

· 基础研究破解新型冠状病毒谜题 ·

破解新冠病毒谜题 支撑疫情科学防控

陈宇 刘映乐 刘元 徐可 严欢 周宇 蓝柯*

武汉大学病毒学国家重点实验室, 武汉 430072

[摘要] 新型冠状病毒肺炎疫情在全球范围内已持续两年多,深刻地影响着人类社会的各个方面。各国科技工作者对新型冠状病毒(简称“新冠病毒”)开展了广泛而深入的研究,在新冠病毒的感染致病机理、诊断技术、疫苗药物等方面取得了积极的进展。经过两年多的全球流行,病毒持续传播与变异,人类面临着疫苗保护力下降、药物有效性不足等诸多挑战。本综述主要介绍我们团队在新冠病毒的发现鉴定、传播途径、诊断新技术、疫苗药物、亚基因组生成调控机制等方面的研究进展,以期为疫情防控提供科技支撑和参考依据。

[关键词] 新冠病毒;病原发现;抗病毒技术;病毒复制

2019年12月底,武汉出现不明原因的肺炎疫情,快速、准确地鉴定出病原体是疫情防控的关键环节。武汉大学病毒学国家重点实验室在学校的支持下,迅即成立攻关团队开展相关研究工作。我们团队于2020年1月2日从武汉大学中南医院获得两例高度疑似不明原因肺炎患者的肺泡灌洗液核酸样品,通过微量建库、二代测序及生物信息学分析等手段,于2020年1月7日鉴定出两条结果一致的病毒基因组完整序列。经过进化树分析显示,该病毒属于冠状病毒科、冠状病毒属、Beta冠状病毒亚属,在NCBI数据库中未找到完全匹配的序列,说明这是一种新型冠状病毒(以下简称“新冠病毒”),我们当即依规向中国疾病预防控制中心报告了研究结果,后续于2020年1月16日向Sequence Read Archive(SRA)数据库上传了两个样品的原始测序数据(PRJNA601736),该数据也为其他团队后续开展研究工作提供了重要参考,并于2020年1月23日向Genebank上传了病毒基因组完整序列^[1](Genebank序列号:MN988668.1、MN988669.1)。

我们团队能够在疫情暴发后迅速完成新型冠状病毒全基因组序列鉴定,得益于厚实的研究积累,如长期参与国家传染病主要症候群的病原谱监测工作所积累的数据及技术手段等。值得一提的是,在疫情暴发的初期,包括中国疾病预防控制中心^[2]、中国



蓝柯 武汉大学教授、病毒学国家重点实验室主任、武汉大学动物生物安全三级实验室/动物实验中心主任、武汉大学疫苗研究院院长;国家杰出青年科学基金获得者、长江特聘学者、万人计划领军人才。主要从事致瘤性疱疹病毒、重要新发病毒的感染及致病机理研究,先后主持国家重点研发计划项目、国家科技重大专项项目、国家自然科学基金重点项目等项目,在*Nature*、*The New England Journal of Medicine*、*PLoS Pathogens*、*Emerg Microbes Infections*、*Journal of Virology*、*Molecular Cell*、*Cell Host Microbe*、*PNAS*、*Science Advances*、*Cell Research*、*Cancer Research*等学术期刊发表论文120余篇。



陈宇 武汉大学教授、病毒学国家重点实验室研究组长、武汉大学生命科学学院病毒系副系主任,长江特聘学者。长期从事冠状病毒复制、致病机制及防治研究,承担或参与国家自然科学基金重大项目、重点专项、国家科技重大专项、科技部病毒与免疫创新团队等项目;在*Nature*、*Molecular Cell*、*Nature Ecology & Evolution*、*PNAS*、*mBio*、*PLoS Pathogens*、*Emerging Microbes & Infections*、*Journal of Virology*等学术期刊发表论文50余篇,入选爱思唯尔“中国高被引学者”。

医学科学院病原生物学研究所^[3]、中国科学院武汉病毒研究所^[4]、复旦大学上海公共卫生临床中心^[5]以及我们团队几乎同时在一周内完成了新冠病毒全序列测定工作,共同为我国在疫情发生后迅速锁定

收稿日期:2022-03-01;修回日期:2022-04-24

* 通信作者,Email: klan@whu.edu.cn

本文受到国家自然科学基金项目(32188101)的资助。

病原体做出了积极贡献,也为新型冠状病毒的诊断技术、疫苗和药物的研发以及防控策略的制定奠定了重要的基础。相较于 2002 年“非典”流行时,全球研究工作者耗时 3 个多月才确定病原体,这一次中国科学家在快速鉴定新冠病毒上的表现堪称完美,集中体现了我国在科技方面的巨大进步。

确定新冠病毒之后,我们团队在病毒的传播途径、检测诊断新技术、疫苗和药物、感染复制机理等方面开展了系统的研究,取得了重要进展。

1 揭示新冠病毒存在气溶胶传播途径

新冠病毒肺炎疫情自暴发后迅速席卷全球。控制传染源、切断传播途径、保护易感人群是防控传染病的原则性措施。目前已经明确,新冠病毒的传播途径主要包括飞沫传播、接触传播以及气溶胶传播等。当患者咳嗽、打喷嚏或说话时,所产生的大液滴飞沫射程一般远至两米左右,在飞行中被近距离的易感人群个体吸入,形成病毒的飞沫传播;飞沫通常很快沉降在物品表面,通过接触可污染口腔、鼻腔、眼睛等黏膜或皮肤,形成接触传播;而飞沫在空气中飞行时水分逐渐蒸发,尺寸可变为几微米的小液滴,以气溶胶形态漂移至更远的距离,被易感人群个体吸入后形成气溶胶传播(图 1)。

病毒气溶胶由病毒与空气中的尘埃、粉尘相结合形成的气溶胶颗粒组成,被证实是流感、SARS、MERS 及麻疹等呼吸系统传染病的重要传播途径。在新冠肺炎疫情防控实践中,一线医护人员在进行吸痰、插管等临床救治操作时常暴露于患者产生的大量气溶胶中;在疫情中也有远距离病毒传播的报道,而公众因普遍缺乏对气溶胶科学知识的了解,不少人将它视作“防不胜防的空气传播”,感到焦虑和恐慌。为回应公众关切,回答新冠病毒是否形成病毒气溶胶这一重要的科学问题,在武汉疫情暴发的高峰期,我们团队深入具有代表性的医院和公共场所,采集并分析了大量气溶胶样品,率先在真实疫情

环境下证实了新冠病毒气溶胶的存在,揭示了它的粒径分布和空气动力学特征,提出了“沉降(衣物/地面)—人员携带—空中扬起”的传播途径模型^[6]。我们的研究提示医院内通风不佳的厕所在冲水时可能会产生高浓度的新冠病毒气溶胶;而在医护人员脱防护服区域,沉积在防护服上的新冠病毒可能在脱防护服时被重新扬起在空气中,形成气溶胶。这些疫情期间的宝贵数据为政府的防疫决策和消杀策略的制定提供了科学依据,研究成果被发表在著名学术期刊 *Nature* 上^[6],引起全球广泛关注。美国疫情暴发后,美国科学院、工程院和医学院三院联合给其总统提交的紧急咨询报告中大篇幅引用了该工作的科学发现。

新冠病毒的传播能力与其在环境中的生物活性密切相关。虽然真实疫情中的新冠病毒气溶胶活性受到温湿度、日照、风速等多种气象条件的影响,在实验室模拟产生的新冠病毒气溶胶在 3 小时后依然具有感染性;而病毒在塑料和不锈钢表面则可存活达 72 小时^[7]。值得注意的是,与病毒原始株及之前的变异株相比,奥密克戎变异株在物体表面的存活时间达到了惊人的 200 小时,其环境稳定性大大增强^[8]。最近发布在预印本平台 medRxiv 的一项研究显示,新冠病毒气溶胶活性与相对湿度关系密切,当相对湿度升高到 90% 时,在 10 分钟内新冠病毒气溶胶的感染性将降低至初始的 10%^[9]。对新冠病毒气溶胶的深入研究,将揭示新冠病毒在气溶胶中的存活消亡规律及其活力与致病性的环境影响因素,为切断气溶胶传播途径及科学防控疫情传播提供更多实验依据。

2 发展新冠病毒的诊断新技术

新冠病毒基因组序列的迅速破解为诊断技术的建立奠定了基础。核酸检测是目前诊断新冠病毒肺炎的金标准。但是现行的荧光定量 PCR 诊断技术在检测灵敏度和准确度上仍有不足,特别是针对低病毒载量的样品,在新冠暴发初期和疫情常态化防控的过程中时有“漏检”的报道,这种漏检不可避免地给疫情精准防控造成困扰^[10]。

存在漏检的原因在于传统的荧光定量 PCR 依赖于 Ct 值和扩增效率,且基于大体积反应系统,在检测低病毒载量的样品时,目标核酸分子由于受到各种因素的干扰,无法有效地通过扩增检测到,因此灵敏度受限。为改善这种情况,我们团队基于数字 PCR 检测技术进行优化。结果显示,相比传统的荧

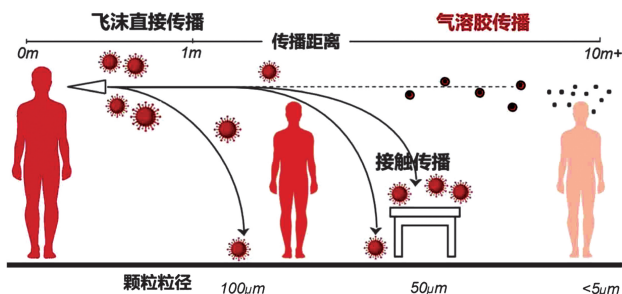


图 1 新冠病毒的传播途径

光定量 PCR 技术,数字 PCR 技术在检测新冠病毒核酸时其检测下限显著降低,更加灵敏。在武汉疫情暴发期间,我们曾对 77 例临床样品同时进行荧光定量 PCR 检测和数字 PCR 检测,通过对双盲检测结果和后期随访结果进行综合分析,发现数字 PCR 技术的准确率达 95%,而荧光定量 PCR 技术的准确率仅为 47%;其中有 26 例被荧光定量 PCR 漏检的新冠肺炎患者样本,被数字 PCR 检出。

该小样本研究初步揭示数字 PCR 技术在新冠病毒低载量临床样品检测中灵敏度和准确率更高,表现更优越^[11,12]。究其原理,数字 PCR 采用一种全新的方式对核酸分子进行绝对定量,其特点是在 PCR 扩增前对反应体系进行微滴化处理,每个液滴即为一个独立的反应体系,经 PCR 扩增后,利用微滴检测仪对每个微滴进行逐个扫描检测,最后基于阳性微滴的个数即可得出靶分子的绝对起始拷贝数及浓度,从而对样品中目的核酸片段进行高灵敏的检测和绝对定量。该技术采用终点 PCR 检测,不依赖 Ct 值和扩增效率,且能克服 PCR 抑制剂的影响,因此可以极大地提高检测的灵敏度和准确度。

虽然数字 PCR 相较于传统的荧光定量 PCR 在检测灵敏度和特异度等方面存在较大优势,但目前数字 PCR 技术使用成本较荧光定量 PCR 高,需要更为特殊的仪器且检测流程较为繁琐,因此更适用于对灵敏度有特殊要求的样品检测。传统的荧光定量 PCR 因其较低的成本和较简单的技术流程更适合大规模的筛查,而其相对低灵敏度的缺陷则可通过多次的采样检测进行弥补。无论如何,基于高灵敏、高特异、绝对定量等特点,数字 PCR 技术值得进一步发展和优化,有望在未来的病原诊断中发挥更大的作用。

3 发展新冠病毒新型疫苗

疫苗作为人类对抗传染性疾病的有效手段,在新冠病毒肺炎疫情的防控中起关键作用。目前,开发冠状病毒疫苗的可用策略包括灭活疫苗、减毒活疫苗、重组病毒载体疫苗、亚单位蛋白疫苗、DNA 疫苗和 mRNA 疫苗等技术路线。在安全性可控的前提下,减毒活疫苗具有免疫原性强、成本低、易于快速大规模制备的优点。冠状病毒的非结构蛋白在病毒复制周期中承担着各种复制酶功能,靶向非结构蛋白正向设计减毒活疫苗是一种潜在的疫苗开发策略。陈宇等^[13-15]既往研究发现,冠状病毒非结构蛋白 14(nsp14)具有 RNA N7-甲基转移酶功能,参与

冠状病毒 RNA 帽子的甲基化。近期有研究发现,冠状病毒可通过 nsp14 介导的 N7-甲基化逃避宿主 MDA5 介导的 I 型干扰素免疫反应,从而实现其高病毒毒力^[16]。基于这一机制,研究人员分别利用鼠肝炎病毒(MHV,一种致病性模式冠状病毒,与 SARS-CoV、MERS-CoV、SARS-CoV-2 同属于 β 冠状病毒属)和新冠病毒开展了冠状病毒减毒活疫苗的概念性验证(proof of concept)研究。研究显示,N7-甲基转移酶活性缺陷的重组鼠肝炎病毒 rMHV 在细胞培养中复制稳定,表现出与野生型病毒相似的复制效率,但在感染小鼠时毒力和致病性显著下降,能够被快速清除,显示出极高的安全性。同时,rMHV 能够在小鼠体内诱导长期体液免疫应答和强大的 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞免疫应答,并能够保护小鼠免受 MHV 的再次感染致死^[17]。不仅如此,通过和美国爱荷华大学 Stanley Perlman 教授等合作,发现 N7-甲基转移酶活性缺陷的重组新冠病毒 rSARS-CoV-2 同样表现出毒力和致病性显著下降的特征,且单次接种 rSARS-CoV-2 即可保护小鼠免受新冠病毒的再次感染致死^[16]。上述研究表明,N7-甲基转移酶是正向开发冠状病毒减毒活疫苗的理想靶点,且该靶点及机制在冠状病毒属中具有广泛的保守性。目前新冠病毒灭活疫苗使用的毒株是野生毒株,在大量培养的过程中对生产车间生物安全等级的要求更高,而复制稳定的 N7-甲基转移酶减毒策略在灭活疫苗的大规模安全生产中具有明显的优势,值得进一步研究和发(如图 2)。

新冠病毒的 RNA 基因组具有高变异性,经过两年多的全球流行,已产生 Alpha、Beta、Gamma、Delta、Omicron 等多种被关注的突变毒株。2019 年末,新冠肺炎疫情在武汉暴发。得益于强有力的防控措施,疫情于 2020 年 4 月得到有效控制。我们通过收集在此期间感染新冠病毒患者康复一年后的血清样品 248 份,开展了中和抗体相关研究。研究发现,武汉市的大多数新冠康复者(包括无症状感染者和老年患者)在感染一年后,体内针对 SARS-CoV-2 的中和抗体滴度仍处于较高水平,而中和活性与康复者的年龄、发病的严重程度、性别等的相关性并不显著。研究还发现,大部分康复者血清中的中和抗体能有效的中和新冠病毒的野生株和 Alpha 株(B. 1. 1. 7),而对 Gamma 株(P. 1)、立陶宛株(B. 1. 620)、Eta 株(B. 1. 525)、Delta 株(B. 1. 617. 2)和 Beta 株(B. 1. 351)的中和效果显著下降。其中 Beta 株在这些突变株中免疫逃逸较为显著。而血清对奥

密克戎突变毒株(B. 1. 1. 529)的中和活性更是出现了大幅下降。值得注意的是,极少数个体的血清对以上突变株均具有较强的中和作用,说明个别康复者体内存在高效的广谱中和抗体。这一结果提示可能存在广谱的新冠病毒中和表位,为发展广谱新冠疫苗和抗体提供了理论依据^[18, 19]。

随着新冠病毒变异株的不断出现,原有基于病毒野生株研发的各种疫苗效力下降,变异株对已接种这类疫苗人群的突破性感染已成为常态。如何研发一款针对不同突变株都具备广谱免疫保护效果的疫苗,是当前新冠疫苗研发的难点和重点,值得持续的努力。在这方面,我们团队也做了初步的尝试,基于遗传算法设计了新冠病毒刺突蛋白的广谱疫苗免疫原,形成高仿真纳米尺度的三聚体结构,可针对新冠病毒多种突变株产生交叉免疫保护作用,诱导针对 Alpha、Beta、Gamma、Delta、Omicron 的跨株系广泛中和性抗体,在小动物攻毒实验中对多种突变病毒具有 100% 的保护作用。这项研究概念性地证明了针对新冠病毒不同变异株研发广谱疫苗的可能性,有望在未来的疫苗研发中发挥积极作用^[20]。

新冠病毒属于呼吸道病毒,呼吸道病毒具有相似的病毒生态环境和易感染人群,多种呼吸道病毒共感染会造成疫情叠加风险,可能引发更大的健康

威胁。尤其是新冠大流行期间,关于季节性流感是否会加重新冠疫情的问题成为全球关注的热点,是否应该接种两种疫苗也成为公众讨论的焦点。为回应这些关切,我们团队首次利用实验系统证实流感病毒的预先感染会显著地促进新冠病毒入侵细胞,增强新冠病毒在多种肺细胞中的感染,并在共感染小鼠模型体内引发更严重的肺部损伤^[21]。该研究提示流感病毒是疫情叠加防控中的关键病毒,接种新冠和流感病毒疫苗同样重要。同时,开发针对多种呼吸道病毒的新一代联合疫苗是预防共感染的必由之路,值得领域内重视和付出努力。

4 抗新冠病毒的药物研发

新冠病毒肺炎疫情全球流行以来,抗新冠病毒药物的研发如火如荼。人类只有研发出有效的、可及性强的药物,新冠病毒肺炎才能真正地成为可防可治的疾病。根据作用机制,目前已有的抗新冠病毒药物或候选药物大致可分为五类:(1)抑制 SARS-CoV-2 酶的化合物;(2)抑制病毒进入细胞的化合物;(3)干扰素类;(4)抑制 SARS-CoV-2 复制所需宿主细胞分子的化合物;(5)抗体类。目前获得 FDA 紧急使用授权(EUA)或正式批准的药物主要有:多种单克隆抗体/抗体组合,例如由再生元和罗氏公司开发的 casirivimab/imdevimab 抗体组合,再如由中国腾盛博药开发的安巴韦单抗/罗米司韦单抗的联合疗法(此前为 BRII-196/BRII-198 联合疗法);由吉利德公司开发的瑞德西韦,其靶点为新冠病毒的 RNA 复制酶(RdRp);由辉瑞公司开发的 Paxlovid,其靶点也为 RdRp;默沙东公司开发的 Molnupiravir,其靶点为新冠病毒的蛋白酶(3CL)等。抗体药物虽然在治疗 COVID-19 的临床使用中取得了一定的效果,但是存在着成本高、难以大规模生产、易出现免疫逃逸等缺点。而以 SARS-CoV-2 酶或者 SARS-CoV-2 复制所需宿主过程或因子为靶标的小分子药物,则具有广谱性高、易于大规模生产等优点,前景广阔。

传统的 DAA 类(Direct-acting Antiviral Agents)抗病毒药物作用于病毒本身,需要针对每一种病毒进行特异性的研发,对新出现的病毒不具有广谱性和预见性。同时,DAA 药物研发速度远不及病毒的变异速度,面临着耐药性的巨大挑战。近年来,靶向宿主因子的 HTA 类(Host-targeting antiviral)抗病毒药物崭露头角。HTA 类药物通过靶向病毒复制必不可少通用宿主因子,不仅可有效抑制病毒复

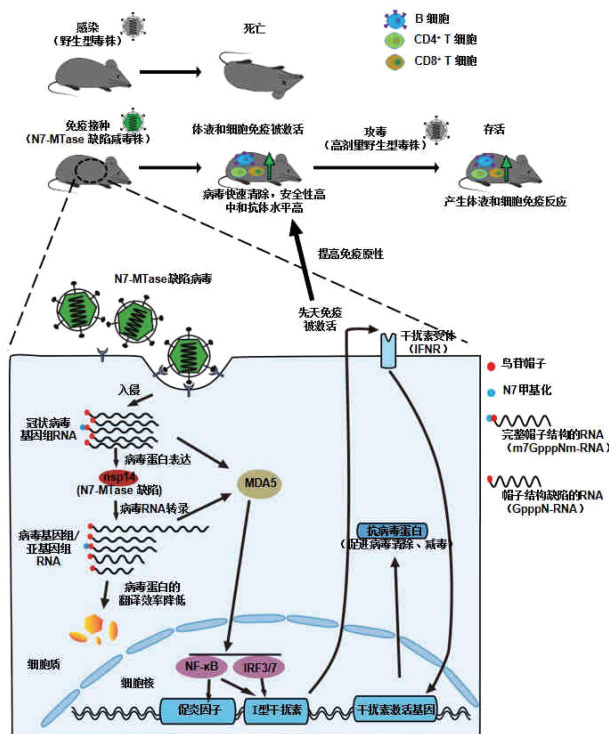


图 2 N7-甲基转移酶活性缺陷的减毒新冠病毒可诱导较强的体液免疫和细胞免疫应答

制,还能对抗病毒耐药突变,做到“以不变应万变”,成为应对新发突发病毒感染极具前景的药物研发方向。

徐可等^[22]长期聚焦多种 RNA 病毒复制所必须的核酸合成限速酶,开发了全新的嘧啶合成酶小分子抑制剂,具有抗病毒、抗炎双效作用,对新冠、流感、埃博拉等依赖尿嘧啶碱基进行复制的 RNA 病毒均具有强效抗病毒作用。该系列候选药物结构新颖、高效低毒、靶点明确、机制清晰,从病毒宿主的寄生关系而非病毒本身入手,切断病毒核酸合成过程的嘧啶来源,是抗病毒药物从病毒靶点转向宿主靶点的有效尝试,并在感染动物上取得了显著优于 DAA 药物的疗效(图 3)。中国科学院院士蒋华良研究员在同期刊发的点评中评价其为治疗新冠的新概念疗法(new concept of treatment for COVID-19)。同时,研究发现针对该宿主靶点的老药来氟米特和特立氟胺具有相同的抗病毒、抗炎双效效果。我们团队曾在武汉疫情暴发期间开展了来氟米特的同情性用药研究,结果表明服用来氟米特能明显缩短新冠病人的排毒时间,与对照组的 11 天排毒时间相比,来氟米特治疗组的排毒时间中位数为 5 天($P=0.046$),患者在用药后 C 反应蛋白水平也显著下降,表明炎症得到了有效控制,均能在短期康复出院^[23]。该研究还得到了国际同行的认同,促使来氟米特抗新冠肺炎的临床试验在全球多家医疗机构开展。

此外,陈宇等针对冠状病毒入侵细胞的过程,筛选到了小分子化合物 OLX,该化合物可以抑制多种冠状病毒的入侵过程,且 EC_{50} 在纳摩尔级别。其抗病毒谱包括但不限于新冠病毒、MERS-CoV、

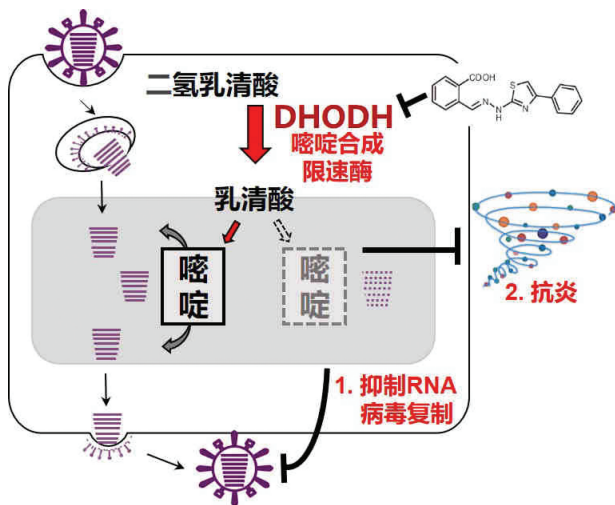


图3 基于宿主靶点嘧啶合成酶的广谱抗病毒药物作用机制

HCoV-229E、HCoV-OC43 和鼠肝炎病毒(MHV)等,是一种很有潜力的广谱抗病毒候选化合物,目前该小分子化合物在广谱抗冠状病毒中的应用已获中国专利授权(专利号:ZL202010078119.6)。

5 揭示新冠病毒亚基因组动态生成调控新机制

新冠病毒是一种单股正链 RNA 包膜病毒,基因组长约 30 000 nt。之前的研究显示,冠状病毒以正链 RNA 基因组为模板利用 RdRP 合成负链 RNA。其中,连续合成可产生互补的全长负链基因组 RNA,而不连续合成则通过模板跳跃产生不同长度的负链亚基因组 RNA (sgRNA)。这些负链 RNA 中间体作为模板可经由 RdRP 合成正链子代基因组 RNA 和亚基因组 RNA,由此完成基因组的复制和转录过程。生成亚基因组 RNA 过程中的模板跳跃及不连续合成称为“模板转换”(template switch),这是病毒高效生成可翻译 RNA 的途径。

我们团队利用 2005 年研究 SARS 冠状病毒亚基因组复制转录的经验及传统手段^[24],进一步整合 Nanopore 长读长测序与 NGS 深度测序技术及生物信息学分析,建立了绿猴 Vero E6 细胞系和人类 Caco-2 细胞系在感染新冠病毒后不同时间点的病毒亚基因组动态图谱,鉴定出 7 499 个 template switch 位点,并重构出 433 条(208 个 cluster)高置信度的全长亚基因组序列。定量分析发现新冠病毒亚基因组中 multi-switching(一个亚基因组中出现两个或两个以上的 template switch 事件)现象中的多个模板转换事件可级联发生。

该研究进一步探索了控制亚基因组生成效率的调控特征。通过分析介导亚基因组生成的 RNA 互动模式和配对能量,发现新冠病毒在亚基因组生成过程中除了经典的“positive-to-positive template switch”模式(正链模板合成负链 sgRNA 过程中发生的 template switch),也有部分亚基因组是由“negative-to-negative template switch”模式(负链模板合成正链 sgRNA 过程中发生 template switch)产生的,并发现新冠病毒不同亚基因组 sgRNAs 的丰度与 template switch 位点周围 RNA-RNA 配对能量、连续配对长度,特别是末端配对状态相关(图 4)。以前的 template switch 模型认为,特定的 TRS-motif 介导了 template switch 的发生。该研究发现有相当种类的亚基因组缺少 TRS-motif 支持,揭示更加泛化的 RNA-RNA 互动而非特异 TRS-

motif 是调控病毒亚基因组 RNA 生成的分子基础。此外,该研究发现新冠病毒在 ORF1ab 基因与 N 基因区域存在分布广泛、种类多但丰度较低的非经典 template switch 事件(ORF1ab 类型),该现象在新冠病毒感染的不同样品中均存在。通过对公开的新冠病毒感染的 Ribo-seq 和质谱数据分析,发现部分 ORF1ab 类型亚基因组可能拥有编码新蛋白/肽段的潜力。这一研究比较全面地揭示了新冠病毒亚基因组 sgRNA 的生成模式和调控规律(图 4),为开发新的抗病毒药物提供了潜在的靶点和新思路^[25]。

6 展 望

新冠病毒肺炎疫情已在全球范围流行两年多,深刻地影响着人类社会的方方面面。目前,人类在新冠病毒的基础研究和应用研究等方面均取得了重要的成果,特别是在新冠病毒的结构、复制机制、病毒与宿主的相互作用机制、新型疫苗的研发、抗病毒药物研究等方面获得了突破性的进展。这一破解新冠病毒谜题的过程,正体现了我国以及全球的科技工作者不畏艰难、勇于创新、团结协作的科学精神。同时,我们也应该看到,新冠病毒通过两年多的流行,病毒变异株也在不断出现,对疫苗和药物研发提出了新的挑战并极大地影响着疫情防控策略的调整。就本文提及的我们研究工作的多个方面,也值得进一步深入研究,如病毒气溶胶的形态结构、理化成分以及安全有效的消杀材料、病毒的精确快速检测技术、广谱疫苗及抗病毒药物等。因此,新冠病毒乃至其他新发、突发病毒的研究将是一个需要稳定支持、不断突破的科学领域。病毒与人类的博弈是一个长期的过程,随着研究的持续深入,人类必将获得更多有效的疫情防控解决方案,使得新冠病毒肺炎最终成为一个可防可治的疾病。

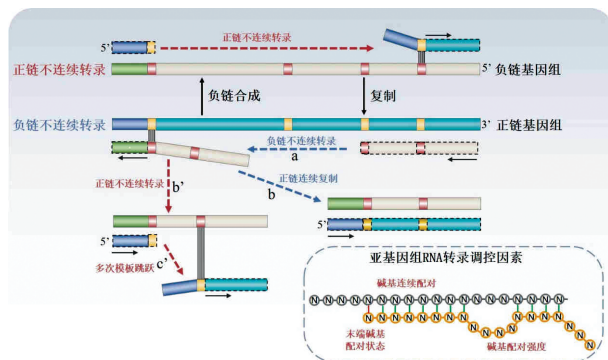


图 4 冠状病毒(新冠病毒)基因组/亚基因组 RNA 生成模式及调控新机制

参 考 文 献

- [1] Chen LJ, Liu WY, Zhang Q, et al. RNA based mNGS approach identifies a novel human coronavirus from two individual pneumonia cases in 2019 Wuhan outbreak. *Emerging Microbes & Infections*, 2020, 9(1): 313—319.
- [2] Zhu N, Zhang DY, Wang WL, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *The New England Journal of Medicine*, 2020, 382(8): 727—733.
- [3] Ren LL, Wang YM, Wu ZQ, et al. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. *Chinese Medical Journal*, 2020, 133(9): 1015—1024.
- [4] Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 2020, 579(7798): 270—273.
- [5] Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 2020, 579(7798): 265—269.
- [6] Liu Y, Ning Z, Chen Y, et al. Aerodynamic analysis of SARS-CoV-2 in two Wuhan hospitals. *Nature*, 2020, 582(7813): 557—560.
- [7] van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *Acute Medicine & Surgery*, 2020, 382(16): 1564—1567.
- [8] Hirose R, Itoh Y, Ikegaya H, et al. Differences in environmental stability among SARS-CoV-2 variants of concern: both *Omicron* BA. 1 and BA. 2 have higher stability. *Clinical Microbiology and Infection*, 2022; S1198—743X(22)00279.
- [9] Oswin HP, Haddrell AE, Otero-Fernandez M, et al. The dynamics of SARS-CoV-2 infectivity with changes in aerosol microenvironment. *medRxiv*, 2022, doi:10.1101/2022.01.08.22268944.
- [10] 郭元元,王昆,张宇,等. 6种国产新型冠状病毒核酸检测试剂检测性能比较与分析. *重庆医学*, 2020, 49(15): 2435—2439.
- [11] Suo T, Liu XJ, Feng JP, et al. ddPCR: a more accurate tool for SARS-CoV-2 detection in low viral load specimens. *Emerging Microbes & Infections*, 2020, 9(1): 1259—1268.
- [12] Liu XJ, Feng JP, Zhang QH, et al. Analytical comparisons of SARS-COV-2 detection by qRT-PCR and ddPCR with multiple primer/probe sets. *Emerging Microbes & Infections*, 2020, 9(1): 1175—1179.
- [13] Chen Y, Cai H, Pan JA, et al. Functional screen reveals SARS coronavirus nonstructural protein ns14 as a novel cap N7 methyltransferase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(9): 3484—3489.

- [14] Chen Y, Tao JL, Sun Y, et al. Structure-function analysis of severe acute respiratory syndrome coronavirus RNA cap guanine-N7-methyltransferase. *Journal of Virology*, 2013, 87(11): 6296—6305.
- [15] Sun Y, Wang ZD, Tao JL, et al. Yeast-based assays for the high-throughput screening of inhibitors of coronavirus RNA cap guanine-N7-methyltransferase. *Antiviral Research*, 2014, 104: 156—164.
- [16] Pan RG, Kindler E, Cao L, et al. N7-methylation of the coronavirus RNA cap is required for maximal virulence by preventing innate immune recognition. *mBio*, 2022, 13(1): e0366221.
- [17] Zhang Z, Liu QY, Sun Y, et al. Live attenuated coronavirus vaccines deficient in N7-Methyltransferase activity induce both humoral and cellular immune responses in mice. *Emerging Microbes & Infections*, 2021, 10(1): 1626—1637.
- [18] Liu QY, Xiong Q, Mei FH, et al. Antibody neutralization to SARS-CoV-2 and variants after 1 year in Wuhan, China. *The Innovation*, 2022, 3(1): 100181.
- [19] Ma CB, Chen XY, Mei FH, et al. Drastic decline in sera neutralization against SARS-CoV-2 *Omicron variant* in Wuhan COVID-19 convalescents. *Emerging Microbes & Infections*, 2022, 11(1): 567—572.
- [20] Zhao YL, Ni WJ, Liang SM, et al. Construction of a potent pan-vaccine based on the evolutionary tendency of SARS-CoV-2 spike protein. *bioRxiv*, 2021, doi:10.1101/2021.12.21.473594.
- [21] Bai L, Zhao YL, Dong JZ, et al. Coinfection with influenza A virus enhances SARS-CoV-2 infectivity. *Cell Research*, 2021, 31(4): 395—403.
- [22] Xiong R, Zhang LK, Li SL, et al. Novel and potent inhibitors targeting DHODH are broad-spectrum antivirals against RNA viruses including newly-emerged coronavirus SARS-CoV-2. *Protein & Cell*, 2020, 11(10): 723—739.
- [23] Hu K, Wang MM, Zhao Y, et al. A small-scale medication of leflunomide as a treatment of COVID-19 in an open-label blank-controlled clinical trial. *Virologica Sinica*, 2020, 35(6): 725—733.
- [24] Hussain S, Pan JA, Chen Y, et al. Identification of novel subgenomic RNAs and noncanonical transcription initiation signals of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Journal of Virology*, 2005, 79(9): 5288—5295.
- [25] Wang DH, Jiang A, Feng JP, et al. The SARS-CoV-2 subgenome landscape and its novel regulatory features. *Molecular Cell*, 2021, 81(10): 2135—2147. e5.

From Unknown to Known: The Power of Science in Deciphering SARS-CoV-2 Puzzles

Yu Chen Yingle Liu Yuan Liu Ke Xu Huan Yan Yu Zhou Ke Lan*

State Key Laboratory of Virology, Wuhan University, Wuhan 430072

Abstract The coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has been lasting for more than two years, which profoundly affects all aspects of human society. Researchers worldwide have carried out extensive and in-depth research on COVID-19 and made significant progress in viral pathogenesis, diagnostic techniques, vaccine and drug development. However, we are still facing challenges after the spreading and mutating of the viruses in the past two years, such as the decline of vaccine protection and inadequate drug effectiveness. This review introduces our teamwork on pathogen identification, viral transmission, novel diagnostic techniques, vaccine and drug development, and the regulatory mechanism of viral subgenomic RNA biogenesis, which will provide scientific insight and support for pandemic control.

Keywords SARS-CoV-2; pathogen discovery; antiviral technology; viral replication

(责任编辑 刘敏 姜钧译)

* Corresponding Author, Email: klan@whu.edu.cn