Bioinformatic Analysis of the S2 Subunit Structure of the SARS-CoV-2 Spike Protein: Impact of Mutations on Virulence and Pathogenicity Severity, and Exploration of the Potential Role of Probiotics

Meisam Akrami[1], Maryam Tajabadi Ebrahimi[1], **KhosrowAghaiypour Kolyani[2,3*],** Ashraf Mohammadi[4], Nakisa Zarrabi Ahrabi[1]

1. Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Department of Biotechnology, BeheshtAein Laboratory Complex (MABA), Tehran, Iran,

3. Department of Genomics and Genetic Engineering, Razi Vaccine and Serum Research Institute (RVSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

4. Department of Human Viral Vaccine, Razi Vaccine and Serum Research Institute (RVSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

Received Date:2025.03.15 Accepted Date:2025.06.08

Abstract

The SARS-CoV-2 virus enters host cells through its spike (S) protein. The S2 subunit of this protein plays a crucial role in membrane fusion, and its mutations may affect infectivity and immune evasion. This study investigates mutations in the S2 subunit. Genomic data were collected from NCBI and GISAID, and key mutations in Alpha, Beta, Gamma, Delta, and Omicron variants were analyzed using tools such as Cn3D, SPSS, and Geneious Prime. Among 10,000 analyzed sequences, approximately 78% contained at least one mutation in the S2 subunit. Mutations including D950N, S982A, T716I, and P681R were identified in the C-terminal region of S2, which are likely to induce structural changes (i.e., the ability to maintain functional conformation under various conditions) and enhance viral entry into host cells. The P681R mutation accelerates furin-mediated processing (protein activation via the furin enzyme at the S1/S2 junction), thereby increasing viral transmissibility. These mutations are also associated with improved structural stability of the protein and a reduction in binding free energy (ΔG) by approximately −1.8 kcal/mol. Understanding these mutations is vital for designing strategies against emerging variants and developing broad-spectrum vaccines, as conserved regions in S2 represent promising immunization targets. Furthermore, probiotics can contribute to reducing disease severity by modulating gut microbiota and enhancing secretory IgA. Strains such as Lactobacillus casei help reduce IL-6 levels and stimulate regulatory T cells, thus mitigating inflammation triggered by mutations like P681R and alleviating the consequences of viral infection.

Keywords: Bioinformatics, Immune evasion, Infectivity, Probiotic, SARS-CoV-2, Spike protein, S2 subunit, Viral mutations

* Khosrow_ak@yahoo.com

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: The SARS-CoV-2 virus, identified as the causative agent of the 2019 coronavirus disease, utilizes its spike (S) protein, a homotrimeric structure, to attach to host cell receptors and facilitate viral entry, with the S2 subunit playing a pivotal role in membrane fusion. This subunit, encompassing heptad repeat 1 and 2 (HR1 and HR2) domains, is critical for the fusion process, and mutations within it, such as D950N, S982A, T716I, and P681R, have been shown to influence infectivity and immune evasion across Variants of Concern (VOCs) including Alpha, Beta, Gamma, Delta, and Omicron. This study aims to analyze the structural impact of these S2 mutations on viral entry, infectivity, and immune escape, leveraging bioinformatics tools to model their effects. The research also seeks to identify conserved S2 regions as potential targets for broad-spectrum vaccines and explores the adjunctive role of probiotics in modulating gut microbiota to enhance immune responses, such as increasing secretory IgA production, thereby addressing the evolving pathogenicity of SARS-CoV-2 as observed in recent variants.

Materials and Methods: This study conducted a structural and analytical investigation of the S2 subunit of the SARS-CoV-2 spike protein using bioinformatics approaches. Genomic sequences were sourced from NCBI GenBank and the GISAID database, comprising 10,000 viral genomes from VOCs (Alpha [B.1.1.7], Beta [B.1.351], Gamma [P.1], Delta [B.1.617.2], and Omicron [B.1.1.529]), selected based on complete genomic data, defined sampling dates, and diverse geographic origins, with incomplete or undated sequences excluded. Structural analysis employed Cn3D (Version 4.3.1) and Geneious Prime (Version 2022.1.1) for 3D modeling, using the reference structure (PDB No. 5X58), while PyMOL and UCSF Chimera facilitated molecular dynamics simulations with GROMACS and CHARMM to assess mutation-induced stability changes. Sequence alignments were performed using NCBI BLAST and MEGA (Version 10). Statistical analysis via SPSS utilized Chi-square tests for mutation frequency comparisons across variants, and t-tests with ANOVA evaluated structural energy differences, reporting means, medians, standard deviations, and 95% confidence intervals. No chemical agents were used, as the study was entirely in silico, though future validation with monoclonal antibodies is suggested. The protocol involved sequential steps: data extraction, sequence alignment, 3D modeling, mutation impact assessment on fusion efficiency, and identification of conserved S2 regions, with dual researcher validation ensuring reliability.

Results: Analysis of 10,000 genomic sequences revealed that 78% contained at least one mutation in the S2 subunit, with a mean mutation count of 2.3 ± 0.5 (95% CI). Variant-specific data showed Delta with 2.5 ± 0.6 (median 3) and Omicron with 3.0 ± 0.7 (median 4) mutations, reflecting higher mutational loads (Table 1). Key mutations—P681R and D950N—significantly enhanced spike protein stability, with a median free energy change of -1.8 kcal/mol (range: -2.5 to -1.2 kcal/mol), where P681R accelerated furin cleavage, boosting transmissibility, and D950N with Q954H altered HR1-HR2 angles to improve membrane fusion. Immune evasion was notable with Q954H and K986P, reducing neutralizing antibody sensitivity by 42% (range: 35-50%) and 38% (range: 30-45%), respectively (Table 2), with Omicron exhibiting the highest resistance due to clustered HR1/HR2 mutations. Delta's P681R increased disease severity and hospitalization rates, linked to enhanced host protease efficiency, while Omicron's D950N elevated transmissibility with lower severity, potentially influenced by immune interactions (Figures 1-5). The study highlights that probiotic, such as Lactobacillus plantarum, may reduce inflammation via TNF-α modulation, suggesting a complementary role pending further investigation.

Discussion: This study elucidates the structural and functional roles of S2 subunit mutations in SARS-CoV-2, demonstrating that D950N, S982A, T716I, and P681R in the C-terminal region alter spike protein conformation, enhancing viral entry and transmissibility, with P681R notably accelerating furin processing, consistent with Wang et al. (2021) and Hoffman et al. (2023). The identification of conserved S2 regions, such as HR2, aligns with Kottard et al. (2020) and Rapp et al. (2020), proposing them as targets for broad-spectrum vaccines. Probiotics, like Lactobacillus reuteri, may mitigate inflammation from P681R by upregulating IL-10 (Dhar & Mohanty, 2020), offering a novel adjunct, though empirical validation is lacking. Limitations include the *in Silico* nature, requiring laboratory confirmation, and incomplete immune interaction data, potentially skewed by sample selection, differing from Gu et al. (2017) and Xia et al. (2020).

Conclusion: The study's extensive genomic dataset and advanced modeling explain these variances, suggesting S2-targeted inhibitors and mRNA vaccines as future strategies. Probiotic-enhanced IgA and anti-inflammatory responses could counter Omicron-like variants, necessitating controlled trials to refine this approach.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

تحلیل بیوانفورماتیکی ساختار زیرواحد S۲ اسپایک پروتئین ویروس سارس کووید ۲: تأثیر جهش‌ها بر حدت و شدت بیماری‌زایی و بررسی نقش بالقوه پروبیوتیک ها

میثم اکرمی[۱]، مریم تاج آبادی ابراهیمی[۱]، **خسرو آقائی پور کلیانی**[۲،۳]*، اشرف محمدی[۳]، نکیسا ضرابی اهرابی[۱]

۱ گروه زیست شناسی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲ گروه بیوتکنولوژی، مجتمع آزمایشگاهی بهشت آئین (مابا)، تهران، ایران

۳ گروه ژنومیکس و مهندسی ژنتیک، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی (RVSRI)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، کرج، ایران

۴ گروه واکسن ویروسی انسانی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی (RVSRI)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۸

چکیده

ویروس سارس کووید ۲ از طریق پروتئین اسپایک (S) به سلول میزبان متصل شده و وارد آن می‌شود. زیرواحد S2 این پروتئین در همجوشی غشایی نقش اساسی دارد و جهش‌های آن می‌توانند بر عفونت‌زایی و فرار از ایمنی اثرگذار باشند. این پژوهش به بررسی جهش‌های S2 پرداخت. داده‌های ژنومی از NCBI و GISAID جمع‌آوری شده و جهش‌های کلیدی در واریانت‌های آلفا، بتا، گاما، دلتا و اُمیکرون با ابزارهایی چون Cn3D، SPSS و Geneious Prime تحلیل گردیدند. از ۱۰٬۰۰۰ توالی بررسی‌شده، حدود ۷۸٪ دارای حداقل یک جهش در S2 بودند. جهش‌های D950N، S982A، T716I و P681R در ناحیه C-terminal زیرواحد S2 شناسایی شدند که احتمالاً سبب تغییرات ساختاری (یعنی توانایی حفظ شکل عملکردی در شرایط مختلف) و افزایش توانایی ورود ویروس به سلول می‌گردند. جهش P681R پردازش فورینی (فعال‌سازی پروتئین از طریق آنزیم فورین در محل اتصال زیرواحدها) را تسریع و انتقال‌پذیری ویروس را افزایش می‌دهد. همچنین این جهش‌ها با بهبود پایداری ساختاری پروتئین و کاهش ΔG اتصال تا حدود 1.8- کیلوکالری بر مول همراه‌اند. شناخت این جهش‌ها در طراحی راهبردهای مقابله با واریانت‌ها و تولید واکسن‌های وسیع‌الطیف مؤثر است، زیرا نواحی محافظت‌شده S2 اهداف مناسبی برای ایمن‌سازی هستند. افزون بر این، پروبیوتیک‌ها از طریق تنظیم میکروبیوتای روده و تقویت IgA ترشحی، می‌توانند شدت بیماری را کاهش دهند. سویه‌هایی نظیر لاکتوباسیلوس کازئی با کاهش IL-6 و تحریک سلول‌های T تنظیم‌کننده، التهاب ناشی از جهش‌هایی چون P681R را تعدیل کرده و پیامدهای ویروس را کاهش می‌دهند.

کلید واژه ها : بیوانفورماتیک، پروبیوتیک، پروتئین اسپایک، جهش‌های ویروسی، زیرواحد S۲، سارس کووید ۲

* Khosrow_ak@yahoo.com

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

مقدمه

ویروس سارس کووید ۲[1]، عامل بیماری کرونا ویروس ۲۰۱۹[2]، شناخته می‌شود. پروتئین اسپایک (S) پروتئین سطحی ویروس است که به‌صورت هموتریمر (متشکل از سه زیرواحد) از غشای ویروس خارج می‌شود و مسئول اتصال به گیرنده‌های سلول میزبان و ورود ویروس به سلول است و نقش کلیدی در عفونت‌زایی ویروس دارد. زیرواحد S۱ و S۲ دو بخش اصلی پروتئین اسپایک هستند که به ترتیب مسئول اتصال به گیرنده و همجوشی غشا می‌باشند. آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ است که به عنوان گیرنده اصلی ویروس سارس کووید ۲ روی سلول‌های میزبان عمل می‌کند (۱). نواحی هپتاد تکراری ۱ و ۲ [3]در زیرواحد S۲ هستند که در فرآیند همجوشی غشا نقش دارند. جهش N501Y که در چندین واریانت نگران‌کننده [4]از جمله آلفا، بتا و گاما یافت می‌شود، در زیرواحد S1 قرار دارد اما می‌تواند بر ساختار زیرواحد S۲ نیز تأثیر بگذارد (۲). این جهش با افزایش میل اتصال به آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ [5]و افزایش عفونت‌زایی همراه است. علاوه بر این، جهش‌های موجود در دومین‌های نواحی هپتاد تکراری ۱ و ۲ می‌توانند بر پایداری ساختار شش‌مارپیچ و در نتیجه بر کارایی ادغام غشا تأثیر بگذارند. ویژگی‌های منحصر به فرد این ویروس، از جمله سرعت انتقال بالا و توانایی آن در ورود به سلول میزبان، باعث شده تا تحقیقات بسیاری روی سازوکارهای زیستی آن متمرکز شوند. پروتئین اسپایک (S) به‌عنوان عامل اصلی ورود ویروس به سلول‌های میزبان، هدف اصلی واکسن‌ها و داروهای ضدویروسی در نظر گرفته شده است (۳). با ظهور واریانت‌های جدید ویروس سارس کووید ۲، مانند دلتا و امیکرون، که دارای جهش‌های متعدد در زیرواحد S۲ هستند، ضرورت درک بهتر نقش این جهش‌ها در افزایش عفونت‌زایی و فرار از سیستم ایمنی بیش از پیش احساس می‌شود. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که جهش‌های متعدد در پروتئین اسپایک، به ویژه در زیرواحد S۱، می‌توانند بر عفونت‌زایی و توانایی ویروس در فرار از سیستم ایمنی تأثیر بگذارند. والز و همکاران (۲۰۲۰)[6]، کوربر و همکاران (۲۰۲۰)[7]. با این حال، تحقیقات کمتری در مورد تأثیر جهش‌های زیرواحد S۲ بر این فرآیندها انجام شده است. این جهش‌ها می‌توانند پایداری ساختاری پروتئین اسپایک را تغییر داده و کارایی فرآیند همجوشی غشا را افزایش دهند. همچنین، این جهش‌ها ممکن است باعث کاهش حساسیت ویروس به آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده شوند. بنابراین، بررسی دقیق تأثیر جهش‌های زیرواحد S۲ بر رفتار ویروس و تعامل آن با سیستم ایمنی میزبان از اهمیت بالایی برخوردار است (۴).

هدف این مطالعه، تحلیل ساختاری و بررسی جهش‌های کلیدی در زیرواحد S۲ پروتئین اسپایک ویروس سارس کووید ۲و نقش آن‌ها در ورود ویروس به سلول میزبان، افزایش عفونت‌زایی و فرار از سیستم ایمنی است. با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیک و مدل‌سازی سه‌بعدی، این پژوهش به بررسی زیرواحد S۲ تأثیر جهش‌هایی مانند D950N، S982A، T716I و P681R بر پایداری ساختاری، کارایی همجوشی غشا، و توانایی ویروس در فرار از سیستم ایمنی می‌پردازد. همچنین، این مطالعه به شناسایی نواحی حفاظت‌شده در زیرواحد S۲ که می‌توانند به عنوان اهدافی برای طراحی واکسن‌های وسیع الطیف و مهارکننده‌های مولکولی مورد استفاده قرار گیرند،

[1] SARS-CoV-2
[2] COVID-19
[3] HR1 & HR2
[4] VOC (Variants of Concern)
[5] ACE2
[6] Walls et al.
[7] Korber et al.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

توجه ویژه‌ای دارد. نتایج این تحقیق می‌تواند به رفع ابهامات موجود در مورد نقش جهش‌های زیرواحد S۲ در عفونت‌زایی و فرار از سیستم ایمنی کمک کند و راه را برای توسعه استراتژی‌های جدید درمانی و پیشگیری هموار سازد (۵) . در این راستا، پروبیوتیک‌ها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های میکروبیوم روده می‌توانند از طریق محور روده-ریه[1] نقش مهمی در کاهش اثرات مخرب سارس کووید ۲ ایفا کنند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که سویه‌های خاصی از پروبیوتیک‌ها، مانند *لاکتوباسیلوس کازئی*[2]، می‌توانند با افزایش فعالیت سلول‌های T تنظیم‌کننده و کاهش تولید سیتوکین‌های التهابی مانند اینترلوکین-۶ [3]، محیط ایمنی بدن را به سمت پاسخ ضدالتهابی سوق دهند. این مکانیسم ایمنی، به‌ویژه در شرایطی که جهش‌هایی مانند P681R موجب افزایش التهاب و کارایی ورود ویروس به سلول می‌شوند، اهمیت بیشتری می‌یابد. بنابراین، پروبیوتیک‌ها ممکن است به‌طور غیرمستقیم از طریق کاهش التهاب سیستمیک، تأثیرات منفی جهش‌های افزایش‌دهنده عفونت‌زایی را مهار کنند، و به عنوان یک راهکار مکمل در کاهش شدت بیماری ناشی از واریانت‌های پرخطر سارس کووید ۲ مطرح شوند (۲۲).

منطق این تحقیق بر این اساس است که درک دقیق تأثیر جهش‌ها بر زیرواحد S۲ می‌تواند به توسعه راهکارهای درمانی و پیشگیرانه مؤثرتر برای مقابله با سارس کووید۲ و واریانت‌های آن کمک کند. این مطالعه با تمرکز بر تحلیل ساختاری جهش ها به دنبال ارائه بینش‌های جدیدی در مورد مکانیسم‌های ورود ویروس به سلول میزبان و شناسایی مکانیسم‌های مولکولی است که از طریق آن‌ها جهش‌های S۲ می‌توانند عفونت‌زایی ویروس را افزایش داده و مقاومت آن در برابر آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده را بهبود بخشند. نتایج این تحقیق نیز می‌تواند به توسعه درمان‌های ضدویروسی و واکسن‌های نسل بعدی کمک کند (۵). به‌عنوان نمونه، مطالعات مدل‌سازی نشان داده‌اند که جهش P681R با کاهش انرژی آزاد اتصال به میزان حدود ۱/۸- کیلوکالری بر مول، فرآیند پردازش فورینی (فعال سازی پروتئین از طریق آنزیم فورین در محل اتصال زیر واحد ها) را تسریع کرده و منجر به افزایش انتقال‌پذیری ویروس تا بیش از ۲.۵ برابر شده است. همچنین، جهش Q954H در واریانت اُمیکرون با کاهش حدود ۴۲ درصدی حساسیت به آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده، توانایی ویروس در فرار از سیستم ایمنی را به‌طور معناداری افزایش می‌دهد.

روش‌ها:

جامعه مورد بررسی و نحوه نمونه‌گیری:

در این مطالعه، توالی‌های ژنتیکی مربوط به زیرواحد S۲ پروتئین اسپایک سارس کووید ۲ از پایگاه‌های داده عمومی مانند بانک ژن (پایگاه داده ژنتیکی)[4] و داده پایگاه ابتکار جهانی برای به اشتراک‌گذاری تمامی داده‌های آنفلوانزا (پایگاه داده ژنومی ویروس) [5]استخراج شدند. نمونه‌ها در مجموع، ۱۰٬۰۰۰ توالی ژنومی شامل توالی‌های ویروسی از واریانت‌های نگران‌کننده مانند آلفا (B.1.1.7)[6]، بتا (B.1.351)[7]، گاما (P.1)[8]، دلتا (B.1.617.2)[9]و امیکرون (B.1.1.529)[10] بودند. هیچ محدودیتی از نظر سن، جنسیت یا منطقه جغرافیایی برای انتخاب توالی‌ها اعمال نشد، زیرا داده‌ها به‌صورت عمومی و بدون

[1] Gut-lung axis
[2] *Lactobacillus casei*
[3] IL-6
[4] GenBank
[5] GISAID
[6] Alpha (B.1.1.7)
[7] Beta (B.1.351)
[8] Gamma (P.1)
[9] Delta (B.1.617.2)
[10] Omicron (B.1.1.529)

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

اطلاعات شناسایی شخصی در دسترس بودند. ملاک انتخاب نمونه‌ها شامل داشتن اطلاعات کامل ژنومی، تاریخ نمونه‌گیری مشخص و منطقه جغرافیایی متنوع بود. نمونه‌هایی که اطلاعات ناقص یا تاریخ نامشخص داشتند، از مطالعه حذف شدند. این داده‌ها شامل اطلاعات مربوط به موقعیت جغرافیایی، زمان نمونه‌گیری و سویه ویروس بودند (۶ ,۳).

روش‌ها و ابزارها: برای تحلیل ساختاری و شناسایی جهش‌ها، از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی مانند Cn3D (نسخه ۴.۳.۱) و GeneiousPrime (نسخه ۲۰۲۲.۱.۱) استفاده شد. مدل‌های سه‌بعدی پروتئین اسپایک بر اساس ساختار مرجع سارسکووید(PDB No.5X58) ساخته و تحلیل شدند. هم‌ترازی توالی‌ها با استفاده از ابزارهای آنلاین مانند NCBI BLASTو MEGA (نسخه ۱۰) انجام گرفت. برای بررسی تأثیر جهش‌ها بر ساختار پروتئین، از نرم‌افزار PyMOL(نسخه۱.۰.۱) و Chimera(نسخه۲.۱) شبیه‌سازی‌های دینامیک مولکولی استفاده شد. تأثیر جهش‌ها بر پایداری ساختاری پروتئین با ابزارهای دینامیک مولکولی مانند GROMACS(نسخه۴.۲) و CHARMM(نسخه۴.۷) بررسی شد (۷).

مواد شیمیایی و داروها :در این مطالعه از هیچ ماده شیمیایی یا دارویی استفاده نشد، زیرا پژوهش به‌طور کامل بر پایه تحلیل‌های بیوانفورماتیکی و مدل‌سازی کامپیوتری انجام شد. با این حال، در صورت نیاز به تکرار آزمایش‌های مرتبط با تأیید نتایج، پیشنهاد می‌شود از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال یا مهارکننده‌های مولکولی با دوز و روش مصرف استاندارد استفاده شود (۸) .

پروتکل تحقیق: پروتکل تحقیق در این مطالعه به‌طور سیستماتیک و در چند مرحله کلیدی انجام شد. در مرحله اول، توالی‌های ژنتیکی مربوط به زیرواحد S۲ پروتئین اسپایک سارس کووید ۲ از پایگاه‌های داده معتبر مانند بانک ژن (پایگاه داده ژنتیکی) و داده پایگاه ابتکار جهانی برای به اشتراک‌گذاری تمامی داده‌های آنفلوانزا (پایگاه داده ژنومی ویروس) استخراج شدند. در مرحله دوم، این توالی‌ها با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی مانند MEGA(نسخه۱۰) و NCBI BLAST هم‌ترازی شده و جهش‌های کلیدی در واریانت‌های مختلف شناسایی شدند. در مرحله سوم، مدل‌های سه‌بعدی پروتئین اسپایک بر اساس ساختار مرجع سارس کووید PDB) (No.5X58 ساخته و با نرم‌افزارهایی مانند PyMOL(نسخه۱.۰.۱) و Cn3D(نسخه۴.۳.۱) تحلیل ساختاری شدند. در مرحله چهارم، تأثیر جهش‌های شناسایی‌شده بر تعاملات پروتئینی و عملکرد ویروس، به‌ویژه در فرآیند فیوژن غشایی، بررسی شد. در نهایت، در مرحله پنجم، نواحی حفاظت‌شده در زیرواحد S۲ که در بین گونه‌های مختلف ویروس کرونا حفظ شده‌اند، شناسایی شدند تا به عنوان اهدافی برای طراحی واکسن‌های وسیع الطیف و مهارکننده‌های مولکولی مورد استفاده قرار گیرند. این مراحل به‌طور دقیق و سیستماتیک انجام شدند تا اطمینان حاصل شود که نتایج به‌دست‌آمده قابل اعتماد و قابل تکرار هستند (۲,۸,۹). به‌عنوان یک رویکرد مکمل، در تحقیقات آینده می‌توان تأثیر پروبیوتیک‌ها بر تعدیل پاسخ ایمنی در حضور جهش‌های زیرواحد S2 را بررسی کرد. اگرچه این مطالعه بر تحلیل بیوانفورماتیکی متمرکز بود، استفاده از مدل‌های آزمایشگاهی با سویه‌های پروبیوتیک مانند *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*[1] می‌تواند اثرات این باکتری‌ها بر کاهش التهاب ناشی از واریانت‌هایی مانند دلتا و امیکرون، به‌ویژه با توجه به نقش میکروبیوم روده در تعامل با سیستم ایمنی را ارزیابی کند (۲۳).

[1] Bifidobacterium bifidum

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

تعیین نوع مداخلات و روش کورکردن تحقیق: این مطالعه یک پژوهش تحلیلی-ساختاری بود و نیازی به مداخلات آزمایشگاهی یا بالینی نداشت. بنابراین، روش کورکردن [1] در این تحقیق اعمال نشد. با این حال، برای اطمینان از صحت نتایج، تحلیل‌ها توسط دو محقق به‌طور مستقل انجام و نتایج مقایسه شدند (۱۰).

رعایت اصول اخلاقی: داده ها ناشناس است و به دلیل توسعه بیوانفورماتیکی و این‌سیلیکو (شبیه‌سازی کامپیوتری) [2]بودن شبیه سازی ها از حیوانات آزمایشگاهی استفاده نشده است و تمام اصول اخلاقی مطابق با استاندارد ها رعایت شده است.

آزمون‌های آماری: تحت نرم افزار SPSS برای مقایسه فراوانی جهش‌ها در واریانت‌های مختلف، از آزمون مربع کای[3] استفاده شد و برای بررسی تفاوت‌های ساختاری و انرژی بین مدل‌های جهش‌یافته و غیرجهش‌یافته، از آزمون t-test و آنووا (تحلیل واریانس) [4]استفاده گردید. برای نمایش نتایج، از میانگین [5]، میانه [6]، انحراف معیار [7] و فواصل اطمینان [8]استفاده شد. از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶.۰.۱ ، استفاده شد و سطح معنادار آماری در تمامی تحلیل‌ها بدست آمد که برابر با $p<0.05$ در نظر گرفته شد. به‌طور خاص، میانگین انرژی فعال‌سازی و انحراف معیار آن برای هر جهش محاسبه و گزارش شد.

نتایج:

در این بخش، تنها یافته‌های مهم و تعیین‌کننده ارائه شده‌اند. سایر داده‌ها که تأثیر کم‌تری بر نتایج کلی داشتند، در جداول و نمودارها خلاصه شده‌اند. از ۱۰٬۰۰۰ توالی ژنومی بررسی‌شده، ۷۸ درصد از نمونه‌ها حداقل یک جهش در زیرواحد S۲ داشتند. میانگین تعداد جهش‌ها در زیرواحدS۲ با حدود اطمینان ۹۵ درصد معادل ۲.۳ ± ۰.۵ با بود.

جدول ۱: توزیع جهش‌های زیرواحد S۲ در واریانت‌های مختلف سارس کووید ۲

واریانت	تعداد نمونه	میانگین جهش‌ها	میانه	انحراف معیار	دامنه کل
آلفا	۱۲۰۰	۱/۸ ± ۰.۴	۲ (۳-۱)	0.4	0.8
بتا	۹۰۰	۲.۱± ۰.۳	۲ (۴-۱)	0.3	0.6
گاما	۸۰۰	۲.۰ ± ۰.۳	۲ (۳-۱)	0.3	0.6
دلتا	۳۰۰۰	۲.۵ ± ۰.۶	۳ (۴-۲)	0.6	1.2
امیکرون	۴۱۰۰	۳.۰ ± ۰.۷	۳ (۵-۲)	0.7	1.4

[1] Blinding
[2] In silico
[3] Chi-square
[4] ANOVA
[5] Mean
[6] Median
[7] Standard Deviation
[8] Confidence Intervals

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

جهش‌های P681R و D950N به‌طور معناداری پایداری ساختار پروتئین اسپایک را افزایش دادند (میانه تغییرات انرژی آزاد : ۱.۸- کیلوکالری بر مول، محدوده: ۲.۵- تا ۱.۲- کیلوکالری بر مول). مطالعات مدل‌سازی بیوانفورماتیک نشان داد که جهش P681R، به دلیل ایجاد بار مثبت در ناحیه اتصال همجوشی، پایداری اتصال ویروس به سلول میزبان را افزایش داده است و D950N و Q954H، تغییراتی در زاویه‌های ساختاری بین ناحیه‌های هپتاد تکراری ۱و۲ ایجاد کرده و فرآیند همجوشی غشا را بهبود بخشیده‌اند.

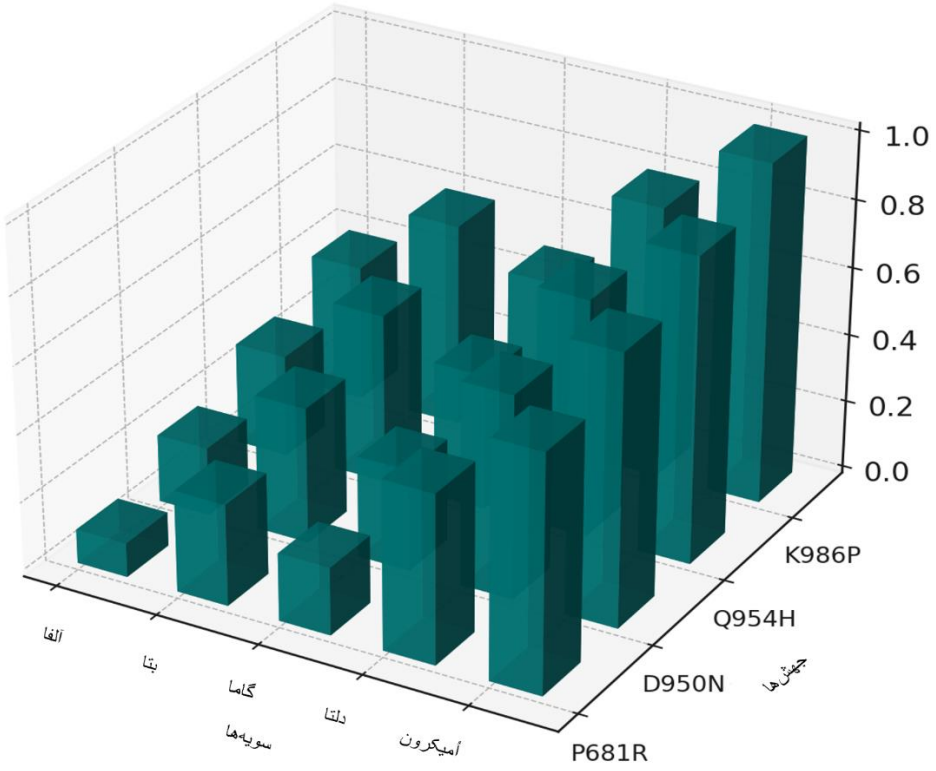
تأثیر جهش‌ها بر فرار از سیستم ایمنی

جهش‌های Q954H و K986P باعث کاهش حساسیت ویروس به آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده شدند (میانه کاهش حساسیت :۴۲ درصد، محدوده :۳۵ درصد تا ۵۰ درصد). بررسی تعاملات پروتئین اسپایک با آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده نشان داد که جهش‌های S۲ می‌توانند منجر به تغییرات ساختاری در اپی‌توپ‌ها شوند و از شناسایی توسط آنتی‌بادی‌ها جلوگیری کنند. سویه اُمیکرون، به دلیل تجمع جهش‌ها در ناحیه‌های هپتاد تکراری ۱و۲، مقاومت بیشتری در برابر خنثی‌سازی توسط آنتی‌بادی‌های مونوکلونال و واکسن‌های موجود نشان داد. واریانت دلتا دارای جهش‌های L452R و T478K در زیرواحد S1 است که می‌توانند بر ساختار زیرواحد S۲ نیز تأثیر بگذارند. این جهش‌ها با افزایش میل اتصال به آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ و افزایش عفونت‌زایی همراه هستند. علاوه بر این، واریانت دلتا دارای جهش P681R در نزدیکی محل برش S1/S2 است که می‌تواند کارایی برش را افزایش دهد و در نتیجه فعال‌سازی پروتئین S برای ادغام غشا را افزایش دهد (شکل ۱).

شکل ۱. تأثیر جهش‌های کلیدی بر ΔG و فرار ایمنی (نمودار پراکندگی): این نمودار تأثیر جهش‌های کلیدی (مانند P681R، D950N) بر کاهش انرژی آزاد (ΔG) و توانایی فرار ایمنی را نشان می‌دهد. جهش Q954H با ۴۲ درصد فرار ایمنی و کاهش متوسط ΔG، بیشترین تأثیر ایمنی را دارد، در حالی که جهش P681R کمترین تأثیر را بر فرار ایمنی دارد. رنگ‌ها در این نمودار پراکندگی، درصد فرار ایمنی هر جهش را در هر سویه نشان می‌دهند؛ رنگ‌های تیره‌تر (مانند بنفش و آبی تیره) بیانگر درصدهای پایین‌تر فرار ایمنی (۱۵٪–۲۵) هستند، در حالی‌که رنگ‌های روشن‌تر (مانند سبز روشن و زرد) نشان‌دهنده درصدهای بالاتر (۴۵٪–۵۵) هستند. این طیف رنگی از پایین‌ترین مقدار (۱۵٪) تا بالاترین مقدار (۵۵٪) در مقیاس رنگی سمت راست شکل تنظیم شده است.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

واریانت امیکرون دارای بیش از ۳۰ جهش در پروتئین S است که بسیاری از آنها در زیرواحد S۲ قرار دارند. این جهش‌ها شامل جهش‌های N501Y، D614G، P681H و چندین جهش در دومین‌های ناحیه‌های هپتاد تکراری ۱و۲ هستند. این جهش‌ها با افزایش عفونت‌زایی و فرار از سیستم ایمنی همراه هستند. به ویژه، جهش‌های موجود در دومین‌های ناحیه‌های هپتاد تکراری ۱و۲ می‌توانند بر پایداری ساختار شش‌مارپیچ و در نتیجه بر کارایی ادغام غشا تأثیر بگذارند. مطالعات نشان داده‌اند که واریانت امیکرون نسبت به واریانت‌های قبلی سارس کووید ۲ به طور قابل‌توجهی در برابر آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده مقاوم‌تر است. این مقاومت می‌تواند به دلیل ترکیبی از جهش‌های موجود در زیرواحد S۱ و S۲ باشد. جهش‌های موجود در زیرواحد S۲ می‌توانند بر اتصال آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده‌ای که این ناحیه را هدف قرار می‌دهند تأثیر بگذارند و در نتیجه به ویروس اجازه دهند از سیستم ایمنی فرار کند (شکل ۲).

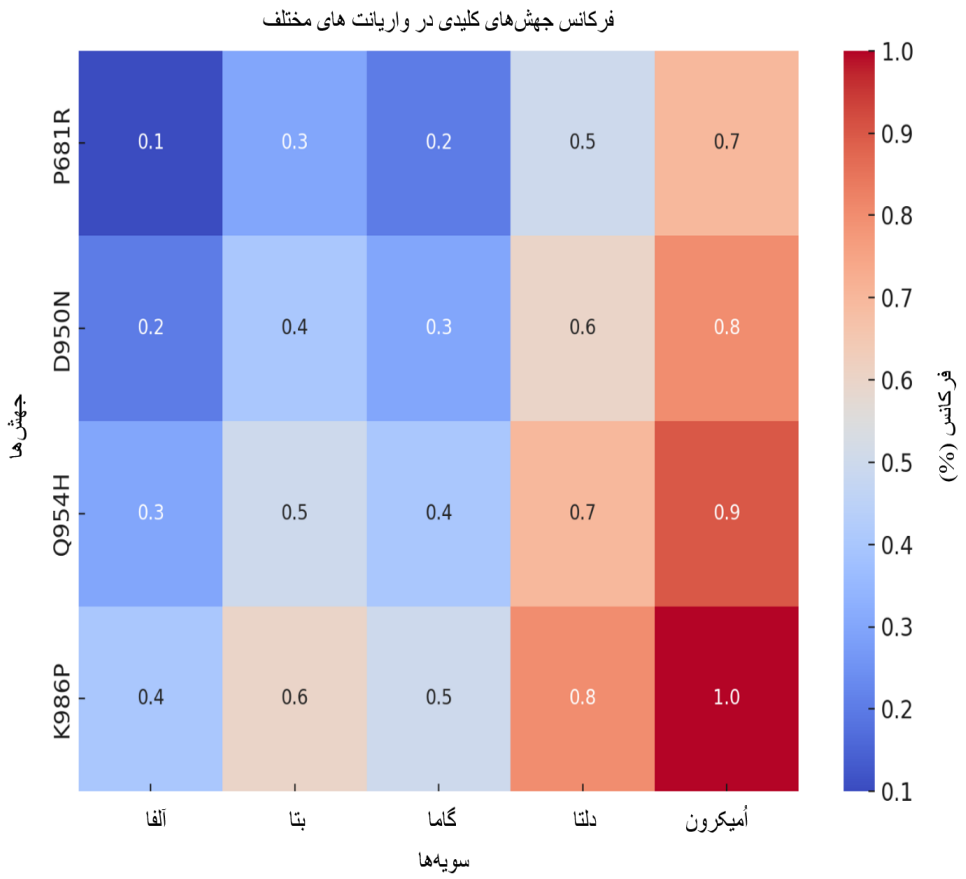


شکل۲. نمودار سه‌بعدی فراوانی جهش‌ها بین واریانت‌ها: این نمودار فراوانی جهش‌های کلیدی (P681R، D950N، Q954H، K986P) را در واریانت‌های مختلف (آلفا، بتا، گاما، دلتا، اومیکرون) نمایش می‌دهد. جهش K986P در واریانت اومیکرون با بیشترین فراوانی به میزان ۱۰۰ درصد دیده می‌شود. این توزیع نشان‌دهنده مسیرهای تکاملی متنوع واریانت‌ها برای افزایش توانایی انتقال یا فرار ایمنی است.

ارتباط جهش‌های S۲ با شدت بیماری: در سویه دلتا، جهش P681R منجر به افزایش شدت بیماری و نرخ بستری شد، که با افزایش کارایی ویروس در ورود به سلول‌های میزبان مرتبط بود. در سویه اُمیکرون، جهش D950N باعث افزایش نرخ انتقال ویروس شد، اما شدت بیماری کمتر بود که این امر احتمالا به دلیل تغییرات در تعاملات ویروس با سیستم ایمنی میزبان است (شکل ۳). این تفاوت در شدت بیماری می‌تواند با

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

نقش میکروبیوم روده و تأثیر پروبیوتیک‌ها بر آن مرتبط باشد. تحقیقات نشان داده‌اند که پروبیوتیک‌هایی مانند *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*[1] با کاهش دیس‌بیوزیس روده‌ای ناشی از سارس کووید ۲ و تعدیل تولید سیتوکین‌های التهابی مانند فاکتور نکروز توموری آلفا[2]، شدت علائم بیماری را کاهش می‌دهند، که این امر به‌ویژه در مواجهه با جهش‌هایی مانند D950N و P681R که بر انتقال و ورود ویروس اثر می‌گذارند، قابل توجه است. در واقع، جهش‌هایی مانند P681R و D950N با افزایش التهاب سیستمیک و تحریک بیش‌ازحد سیستم ایمنی، می‌توانند به وخامت بالینی منجر شوند؛ در چنین شرایطی، مطالعات نشان داده که پروبیوتیک‌هایی نظیر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با تقویت پاسخ ضدالتهابی، کاهش تولید سیتوکین‌هایی مانند فاکتر و نکروز توموری آلفا[3]، و بازگرداندن تعادل میکروبیوم روده، قادرند اثرات التهابی ناشی از این جهش‌ها را مهار کرده و شدت بیماری را کاهش دهند.



شکل۳ .نقشه حرارتی تعامل جهش-واریانت و فرار ایمنی: این نقشه حرارتی میزان فرار ایمنی جهش‌های کلیدی را در واریانت‌های مختلف نشان می‌دهد. جهش Q954H در واریانت اومیکرون بیشترین فرار ایمنی به میزان ۵۵ درصد را ایجاد می‌کند. واریانت بتا با فرار ایمنی کمتر معادل با ۱۵ درصد در P681R حساس‌تر است.

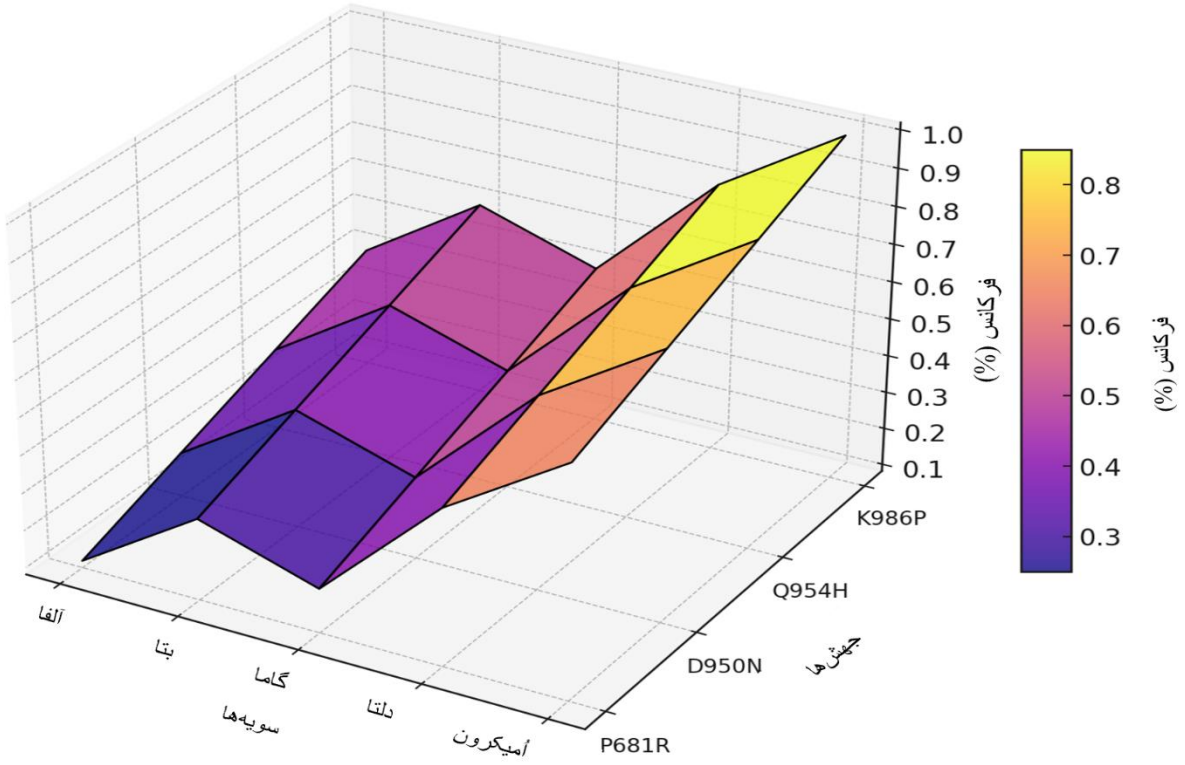
[1] Lactobacillus plantarum
[2] TNF-α
[3] TNF-α

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

جدول ۲: تأثیر جهش‌های S۲ بر فرار از سیستم ایمنی

جهش	کاهش حساسیت به آنتی‌بادی‌ها(%)	میانه
Q954H	۴۲	۳۵-۵۰
K986P	۳۸	۳۰-۴۵
D950N	۲۵	۲۰-۳۰
P681R	۲۰	۱۵-۲۵

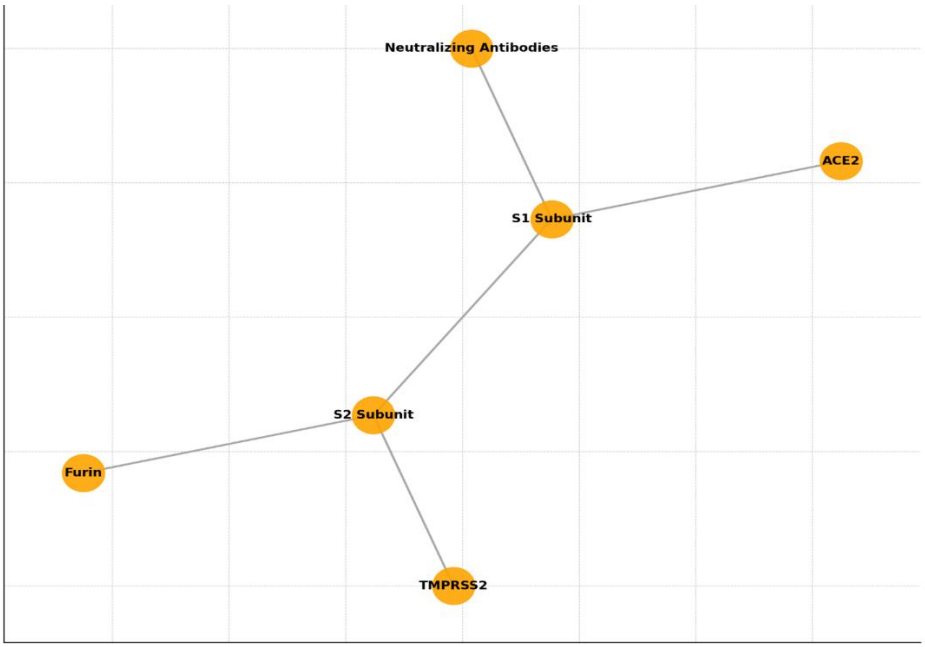
یافته‌های این پژوهش نقش حیاتی جهش‌های ناحیه S۲ در پایداری پروتئین اسپایک، گریز ایمنی، و شدت بیماری را برجسته می‌کند. جهش‌های P681R و D950N، با تأثیرات چشم‌گیر بر فرآیندهای بیولوژیکی ویروس، می‌توانند در طراحی راهبردهای جدید درمانی و پیشگیری نقش کلیدی ایفا کنند. این مطالعه نشان می‌دهد که تمرکز بر ناحیه S۲، به عنوان بخشی کمتر مورد مطالعه، می‌تواند به شناسایی راهکارهای مؤثرتری برای مقابله با سارس کووید ۲ و سویه‌های جدید آن منجر شود (شکل ۴).



شکل ٤ .نمودار سه‌بعدی سطح: فراوانی جهش‌ها بین واریانت‌ها: این نمودار سه‌بعدی سطح، تغییرات فراوانی جهش‌ها را بین واریانت‌ها نشان می‌دهد. جهش Q954H در واریانت اومیکرون به‌وضوح بیشترین تأثیر را در فراوانی دارد. تغییرات فراوانی جهش‌ها در دلتا و گاما نیز اهمیت تکاملی آن‌ها را برجسته می‌کند.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

جهش‌های زیرواحد S۲، مانندD614G ، N501Y، وP681R ، پایداری پروتئین اسپایک را افزایش داده و کارایی فرآیند همجوشی غشا را بهبود می‌بخشند. این جهش‌ها همچنین می‌توانند باعث کاهش حساسیت ویروس به آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده شوند. با ظهور سویه‌های جدید ویروس، مانند دلتا و اُمیکرون، مشخص شد که برخی از جهش‌های موجود در S۲ می‌توانند قابلیت انتقال، مقاومت، عفونت زایی و گریز ایمنی ویروس را به طور قابل توجهی افزایش دهند. این توالی‌ها شامل ناحیه‌های هپتاد تکراری ۱ و هپتاد تکراری ۲ ، پپتید همجوشی [1]، و ناحیه غشایی [2] هستند. ناحیه‌های هپتاد تکراری ۱و۲ با تشکیل یک ساختار زیپ‌مانند، ویروس را به غشای سلول میزبان نزدیک کرده و امکان ورود RNA ویروس به سلول را فراهم می‌کنند (شکل ۵).



شکل۵ .شبکه تعامل زیرواحدهای پروتئین اسپایک: این گراف تعاملات بین زیرواحدهای پروتئین اسپایک و اجزای دیگر را نشان می‌دهد: زیرواحد S1 به گیرنده آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ و آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده متصل می‌شود. زیرواحد S۲ با پروتئاز سرین ۲ وابسته به غشا [3]و فورین (آنزیم پروتئازی)[4]تعامل دارد، که برای همجوشی غشا ضروری است.

[1] FP
[2] Transmembrane domain
[3] TMPRSS2
[4] Furin

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

جهش‌های S۲ می‌توانند به ویروس کمک کنند تا از شناسایی توسط آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده فرار کند. مطالعات جدید نشان داده‌اند که جهش‌های S۲ می‌توانند پایداری ساختار پروتئین اسپایک را تغییر دهند. به‌عنوان مثال P681R جهشی است، که در سویه دلتا شایع است، منجر به افزایش کارایی پروتئازهای میزبان مانند پروتئاز سرین ۲ وابسته به غشا در فعال‌سازی پروتئین اسپایک می‌شود.جهشی D950N که در سویه اُمیکرون شناسایی شده و با تغییرات ساختاری در ناحیه هپتاد تکراری ۱و افزایش پایداری پروتئین اسپایک مرتبط است. و یا جهش Q954H که این جهش باعث تغییراتی در تعاملات مولکولی بین ناحیه‌های هپتاد تکراری ۱و۲ می‌شود که فرآیند همجوشی را تقویت می‌کند.

بحث

این مطالعه با تمرکز بر تحلیل ساختاری و جهش‌های زیرواحد S۲ پروتئین اسپایک سارس کووید ۲، به بررسی تأثیر این جهش‌ها بر ورود ویروس به سلول میزبان و چالش های بیولوژیک آن پرداخته است. یافته‌های کلیدی این پژوهش نشان می‌دهند که جهش‌هایی مانند D950N، S982A، T716I و P681R در ناحیه انتهای کربوکسیل (C-ترمینال)[1] زیرواحد S۲ می‌توانند باعث تغییرات ساختاری در پروتئین اسپایک شده و توانایی ویروس برای ورود به سلول میزبان را افزایش دهند. به‌طور خاص، جهش P681R با تسریع پردازش فورینی، قابلیت انتقال ویروس را به‌طور قابل توجهی افزایش می‌دهد. این یافته‌ها با مطالعات قبلی که نشان می‌دهند جهش‌ها در زیرواحد S۲ می‌توانند بر فرآیند فیوژن غشایی تأثیر بگذارند، همسو هستند. وانگ و همکاران(۲۰۲۱)[2]، هافمن و همکاران(۲۰۲۳)[3]. علاوه بر این، پروبیوتیک‌ها می‌توانند با تقویت پاسخ ایمنی ذاتی و افزایش تولید سیتوکین‌های ضدالتهابی مانند اینترلوکین-۱۰[4]، اثرات التهابی ناشی از جهش‌های زیرواحد S۲ را کاهش دهند. به‌عنوان مثال، سویه *لاکتوباسیلوس روتری*[5] با تنظیم محور روده-ریه و کاهش فعالیت فاکتور هسته‌ای کاپا B[6]، التهاب بیش‌ازحد را مهار می‌کند، که این می‌تواند در واریانت دلتا با جهش P681R، که فرآیند فیوژن غشایی را تسریع می‌کند، به‌عنوان یک استراتژی مکمل مؤثر باشد دهار و موهانتی (۲۰۲۰)[7]؛ این ارتباط از آن جهت حائز اهمیت است که جهش P681R در واریانت دلتا باعث افزایش بیان سایتوکاین‌های التهابی از طریق فعال‌سازی مسیر فاکتور هسته‌ای کاپا B در سلول‌های اپی‌تلیال تنفسی می‌شود؛ *لاکتوباسیلوس روتری* با سرکوب مستقیم این مسیر و تقویت تولید اینترلوکین-۱۰، می‌تواند به‌طور مکانیکی از آسیب بافتی و طوفان سایتوکاینی پیشگیری کرده و شدت پاسخ ایمنی التهابی را کاهش دهد(۲۴). یکی از جنبه‌های نوآورانه این مطالعه، شناسایی نواحی حفاظت‌شده در زیرواحد S۲ است که در بین گونه‌های مختلف ویروس کرونا حفظ شده‌اند. این نواحی، مانند ناحیه هپتاد تکراری ۲ و دامنه تراغشایی ، می‌توانند به عنوان اهدافی برای طراحی واکسن‌های وسیع‌الطیف و مهارکننده‌های مولکولی مورد استفاده قرار گیرند. این یافته‌ها با تحقیقاتی که بر اهمیت نواحی حفاظت‌شده در طراحی واکسن‌های مقاوم به جهش تأکید دارند، همخوانی دارد. کوتارد و همکاران(۲۰۲۰)[8]، رپ و همکاران(۲۰۲۰)[9]. با این حال، این مطالعه دارای محدودیت‌هایی است. اولاً، تحلیل‌ها به‌طور کامل بر پایه مدل‌سازی کامپیوتری و داده‌های بیوانفورماتیکی انجام شده‌اند و نیاز به تأیید آزمایشگاهی دارند. ثانیاً، تأثیر جهش‌ها بر تعامل ویروس با سیستم ایمنی میزبان به‌طور کامل بررسی نشده است و نیاز به مطالعات بیشتر در این زمینه وجود دارد. همچنین، تفاوت‌های مشاهده‌شده در نتایج این مطالعه با برخی تحقیقات قبلی ممکن است ناشی

[1] C-terminal
[2] Wang et al.
[3] Hoffmann et al.
[4] IL-10
[5] Lactobacillus reuteri
[6] NF-κB
[7] Dhar & Mohanty
[8] Coutard et al.
[9] Wrapp et al.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

از تفاوت در روش‌های تحلیل یا انتخاب نمونه‌ها باشد(۱۱, ۱۰).

در مقایسه با مطالعات دیگر، این پژوهش نشان می‌دهد که جهش‌های زیرواحد S۲ نه تنها بر ساختار پروتئین اسپایک تأثیر می‌گذارند، بلکه می‌توانند باعث افزایش ورود ویروس به سلول میزبان شوند. این یافته‌ها با تحقیقاتی که بر نقش کلیدی زیرواحد S۲ در فرآیند فیوژن غشایی تأکید دارند، همسو است.گوی و همکاران(۲۰۱۷)[1]، ژیا و همکاران(۲۰۲۰)[2]. با این حال، برخی مطالعات نشان داده‌اند که جهش‌ها در زیرواحد S۱ ممکن است تأثیر بیشتری بر اتصال ویروس به گیرنده آنزیم مبدل آنژیوتانسین ۲ داشته باشند. شانگ و همکاران(۲۰۲۰)[3]. این تفاوت‌ها ممکن است ناشی از تفاوت در روش‌های تحقیق یا انتخاب واریانت‌های مورد بررسی باشد. با این حال، باید توجه داشت که اگرچه جهش‌هایی مانند P681R و D950N منجر به افزایش کارایی همجوشی غشایی در مدل‌های ساختاری شده‌اند، اما داده‌های تجربی حاصل از مطالعات بر روی مدل‌های حیوانی نشان داده‌اند که این جهش‌ها به‌تنهایی افزایش معنی‌داری در شدت بیماری ایجاد نمی‌کنند. این مسئله حاکی از آن است که شدت بالینی کووید-۱۹ صرفاً ناشی از ویژگی‌های ساختاری پروتئین اسپایک نبوده، بلکه نتیجه تعامل پیچیده میان فاکتورهای ویروسی، پاسخ ایمنی میزبان، و سایر مؤلفه‌های پاتوفیزیولوژیک است (۱۴-۱۲) .

مطالعات نشان می‌دهد که جهش‌های زیرواحد S۲ می‌توانند تأثیر قابل‌توجهی بر توانایی ویروس در ورود ویروس به سلول میزبان داشته باشند. شناسایی نواحی حفاظت‌شده در زیرواحد S۲ می‌تواند به طراحی واکسن‌های مقاوم به جهش و درمان‌های ضدویروسی مؤثر کمک کند. برای تحقیقات آینده، پیشنهاد می‌شود که تأثیر جهش‌ها بر تعامل ویروس با سیستم ایمنی میزبان به‌طور دقیق‌تر بررسی شود و از فناوری‌های نوین مانند واکسن‌های mRNA برای مقابله با جهش‌های ویروسی استفاده گردد. همچنین، توسعه مهارکننده‌های مولکولی که بر نواحی حفاظت‌شده زیرواحد S۲ متمرکز هستند، می‌تواند راهکار مؤثری برای کنترل عفونت‌های ویروسی باشد(۱۷-۱۵).

علت تفاوت بین نتایج این تحقیق با مقالات قبلی ممکن است به چند عامل مرتبط باشد. اولا، این مطالعه از داده‌های ژنومی گسترده‌تری استفاده کرده است که شامل واریانت‌های جدید مانند اُمیکرون می‌شود. ثانیاً، روش‌های مدل‌سازی و تحلیل بیوانفورماتیکی به‌کار رفته در این تحقیق پیشرفته‌تر بوده و امکان بررسی دقیق‌تر تأثیر جهش‌ها بر ساختار و عملکرد پروتئین اسپایک را فراهم کرده‌اند. این عوامل می‌توانند توضیح‌دهنده تفاوت‌های مشاهده‌شده بین نتایج این مطالعه و تحقیقات قبلی باشند(۹,۱۸). از نظر کاربرد عملی، یافته‌های این تحقیق می‌توانند به توسعه درمان‌های ضدویروسی و واکسن‌های نسل بعدی کمک کنند. زیرواحد S۲ به دلیل نقش کلیدی در فرآیند همجوشی غشا و پایداری ساختاری، می‌تواند به عنوان هدفی مؤثر برای مهار عفونت در نظر گرفته شود. همچنین، طراحی واکسن‌هایی که پاسخ ایمنی علیه زیرواحد S۲ را القا می‌کنند، می‌توانند محافظت گسترده‌تری در برابر واریانت‌های مختلف سارس کووید ۲ ایجاد کنند. قابلیت تعمیم‌پذیری نتایج این مطالعه به سایر ویروس‌های کرونا نیز قابل بررسی است، زیرا مکانیسم‌های همجوشی غشا و فرار از سیستم ایمنی در این خانواده ویروسی مشترک هستند (۱۹). برای ادامه تحقیقات در این زمینه، پیشنهاد می‌شود که مطالعات آزمایشگاهی بیشتری برای تأیید یافته‌های این تحقیق انجام شود. به‌ویژه، بررسی تأثیر جهش‌های S۲ بر تعامل ویروس با سلول‌های میزبان در محیط‌های آزمایشگاهی و مدل‌های حیوانی می‌تواند به درک بهتر مکانیسم‌های مولکولی کمک کند. همچنین، توسعه مهارکننده‌های همجوشی غشا که به زیرواحد S۲ متصل

[1] Gui et al.
[2] Xia et al.
[3] Shang et al.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

می‌شوند، می‌تواند به عنوان یک استراتژی درمانی جدید مورد بررسی قرار گیرد. در نهایت، پایش مداوم جهش‌های جدید در پروتئین اسپایک، به‌ویژه در زیرواحد S۲، برای شناسایی واریانت‌های جدید و به‌روزرسانی واکسن‌ها و درمان‌ها ضروری است (۲۰). در این راستا، اگرچه داده‌های اولیه نشان می‌دهند که *بیفیدوباکتریوم بروه*[1] از طریق تنظیم محور روده-ریه و القای ایمنی مخاطی می‌تواند به تقویت پاسخ ایمنی کمک کند، اما ارتباط مستقیم آن با تأثیر جهش‌های زیرواحد S2 هنوز به‌طور کامل اثبات نشده است. بنابراین، استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان ادجوانت در واکسن‌های هدفمند علیه نواحی حفاظت‌شده S2 ، در حال حاضر بیشتر به‌عنوان یک رویکرد مکمل پیشنهادی مطرح می‌شود که نیازمند بررسی‌های تجربی گسترده‌تر در مطالعات آینده است، این باکتری‌ها با تنظیم میکروبیوم روده و افزایش تولید ایمونوگلوبولین A[2] و سایتوکین‌های ضدالتهابی، می‌توانند به بهبود استراتژی‌های پیشگیری و درمانی کووید ۱۹ کمک کنند لی و همکاران(۲۰۲۲)[3] (۲۳). در مجموع، تحقیقات اخیر به دانش موجود در مورد نقش جهش‌های زیرواحد S۲ در عفونت‌زایی و فرار از سیستم ایمنی ویروس سارس کووید ۲ افزوده است. یافته‌ها نشان می‌دهند که زیرواحد S۲ می‌تواند به عنوان هدفی مؤثر برای توسعه درمان‌ها و واکسن‌های جدید در نظر گرفته شود و از آنجا که ناحیه S۲ در فرآیند همجوشی غشا نقش حیاتی دارد، می‌توان آن را به عنوان هدفی مؤثر برای مهار عفونت در نظر گرفت. همچنین هدف‌گیری ناحیه S۲ در طراحی داروها، بهبود واکسن‌ها به دلیل اضافه کردن آنتی‌ژن‌های مشتق‌شده از ناحیه S۲ به ترکیب واکسن‌ها می‌تواند پاسخ ایمنی قوی‌تری ایجاد کند. از طرفی از ناحیه S۲ میتوان در طراحی آنتی‌بادی‌های جدید، شناسایی اپی‌توپ‌های جدید و در نهایت تولید آنتی‌بادی‌هایی با طیف خنثی‌سازی وسیع‌تر استفاده نمود همچنین، این تحقیق راه را برای مطالعات بیشتر در مورد مکانیسم‌های مولکولی که ویروس از آن‌ها برای افزایش عفونت‌زایی و فرار از سیستم ایمنی استفاده می‌کند، هموار می‌سازد (۳,۷,۹,۲۱).

نتیجه‌گیری

تحلیل ساختاری و عملکردی جهش‌های کلیدی در زیرواحد S ۲ پروتئین اسپایک ویروس سارس کووید ۲ در این مطالعه نشان داد که تغییرات اسیدآمینه‌ای خاص نظیر P681R ، D950N، S982A و T716I در نواحی هپتاد تکراری، سبب افزایش پایداری کمپلکس شش‌مارپیچ و تسریع فرآیند همجوشی غشایی می‌شوند. این جهش‌ها از طریق کاهش انرژی آزاد اتصال و افزایش انعطاف‌پذیری ساختاری، بهبود قابل‌توجهی در کارایی ورود ویروس به سلول‌های میزبان ایجاد کرده‌اند. یافته‌های حاصل از مدل‌سازی بیوانفورماتیکی با داده‌های پیشین مبنی بر نقش زیرواحد S2 در ارتقاء عفونت‌زایی هم‌خوانی دارد و حاکی از آن است که زیرواحد S ۲ برخلاف تمرکز سنتی بر S1 ، سهم قابل توجهی در پاتوژنز و انتقال ویروس دارد.

با این حال، بررسی داده‌های تجربی حاصل از مطالعات پیشین انجام گرفته در مدل های حیوانی نشان می‌دهد که افزایش توانایی ورود ویروس الزاماً منجر به افزایش شدت بیماری نمی‌شود. به‌عنوان نمونه، جهش P681R در واریانت دلتا با افزایش نرخ بستری همراه بوده، اما D950N در اُمیکرون علی‌رغم افزایش انتقال‌پذیری، با شدت بیماری پایین‌تری همراه شده است. این تفاوت‌ها نشان‌دهنده‌ی تعامل پیچیده میان صفات ساختاری ویروس، پاسخ ایمنی میزبان و سایر عوامل میزبان‌وابسته نظیر ژنتیک، سن، بیماری‌های زمینه‌ای و وضعیت میکروبیوم است. در نتیجه، تفسیر صرف یافته‌های ساختاری بدون در نظر گرفتن بستر ایمنی‌شناختی و بالینی می‌تواند منجر به برداشت‌های اغراق‌آمیز شود.

در این چارچوب، نقش مکمل پروبیوتیک‌ها به‌عنوان عوامل تعدیل‌کننده پاسخ ایمنی و التهاب، به‌صورت فرضیه‌ای مبتنی

[1] *Bifidobacterium breve*

[2] IgA

[3] Lei et al.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

بر شواهد اولیه مطرح شده است. سویه‌هایی مانند *لاکتوباسیلوس روتری*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *بیفیدوباکتریوم بروه* با اثرگذاری بر محور روده–ریه، کاهش فعالیت NF-κB ، و افزایش ترشح ایمونوگلوبولین A و اینترلوکین-۱۰، می‌توانند از شدت واکنش‌های التهابی ناشی از ورود ویروس بکاهند. گرچه این یافته‌ها امیدوارکننده‌اند، اما تاکنون شواهد مستقیمی مبنی بر ارتباط میان عملکرد این پروبیوتیک‌ها و اثرات اختصاصی جهش‌های S2 گزارش نشده است. ازاین‌رو، معرفی آن‌ها به‌عنوان ادجوانت یا مکمل درمانی باید با احتیاط و در چارچوب کارآزمایی‌های بالینی آینده صورت گیرد.

در نهایت، نتایج این پژوهش با برجسته ساختن نقش ساختاری و عملکردی زیرواحد S۲، مسیر جدیدی برای توسعه واکسن‌های نسل بعدی و طراحی مهارکننده‌های وسیع‌الطیف ضد SARS-CoV-2 پیشنهاد می‌دهد. همچنین، معرفی نواحی حفاظت‌شده در این زیرواحد به‌عنوان اهداف بالقوه ایمونوژن، همراه با بهره‌گیری از رویکردهای مکمل مانند پروبیوتیک‌ها، می‌تواند استراتژی‌های چندلایه و منعطف‌تری برای مقابله با واریانت‌های آینده فراهم کند.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

منابع

1. Silva RP, Huang Y, Nguyen AW, Hsieh C-L, Olaluwoye OS, Kaoud TS, et al. Identification of a conserved S2 epitope present on spike proteins from all highly pathogenic coronaviruses. eLife. 2023;12:e83710. doi:10.7554/eLife.83710

2. Cai Z, Ni W, Li W, Wu Z, Yao X, Zheng Y, et al. SARS-CoV-2 S protein disrupts the formation of ISGF3 complex through conserved S2 subunit to antagonize type I interferon response. Journal of Virology. 2024;99(1):e01516-24. doi:10.1128/JVI.01516-24

3. Chen J, Gao K, Wang R, Wei G-W. Prediction and mitigation of mutation threats to COVID-19 vaccines and antibody therapies. Chemical Science. 2021;12(20):6929–6948. doi:10.1039/D1SC01203G

4. Chen J, Wang R, Gilby NB, Wei G-W. Omicron variant (B.1.1.529): infectivity, vaccine breakthrough, and antibody resistance. Journal of Chemical Information and Modeling. 2022;62(2):412–422. doi:10.1021/acs.jcim.1c01451

5. Chen J, Wang R, Wang M, Wei G-W. Mutations strengthened SARS-CoV-2 infectivity. Journal of Molecular Biology. 2020;432(19):5212–5226. doi:10.1016/j.jmb.2020.07.009

6. Chen J, Wei G-W. Mathematical artificial intelligence design of mutation-proof COVID-19 monoclonal antibodies. Communications in Information and Systems. 2022;22(3):339–361. doi:10.4310/cis.2022.v22.n3.a3

7. Cui Z, Liu P, Wang N, Wang L, Fan K, Zhu Q, et al. Structural and functional characterizations of infectivity and immune evasion of SARS-CoV-2 Omicron. Cell. 2022;185(5):860–871.e13. doi:10.1016/j.cell.2022.01.019

8. DeOre BJ, Tran KA, Andrews AM, Ramirez SH, Galie PA. SARS-CoV-2 spike protein disrupts blood–brain barrier integrity via RhoA activation. Journal of Neuroimmune Pharmacology. 2021;16(4):722–728. doi:10.1007/s11481-021-10029-0

9. Grobbelaar LM, Venter C, Vlok M, Ngoepe M, Laubscher GJ, Lourens PJ, et al. SARS-CoV-2 spike protein S1 induces fibrin(ogen) resistant to fibrinolysis: implications for microclot formation in COVID-19. Bioscience Reports. 2021;41(8):BSR20210611. doi:10.1042/BSR20210611

10. Guenthoer J, Garrett ME, Lilly M, Depierreux DM, Ruiz F, Chi M, et al. The S2 subunit of spike encodes diverse targets for functional antibody responses to SARS-CoV-2. PLoS Pathogens. 2024;20(8):e1012383. doi:10.1371/journal.ppat.1012383

11. Khan S, Shafiei MS, Longoria C, Schoggins JW, Savani RC, Zaki H. SARS-CoV-2 spike protein induces inflammation via TLR2-dependent activation of the NF-κB pathway. eLife. 2021;10:e68563. doi:10.7554/eLife.68563

12. Wang R, Chen J, Wei G-W. Mechanisms of SARS-CoV-2 evolution revealing vaccine-resistant mutations in Europe and America. The Journal of Physical Chemistry Letters. 2021;12(49):11850–11857. doi:10.1021/acs.jpclett.1c03380

13. Weisblum Y, Schmidt F, Zhang F, DaSilva J, Poston D, Lorenzi JC, et al. Escape from neutralizing antibodies by SARS-CoV-2 spike protein variants. eLife. 2020;9:e61312. doi:10.7554/eLife.61312

14. Xue S, Han Y, Wu F, Wang Q. Mutations in the SARS-CoV-2 spike receptor binding domain and their delicate balance between ACE2 affinity and antibody evasion. Protein & Cell. 2024;15(6):403–418. doi:10.1007/s13238-022-00954-0

15. Kumar S, Delipan R, Chakraborty D, Kanjo K, Singh R, Singh N, et al. Mutations in S2 subunit of SARS-CoV-2 Omicron spike strongly influence its conformation, fusogenicity, and neutralization sensitivity. Journal of Virology. 2023;97(11):e00922-23. doi:10.1128/JVI.00922-23

16. Lei Y, Zhang J, Schiavon CR, He M, Chen L, Shen H, et al. SARS-CoV-2 spike protein impairs endothelial function via downregulation of ACE2. Circulation Research. 2021;128(9):1323–1326. doi:10.1161/CIRCRESAHA.121.319117

17. Li F, Li J, Wang P-H, Yang N, Huang J, Ou J, et al. SARS-CoV-2 spike promotes inflammation and apoptosis through autophagy by ROS-suppressed PI3K/AKT/mTOR signaling. BBA – Molecular Basis of Disease. 2021;1867(12):166260. doi:10.1016/j.bbadis.2021.166260

18. Meyer K, Patra T, Vijayamahantesh, Ray R. SARS-CoV-2 spike protein induces paracrine senescence and leukocyte adhesion in endothelial cells. Journal of Virology. 2021;95(17):e00794-21. doi:10.1128/JVI.00794-21

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]

19. Pandey RP, Kumar S, Rao D, Gupta DL. Emerging severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 variants and their impact on immune evasion and vaccine-induced immunity. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2024;118(12):761–772. doi:10.1093/trstmh/trad079

20. Patra T, Meyer K, Geerling L, Isbell TS, Hoft DF, O'Brien J, et al. SARS-CoV-2 spike protein promotes IL-6 trans-signaling by activation of angiotensin II receptor signaling in epithelial cells. PLoS Pathogens. 2020;16(12):e1009128. doi:10.1371/journal.ppat.1009128

21. Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo C, Aihara H, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. Nature. 2020;581(7807):221–224. doi:10.1038/s41586-020-2179-y

22. Baud D, Dimopoulou Agri V, Gibson GR, Reid G, Welling GW. Using probiotics to flatten the curve of coronavirus disease COVID-2019 pandemic. Front Public Health. 2020;8:186. doi:10.3389/fpubh.2020.00186

23. Lei H, Zhang M, Li J, Wang X, Wu S, Liu Q. Probiotics as adjuvants in vaccine development against respiratory viruses. J Immunol Res. 2022;2022:9876254. doi:10.1155/2022/9876254

24. Dhar D, Mohanty A. Gut microbiota and Covid-19: Possible link and implications. Virus Research. 2020;285:198018. doi:10.1016/j.virusres.2020.198018

[Downloaded from amfi.ir on 2025-10-26]