках. Так в составе ORF1a имеется делеция ΔL3674-G3676 (также обозначается как делеция Δ105-107 в белке NSP6), которая предположительно может способствовать уклонению от врожденного иммунитета [38]. Белок ORF9b содержит делецию 3 аминокислот: E27, N28 и A29. ORF9b участвует в подавлении врожденного иммунного ответа на вирусную инфекцию за счет взаимодействия с TOM70 и NEMO и подавления продукции интерферона [39, 40]. Экспериментально было показано, что ORF9b связывается с NEMO с помощью своей N-концевой области и что удаление первых 30 остатков ингибирует это взаимодействие [41]. Также было показано, что мутации R203K и G204R в белке N связаны с увеличением экспрессии РНК вируса [42] и увеличением вирусной нагрузки [43].

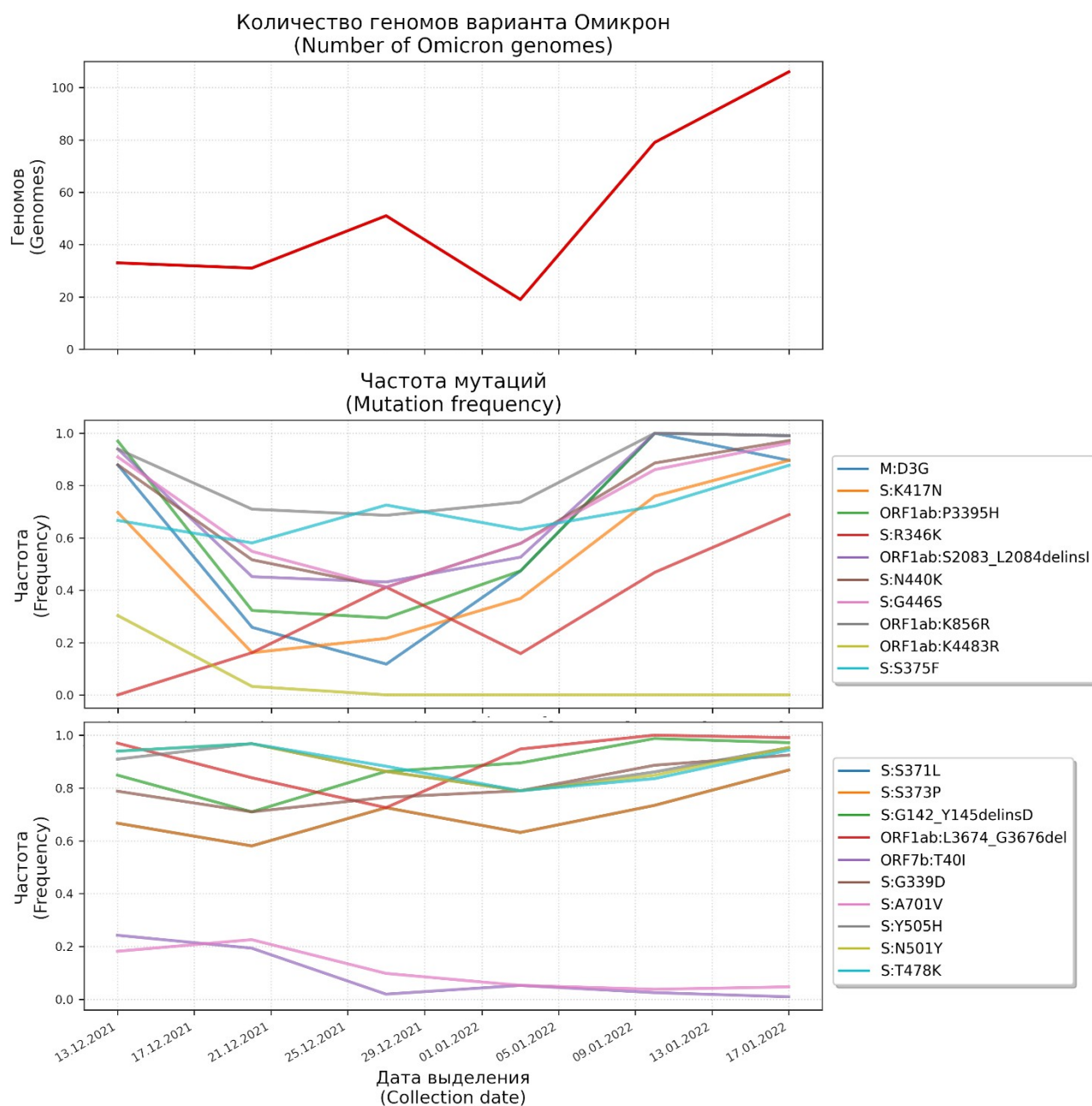
Эти и другие распространенные среди российских изолятов мутации (с частотой встречаемости не менее 4%), приводящие к изменению аминокислотных остатков в вирусных белках, приведены в табл. 2.

Позиция в геноме	ОРТ	Замена	Частота	Белок	Функциональная роль, комментарии
2832	ORF1ab	<b>*K856R</b>	0,90	NSP3	Ubiquitin-like 1
5730	ORF1ab	T1822I	0,04	NSP3	Папаин-подобная протеаза nsp3, Пептидаза C16, PLpro
5924	ORF1ab	V1887I	0,10	NSP3	Папаин-подобная протеаза nsp3, Пептидаза C16, PLpro
6512	ORF1ab	<b>*S2083-L2084ΔI</b>	0,82	NSP3	Папаин-подобная протеаза nsp3, Пептидаза C16, PLpro
8393	ORF1ab	<b>*A2710T</b>	0,97	NSP3	Папаин-подобная протеаза nsp3, Пептидаза C16, PLpro
10029	ORF1ab	<b>*T3255I</b>	1,00	NSP4	
10449	ORF1ab	<b>*P3395H</b>	0,79	NSP5	3С-подобная протеаза nsp5, Пептидаза C30, 3CLpro
11282	ORF1ab	<b>*L3674_G3676Δ</b>	0,93	NSP6	
11537	ORF1ab	<b>*I3758V</b>	0,97	NSP6	
13712	ORF1ab	K4483R	0,04	NSP12	РНК-зависимая РНК-полимераза
14408	ORF1ab	<b>*P4715L</b>	0,99	NSP12	РНК-зависимая РНК-полимераза
16744	ORF1ab	G5494S	0,04	NSP13	Геликаза
18163	ORF1ab	<b>*I5967V</b>	0,99	NSP14	3'-5' экзонуклеаза
21762	S	<b>*A67V</b>	0,99	S1	NTD, Гликозилирование-61,74
21764	S	<b>*H69_V70del</b>	0,98	S1	NTD, Гликозилирование-61,74
21846	S	<b>*T95I</b>	0,99	S1	NTD
21986	S	<b>*G142_Y145delinsD</b>	0,92	S1	NTD, Гликозилирование-149
22204	S	<b>*R214_D215insEPE</b>	0,81	S1	NTD
22578	S	<b>*G339D</b>	0,85	S1	RBD, Гликозилирование-331,343
22599	S	R346K	0,43	S1	RBD, Гликозилирование-343
22674	S	<b>*S371L</b>	0,75	S1	RBD
22679	S	<b>*S373P</b>	0,75	S1	RBD
22686	S	<b>*S375F</b>	0,75	S1	RBD
22813	S	<b>*K417N</b>	0,63	S1	RBD
22882	S	<b>*N440K</b>	0,79	S1	RBD (RBM)
22898	S	<b>*G446S</b>	0,78	S1	RBD (RBM)
22992	S	<b>*S477N</b>	0,90	S1	RBD (RBM)
22995	S	<b>*T478K</b>	0,90	S1	RBD (RBM)
23013	S	<b>*E484A</b>	0,89	S1	RBD (RBM)
23040	S	<b>*Q493R</b>	0,89	S1	RBD (RBM)
23048	S	<b>*G496S</b>	0,89	S1	RBD (RBM)
23055	S	<b>*Q498R</b>	0,89	S1	RBD (RBM)
23063	S	<b>*N501Y</b>	0,90	S1	RBD (RBM)
23075	S	<b>*Y505H</b>	0,90	S1	RBD (RBM)
23202	S	<b>*T547K</b>	0,99	S1	
23403	S	<b>*D614G</b>	1,00	S1	Гликозилирование-616
23525	S	<b>*H655Y</b>	0,99	S1	Гликозилирование-657
23599	S	<b>*N679K</b>	0,99	S1	Гликозилирование-676,678; вблизи полиосновного сайта
23604	S	<b>*P681H</b>	0,99	S1	Предполагаемый суперантигенный

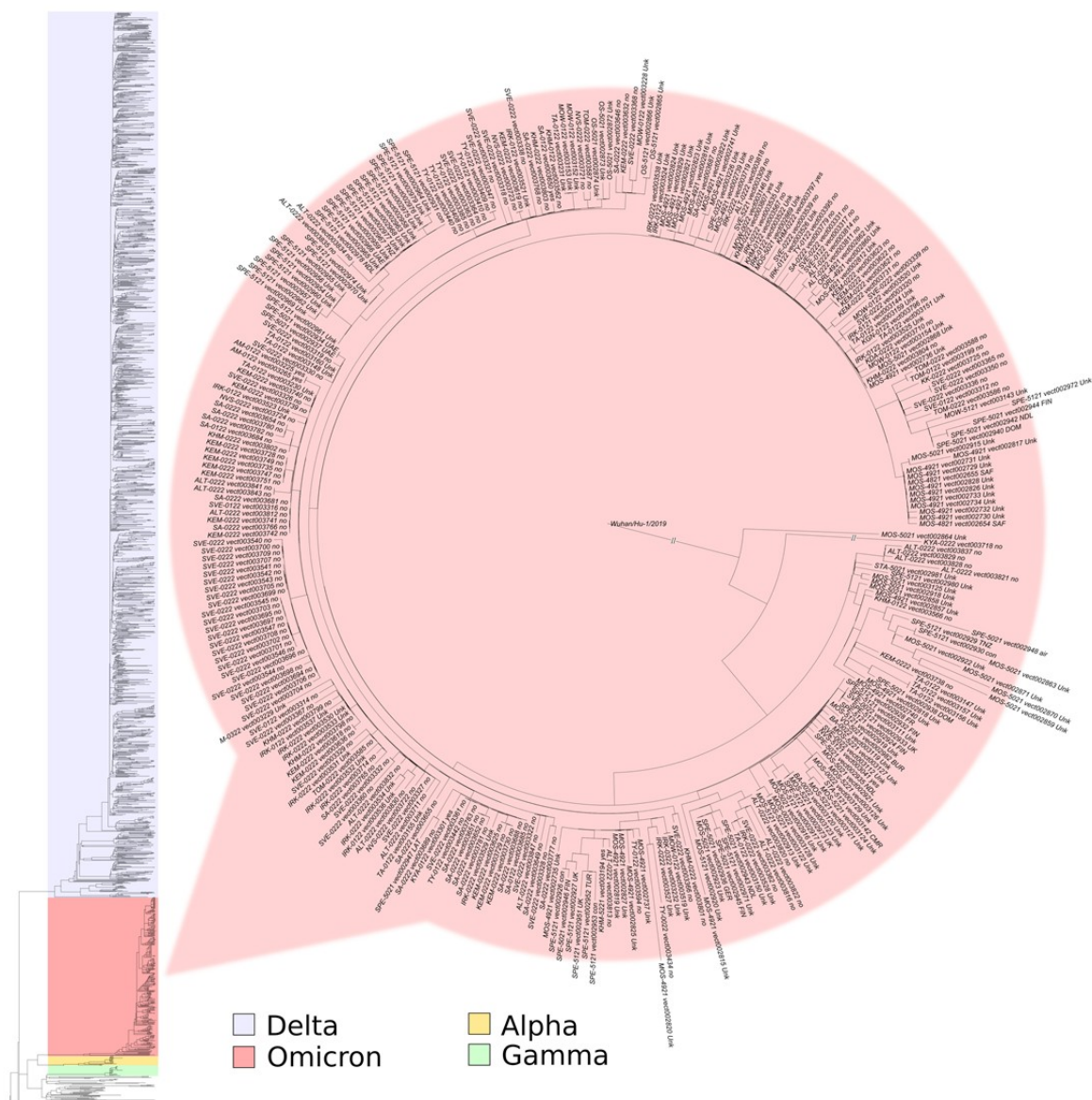
					участок, может связывать ТКР-бета (TRBC1); Гликозилирование-678; протеолитическое расщепление
23664	S	A701V	0,08	S2	
23854	S	<b>*N764K</b>	0,99	S2	
23948	S	<b>*D796Y</b>	0,98	S2	
24130	S	<b>*N856K</b>	0,99	S2	
24424	S	<b>*Q954H</b>	1,00	S2	Гептадный повтор 1
24469	S	<b>*N969K</b>	0,99	S2	Гептадный повтор 1
24503	S	<b>*L981F</b>	0,99	S2	Coiled coil
25584	ORF3a	<b>*L65I</b>	0,98	ORF3a	Виропорин
25708	ORF3a	L106F	0,05	ORF3a	Виропорин
26270	E	<b>*T9I</b>	0,99	E	Поверхность вириона
26530	M	<b>*D3G</b>	0,71	M	Поверхность вириона, Гликозилирование-5
26577	M	<b>*Q19E</b>	0,96	M	Поверхность вириона
26709	M	<b>*A63T</b>	0,98	M	
27874	ORF7b	T40I	0,06	ORF7b	
28311	N	<b>*P13L</b>	0,99	N	
28361	N	<b>*E31-S33Δ</b>	0,95	N	
28881	N	<b>*RG203KR</b>	0,99	N	Область с полярными а.к.о.
29301	N	D343G	0,05	N	

**Табл. 2.** Частота встречаемости мутаций, приводящих к изменению аминокислотной последовательности коронавируса белков. Показаны мутации с частотой встречаемости не менее 4%. Анализ проведен с использованием полногеномных последовательностей 324 изолятов варианта Омикрон SARS-CoV-2, секвенированных ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора. Звездочкой и жирным шрифтом выделены мутации, характерные для варианта Омикрон.

При анализе изменения частоты мутаций в штаммах варианта Омикрон в России (рис. 2) среди мутаций с наибольшим изменением частоты с тенденцией увеличения распространенности с приближением к 100% были две мутации, характерные для варианта Омикрон, локализованные в RBD белка S – K417N и G446S, которые способствуют ускользанию от иммунного ответа, и мутация N440K, которая ассоциирована с усилением связывания с рецепторами ACE2 [8]. Также была отмечена тенденция увеличения частоты мутации в RBD S-белка R346K (упомянутая выше), которая не является характерной для варианта Омикрон и может влиять на антигенные свойства [29, 30]. Мутация D3G в белке M и две мутации в белке NSP3 ORF1ab:S2083-L2084ΔI и ORF1ab:K856R являются характерными для варианта Омикрон и также показали тенденцию к увеличению частоты встречаемости.



**Рис. 2.** Количество полногеномных последовательностей варианта Омикрон, секвенированных ГНЦ ВБ “Вектор” (вверху) еженедельно и изменение частот встречаемости значимых мутаций (Проанализировано 324 полногеномных последовательностей варианта Омикрон вируса SARS-CoV-2).



**Рис. 3.** Филогенетическое дерево для 2225 (из 3559) российских изолятов SARS-CoV-2, секвенированных ГНЦ ВБ “Вектор” Роспотребнадзора (слева) и радиальная филограмма 324 изолятов варианта Омикрон (справа). В качестве внешней группы использована референсная последовательность SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1. Филогенетические деревья построены с помощью метода максимального правдоподобия с использованием модели GTR с помощью программы IQ-TREE.

Филогенетический анализ циркулирующих штаммов варианта Омикрон на территории России с декабря 2021 года показал, что они генетически сходны с референсным вариантом Омикрон (hCoV-19/SouthAfrica/NICD-N21398/2021; EPI\_ISL\_7456440). На рис. 3 показано филогенетическое дерево, построенное для 2225 из 3559 изолятов SARS-CoV-2,

секвенированных ГНЦ ВБ “Вектор” Роспотребнадзора. Дополнительно при построении дерева были включены следующие последовательности SARS-CoV-2: Wuhan/Hu-1/2019, Wuhan/WIV04/2019, Wuhan/WH01/2019, Guangdong/20SF012/2020, Germany/BY-ChVir-929/2020, Spain/CT-ISCIII-2013597/2020, Canada/ON-PHL-8751/2020, England/MILK-9E05B3/2020 и SouthAfrica/NICD-N21398/2021. Цветом выделены клады, соответствующие основным эпидемиологически значимым вариантам. Радиальная филограмма построена для 324 изолятов, относящихся к варианту Омикрон. Терминальные узлы подписаны следующим образом: код региона, неделя года (когда был выделен образец), номер последовательности в базе VGARus, путешествовал (если известно, то указано куда) или нет. На филограмме присутствует кластеризация изолятов по регионам и дате, в некоторых случаях - вместе с завозными изолятами. В дальнейшем мы планируем провести более подробный анализ с привлечением всех данных, присутствующих в базе VGARus, и данных, депонированных в базе EpiCov VGARus.

Стоит отметить, что именно множественные мутации, характерные для варианта Омикрон, привлекли всеобщее внимание, особенно мутации, присутствующие в его S белке. Эти мутации привели к существенным изменениям вирусологических свойств, таких как повышенная трансмиссивность, уклонение от иммунного ответа и изменение тропизма [8]. Первоначальная характеристика вирусов варианта Омикрон была проведена несколькими лабораториями в мире в очень короткие сроки с момента его выявления. Вирусы варианта Омикрон имеют преимущество в заражении людей и в животных моделях на фоне иммунитета к варианту Дельта [8,14]. Также была показана сниженная эффективность широко применяемых вакцин, что приводит к быстрому распространению варианта Омикрон и в популяциях с высоким процентом вакцинированных. При этом была отмечена сниженная патогенность варианта Омикрон. Тем не менее из-за чрезвычайно высокой трансмиссивности вариант Омикрон считается опасным патогеном и необходимо применять все меры предосторожности, профилактики и лечения для защиты населения. Было показано, что дополнительная вакцинация приводила к повышенной защищенности от Омикрона и, что вакцинация эффективно предотвращает развитие тяжелых осложнений [8].

Изучение информации о генетической изменчивости вируса SARS-CoV-2, опубликованной в международной базе данных GISAID EpiCov многими коллективами, и полученной нами в ходе данного исследования, показало, что в ходе пяти пандемических волн рецепторный белок S накапливает помимо мутаций, способствующих увеличению эффективности взаимодействия с клеточными рецепторами и способствующих эффективному проникновению вируса в клетки, еще и мутации, существенно меняющие антигенный профиль этого белка, что способствует уклонению от иммунного ответа, выработанного на предыдущие варианты коронавируса, а также полученного в ходе масштабной иммунизации с использованием вакцин против исходного варианта

коронавируса. Необходимо отметить, что зачастую иммунитет после инфекции не всегда формируется на полноценном уровне, достаточном для полной элиминации вируса из организма, и что через какое-то время переболевший или вакцинированный человек снова становится мишенью для инфекции (в среднем через 6-12 месяцев), а соответственно, и благодатной почвой для возникновения новых мутантных вариантов. Кроме того, коронавирус SARS-CoV-2 может поражать и различные виды животных [44]. По-видимому, эволюция данного вируса приведет к появлению и распространению новых вариантов коронавируса, и Омикрон не является последним эпидемиологически значимым вариантом коронавируса SARS-CoV-2. Масштабная вакцинация человеческой популяции является чрезвычайно важным и эффективным средством защиты от тяжелого течения болезни и осложнений и будет способствовать снижению скорости распространения вируса. По нашему мнению, и опираясь на данные по эффективности основных вакцин против варианта Омикрон, в будущем понадобится введение процедуры контроля и обновления антигенного состава вакцин на уровне ВОЗ с определенной периодичностью, как это делается для гриппа.

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

## Список литературы

1. Zhou P., Yang X.-L., Wang X.-G., Hu B., Zhang L., Zhang W., et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* (2020). 579(7798):270–273.
2. Cucinotta D., Vanelli M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Biomed* (2020). 91(1):157–160.
3. Coronavirus Update (Live). 352,130,563 Cases and 5,614,795 Deaths (the world); 11,108,191 Cases and 326,112 Deaths (Russia) from COVID 19 Virus Pandemic-Worldometer. <https://www.worldometers.info/coronavirus/#countries> (24/01/2022)
4. Komissarov A.B., Safina K.R., Garushyants S.K., Fadeev A.V., Sergeeva M.V., Ivanova A.A., et al. Genomic epidemiology of the early stages of the SARS-CoV-2 outbreak in Russia. *Nat Commun* (2021). 12(1):649. DOI: 10.1038/s41467-020-20880-z.
5. Harvey W.T., Carabelli A.M., Jackson B., Gupta R.K., Thomson E.C., Harrison E.M., et al. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nat Rev Microbiol* (2021). 19(7):409–424. DOI: 10.1038/s41579-021-00573-0.
6. Tracking SARS-CoV-2 variants. <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants> (дата обращения: 26.01.22)



7. Ulrich L., Halwe N.J., Taddeo A., Ebert N., Schön J., Devisme C., et al. Enhanced fitness of SARS-CoV-2 variant of concern Alpha but not Beta. *Nature* (2021). 602(7896):307-313. DOI: 10.1038/s41586-021-04342-0.
8. Willett B.J., Grove J., MacLean O.A., Wilkie C., Logan N., De Lorenzo G., et al. The hyper-transmissible SARS-CoV-2 Omicron variant exhibits significant antigenic change, vaccine escape and a switch in cell entry mechanism. *medRxiv* (2022), DOI: 10.1101/2022.01.03.21268111.
9. <https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global> (дата обращения 22.01.2022).
10. Wall E.C., Wu M., Harvey R., Kelly G., Warchal S., Sawyer C., et al. Neutralising antibody activity against SARS-CoV-2 VOCs B.1.617.2 and B.1.351 by BNT162b2 vaccination. *Lancet* (2021). 397(10292):2331-2333.
11. Peacock T.P., Sheppard C.M., Brown J.C., Goonawardane N., Zhou J., Whiteley M., et al. The SARS-CoV-2 variants associated with infections in India, B.1.617, show enhanced spike cleavage by furin. *bioRxiv* (2021). DOI: 10.1101/2021.05.28.446163.
12. Yuan S., Ye Z.-W., Liang R., Tang K., Zhang A.J., Lu G., et al. The SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant exhibits altered pathogenicity, transmissibility, and fitness in the golden Syrian hamster model. *bioRxiv* (2022). DOI: 10.1101/2022.01.12.476031.
13. Yangyang Y., Liu Y, Shi Zh., Daihai H. A Simple Model to Estimate the Transmissibility of SARS-COV-2 Beta, Delta and Omicron Variants in South Africa (December 20, 2021). SSRN (2021). DOI: 10.2139/ssrn.3989919.
14. Suzuki R., Yamasoba D., Kimura I., Wang L., Kishimoto M., Ito J., et al. Attenuated fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Omicron variant. *Nature* (2022). DOI: 10.1038/s41586-022-04462-1.
15. Lippi G., Mattiuzzi C., Henry B.M. Neutralizing potency of COVID-19 vaccines against the SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant. *J Med Virol.* (2022), DOI: 10.1002/jmv.27575.
16. Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal* (2011). 17:200. DOI: 10.14806/ej.17.1.200.
17. Li H. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. *arXiv* (2013):1303.3997v2
18. Danecek P., Bonfield J.K., Liddle J., Marshall J., Ohan V., Pollard M.O. et al. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience* (2021). 10(2):giab008.
19. Grubaugh N.D., Gangavarapu K., Quick J., Matteson N.L., De Jesus J.G., Main B.J. et al. An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intrahost virus diversity using PrimalSeq and iVar. *Genome Biol.* (2019). 20(1):8. DOI: 10.1186/s13059-018-1618-7.
20. Katoh K., Misawa K., Kuma K., Miyata T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res.* (2002). 30(14):3059-3066. DOI: 10.1093/nar/gkf436.



21. Nguyen L.-T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* (2015) 32:268-274. DOI: 10.1093/molbev/msu300.
22. O'Toole A., Scher E., Underwood A., Jackson B., Hill V., McCrone J.T. et al. Assignment of epidemiological lineages in an emerging pandemic using the pangolin tool. *Virus Evol.* (2021). 7(2):veab064. DOI: 10.1093/ve/veab064.
23. Li H. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics* (2018). 34(18): 3094–3100. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty191.
24. Garrison E., Marth G., Haplotype-based variant detection from short-read sequencing. *arXiv* (2012): 1207.3907.
25. Cingolani P., Platts A., Wang le L., Coon M., Nguyen T., Wang L. et al. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w1118; iso-2; iso-3. *Fly* (2012). 6(2):80-92. DOI: 10.4161/fly.19695.
26. Paradis E., Schliep K. ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics* (2019). 35:526-528.
27. Miles A., pyup.io bot, Murillo R., Ralph P., Harding N., Pisupati R., Rae S., Millar T. scikit-allel: A Python package for exploring and analysing genetic variation data. 2021. DOI: 10.5281/zenodo.4759368.
28. Lu L., Mok B.W., Chen L.L., Chan J.M., Tsang O.T., Lam B.H. et al. Neutralization of SARS-CoV-2 Omicron variant by sera from BNT162b2 or Coronavac vaccine recipients. *Clin Infect Dis.* (2021). ciab1041, DOI: 10.1093/cid/ciab1041.
29. Weisblum Y., Schmidt F., Zhang F., DaSilva J., Poston D., Lorenzi J.C., et al. Escape from neutralizing antibodies by SARS-CoV-2 spike protein variants. *Elife* (2020). 9:e61312. DOI: 10.7554/eLife.61312.
30. D'Agnillo F., Walters K.-A., Xiao Y., Sheng Z.-M., Scherler K., Park J., et al. Lung epithelial and endothelial damage, loss of tissue repair, inhibition of fibrinolysis, and cellular senescence in fatal COVID-19. *Sci Transl Med.* (2021). 13(620):eabj7790.
31. Saito A., Irie T., Suzuki R., Maemura T., Nasser H., Uriu K., et al. Enhanced fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Delta P681R mutation. *Nature* (2022). 602(7896):300-306. DOI: 10.1038/s41586-021-04266-9.
32. Gong S.Y., Chatterjee D., Richard J., Prevost J., Tauzin A., Gasser R., et al. Contribution of single mutations to selected SARS-CoV-2 emerging variants Spike antigenicity. *Virology* (2021). 563:134-145. DOI: 10.1016/j.virol.2021.09.001.
33. Plante J.A., Liu Y., Liu J., Xia H., Johnson B.A., Lokugamage K.G., et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Nature* (2021). 592(7852):116-121. DOI: 10.1038/s41586-020-2895-3.

34. Zhao S., Lou J., Cao L., Zheng H., Chong M.K.C., Chen Z., et al. Quantifying the transmission advantage associated with N501Y substitution of SARS-CoV-2 in the UK: an early data-driven analysis. *J Travel Med* (2021). 28(2):taab011. DOI: 10.1093/jtm/taab011.
35. Zahradník J., Marciano S., Shemesh M., Zoler E., Harari D., Chiaravalli J., et al. SARS-CoV-2 variant prediction and antiviral drug design are enabled by RBD in vitro evolution. *Nat Microbiol* (2021) 6(9):1188–1198. DOI: 10.1038/s41564-021-00954-4.
36. Di Giacomo S., Mercatelli D., Rakhimov A., Giorgi F.M. Preliminary report on severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Spike mutation T478K. *J Med Virol* (2021). 93(9):5638–5643. DOI: 10.1002/jmv.27062.
37. Winger A, Caspari T. The Spike of Concern – The Novel Variants of SARS-CoV-2. *Viruses* (2021). 13(6):1002. DOI: 10.3390/v13061002.
38. Benvenuto D., Angeletti S., Giovanetti M., Bianchi M., Pascarella S., Cauda R., et al. Evolutionary analysis of SARS-CoV-2: how mutation of Non-Structural Protein 6 (NSP6) could affect viral autophagy. *J Infect* (2020). 81(1):e24–27.
39. Beyer D.K., Forero A. Mechanisms of Antiviral Immune Evasion of SARS-CoV-2. *J Mol Biol.* (2021) 167265. DOI: 10.1016/j.jmb.2021.167265.
40. Thorne L.G., Bouhaddou M., Reuschl A.-K., Zuliani-Alvarez L., Polacco B., Pelin A., et al. Evolution of enhanced innate immune evasion by the SARS-CoV-2 B.1.1.7 UK variant. *bioRxiv* (2021). DOI: 10.1101/2021.06.06.446826.
41. Wu J., Shi Y., Pan X., Wu S., Hou R., Zhang Y., et al. SARS-CoV-2 ORF9b inhibits RIG-I-MAVS antiviral signaling by interrupting K63-linked ubiquitination of NEMO. *Cell Rep* (2021). 34(7):108761.
42. Leary S., Gaudieri S., Parker M.D., Chopra A., James I., Pakala S., et al. Generation of a novel SARS-CoV-2 sub-genomic RNA due to the R203K/G204R variant in nucleocapsid: homologous recombination has potential to change SARS-CoV-2 at both protein and RNA level. *Pathog Immun.* (2021). 6(2):27-49. DOI: 10.20411/pai.v6i2.460.
43. Mourier T., Shuaib M., Hala S., Mfarrej S., Alofi F., Naeem R., et al. SARS-CoV-2 genomes from Saudi Arabia implicate nucleocapsid mutations in host response and increased viral load. *Nat Commun.* (2022). 13(1):601. DOI: 10.1038/s41467-022-28287-8.
44. Abdel-Moneim A.S., Abdelwhab E.M. Evidence for SARS-CoV-2 Infection of Animal Hosts. *Pathogens* (2020). 9(7):529. DOI: 10.3390/pathogens9070529.