

姜逸, 程旭, 陈祥, 等. 冠状病毒 S1 亚基蛋白结构及其受体识别研究进展[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(11): 2267-2288.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.11.019

## 冠状病毒 S1 亚基蛋白结构及其受体识别研究进展

姜逸<sup>1</sup>, 许海旭<sup>2</sup>, 程旭<sup>1</sup>, 陈祥<sup>3</sup>, 高明燕<sup>1</sup>, 赵海娜<sup>4</sup>, 华姝<sup>4</sup>, 俞燕<sup>1</sup>,  
龚建森<sup>1</sup>, 张笛<sup>1</sup>

(1.江苏省家禽科学研究所, 江苏扬州 225125; 2.徐州工程学院, 江苏徐州 221200; 3.扬州大学/江苏省人兽共患病学重点实验室, 江苏扬州 225009; 4.江苏省苏北人民医院, 江苏扬州 225009)

**摘要:** 冠状病毒可感染哺乳动物和禽类, 其高度遗传变异性显著影响其宿主范围与组织亲嗜性。近二十年来, 3次由动物冠状病毒引发的人类疫情对全球公共卫生造成了严峻威胁。病毒刺突蛋白(S)是介导病毒入侵宿主细胞的关键, 其S1亚基通过识别并结合细胞表面受体, 直接决定了病毒的宿主适应性及组织趋向性。近年来, 随着冷冻电镜技术的发展, 多种冠状病毒S蛋白的高分辨率三维结构得以解析。本综述基于冷冻电镜解析的冠状病毒S蛋白的高分辨率三维结构系统总结了不同动物与人类冠状病毒S1亚基的结构特征及其与多种细胞受体的互作机制, 以期在为阐明冠状病毒跨种传播规律、预警潜在流行风险及开发广谱抗病毒药物提供依据。

**关键词:** 冠状病毒; 刺突蛋白(S); S1亚基蛋白结构; 受体

**中图分类号:** Q939.47 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)11-2267-22

## Research progress on the structure of coronavirus S1 subunit protein and its receptor recognition

JIANG Yi<sup>1</sup>, XU Haixu<sup>2</sup>, CHENG Xu<sup>1</sup>, CHEN Xiang<sup>3</sup>, GAO Mingyan<sup>1</sup>, ZHAO Haina<sup>4</sup>, HUA Shu<sup>4</sup>,  
YU Yan<sup>1</sup>, GONG Jiansen<sup>1</sup>, ZHANG Di<sup>1</sup>

(1. Jiangsu Institute of Poultry Science, Yangzhou 225125, China; 2. Xuzhou University of Technology, Xuzhou 221200, China; 3. Jiangsu Key Laboratory of Zoonosis/Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 4. Northern Jiangsu People's Hospital, Yangzhou 225009, China)

**Abstract:** Coronaviruses can infect mammals and birds, and their high genetic variability significantly affects their host range and tissue tropism. Over the past two decades, three human epidemics caused by animal coronaviruses have posed a severe threat to global public health. The viral spike protein (S) is crucial for mediating viral entry into host cells, and its S1 subunit directly determines viral host adaptability and tissue tropism by recognizing and binding to cell surface receptors. In recent years, with the development of cryo-electron microscopy technology, the high-resolution three-dimensional

收稿日期: 2025-06-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(32302865); 江苏省自然科学基金项目(BK20210077, BK20241979); 江苏省人兽共患病重点实验室资助项目(R2306); 徐州市科技局项目(KC22010)

作者简介: 姜逸(1987-), 女, 江苏扬州人, 博士, 副研究员, 研究方向为冠状病毒病原学、致病机制。(E-mail) yijiang620@126.com

通讯作者: 许海旭, (E-mail) 11942@xzit.edu.cn

structures of spike proteins from various coronaviruses have been resolved. Based on these high-resolution three-dimensional structures of coronavirus spike proteins determined by cryo-electron microscopy, this review systematically summarizes the structural characteristics of the S1 subunit from different animal and human coronaviruses, as well as the interaction mechanisms between the S1 subunit and various cellular receptors. It is expected to provide a foundation for elucidating the rules of coronavirus cross-

species transmission, early warning of potential epidemic risks, and developing broad-spectrum antiviral drugs.

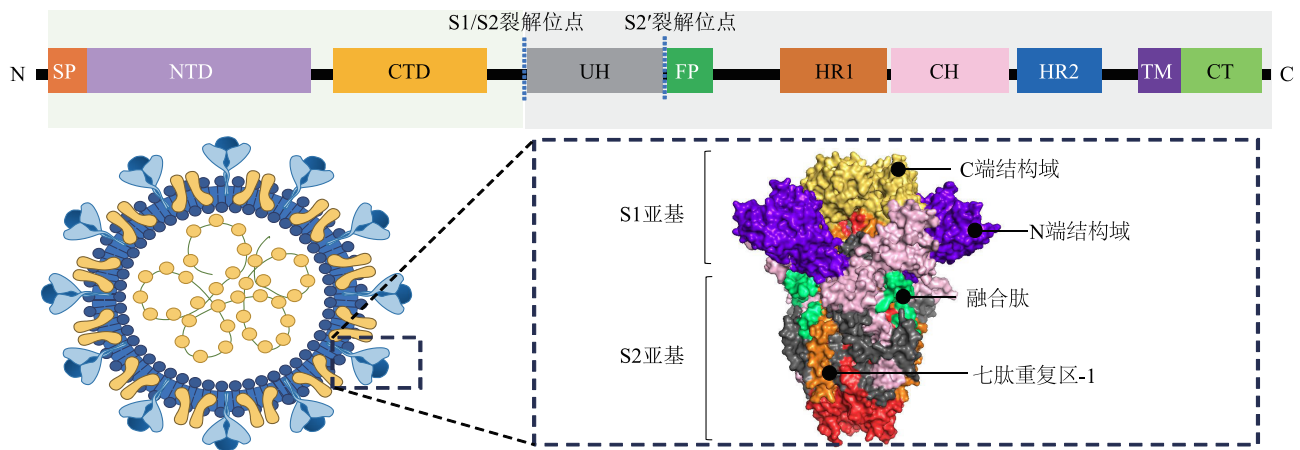
**Key words:** coronavirus; spike protein (S); S1 subunit protein structure; receptor

冠状病毒是套式病毒目、冠状病毒科的成员之一。根据系统发育分析与基因组结构差异,冠状病毒分为 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$  4个属。冠状病毒能够感染多种野生和家养动物,其中 $\alpha$ -冠状病毒和 $\beta$ -冠状病毒感染哺乳动物,而 $\gamma$ -冠状病毒和 $\delta$ -冠状病毒主要感染禽类。1937年研究人员从鸡体内分离出第1株冠状病毒——传染性支气管炎病毒(IBV)<sup>[1]</sup>。1967年,人冠状病毒229E(HCoV-229E)和人冠状病毒OC43(HCoV-OC43)从人体呼吸道样本中被分离出来,这些病毒导致患者患轻度的呼吸道感染<sup>[2-3]</sup>。随后,从2002年以来,全球共暴发了3次引起严重呼吸系统综合征的冠状病毒疫情,其病原体分别为严重急性呼吸综合征病毒(SARS-CoV)、中东呼吸综合征病毒(MERS-CoV)和严重急性呼吸综合征病毒2型(SARS-CoV-2),这些冠状病毒对人类健康造成了严重的威胁。

冠状病毒是一种具有包膜结构的病毒,直径为80~220 nm,其基因组为无节段、正义单链RNA,大小为26~32 kb。病毒颗粒至少包含4种结构蛋白,分别为棘突蛋白(S)、膜蛋白(M)、核衣壳蛋白(N)、包膜蛋白(E)。此外,部分 $\alpha$ 属和 $\beta$ 属冠状病毒还能够表达血凝素脂酶蛋白(HE)。作为RNA病毒,冠状病毒可通过突变与重组扩大宿主范围或改变组织嗜性<sup>[4-6]</sup>。基因组测序与系统发育分析结

果表明,一些冠状病毒时常跨越宿主的物种屏障<sup>[7-8]</sup>。绝大部分人类冠状病毒的起源来自蝙蝠冠状病毒,如HCoV-NL63、HCoV-229E、SARS-CoV、SARS-CoV-2等<sup>[9-10]</sup>,它们通过中间宿主直接或间接传播给人类<sup>[10]</sup>。2002年暴发SARS-CoV疫情,其病原体经蝙蝠-果子狸两次跨物种传播,最终感染人类<sup>[11]</sup>。2013年在中东出现的MERS-CoV,该病毒则通过其天然宿主单峰骆驼传播给人类<sup>[12]</sup>。HCoV-OC43起源于牛冠状病毒(BCoV)<sup>[13]</sup>。猪急性腹泻综合征病毒(SADS-CoV)起源于蝙蝠冠状病毒HKU2(BATCoV-HKU2),二者同属于 $\alpha$ -冠状病毒<sup>[14]</sup>。冠状病毒在进化过程中还会发生组织嗜性改变,从而演变成不同致病型的毒株。如鼠肝炎病毒(MHV)进化出嗜肝型和嗜神经型2种致病型<sup>[15]</sup>。猫冠状病毒(FCoV)进化出I型(FECV)和II型(FIPV)2种血清型,其中FECV主要感染胃肠道上皮细胞,而FIPV则感染单核巨噬细胞<sup>[16]</sup>。

如图1所示,S蛋白是介导冠状病毒进入宿主细胞的关键蛋白,其S1亚基与病毒的宿主范围与组织嗜性密切相关。S1亚基负责识别并结合宿主细胞受体,其受体结合域(RBD)上特定氨基酸残基的突变能够显著改变病毒的宿主特异性与感染效率。近年来,随着冷冻电镜技术的发展,S蛋白的晶体结构已逐步被解析。



NTD:氨基端结构域;CTD:羧基端结构域;UH:上游螺旋区;FP:融合肽;HR1:七肽重复区1;CH:中心螺旋区;HR2:七肽重复区2;TM:跨膜域;CT:胞质尾区。

图1 冠状病毒S蛋白结构

Fig.1 Coronavirus spike (S) protein structure

## 1 不同冠状病毒 S1 亚基的结构

S 蛋白是冠状病毒表面的关键膜蛋白,通常以三聚体的形式组装成球棒状结构。不同冠状病毒 S 蛋白的长度存在差异,通常由 1 100~1 600 个氨基酸残基组成,糖基化后其相对分子量达  $2.2 \times 10^5$ 。S 蛋白属于 I 型跨膜蛋白,包括信号肽、胞外结构域、跨膜结构域以及较短的胞质尾区 4 个部分。在病毒蛋白合成或病毒感染过程中,S 蛋白可被弗林蛋白酶等蛋白水解酶在 S1/S2 裂解位点或 S2' 位点切割成

S1 和 S2 两个亚基。S1 亚基负责识别并结合宿主受体,其结构通常包含 1~2 个受体结合域,即氨基端结构域(S1-NTD)和羧基端结构域(S1-CTD),以及 SD1 和 SD2 两个亚结构域。S2 亚基则介导病毒与细胞膜的融合过程。此外, $\alpha$ -冠状病毒 S1 亚基还进化出 1 个结构域 D0。S1-NTD 能够与糖或碳水化合物结合,而 S1-CTD 主要与蛋白质受体相结合<sup>[17]</sup>。如表 1 所示,不同冠状病毒的 S1 亚基在氨基酸序列与三维结构上存在显著差异,且参与受体结合的区域也各不相同。

表 1 不同冠状病毒 S1 亚基的结构域分布

Table 1 Domain distribution of the S1 subunit among different coronaviruses

冠状病毒 属 名称	NCBI 编号	PBD ID	S1-D0 位置 (aa)	S1-NTD 位置 (aa)	S1-CTD 位置 (aa)	SD1 位置 (aa)	SD2 位置 (aa)	
$\alpha$	FCoV <sup>[18]</sup>	MH292846.1	6JX7	1~275	276~540	541~695	696~754	755~791
	TGEV <sup>[19]</sup>		4F2M	1~248	249~670			
	PEDV <sup>[20]</sup>	JN599150.1	6U7K	1~234	232~471	504~637	472~503	638~761
	PRCoV <sup>[19]</sup>		4F5C					
	SADS-CoV <sup>[21]</sup>	AVM41569.1	6M39		18~255	276~402	403~459	460~538
	HCoV-229E <sup>[22]</sup>	NP_073551.1	7CYC_7CYD	16~206	207~268	297~434	446~496	500~564
	HCoV-NL63 <sup>[23]</sup>	JX504050.1	3KBH	1~179	179~481	481~616		
$\beta$	BCoV		4H14		15~294	326~540		
	MHV	FJ647226.1	3JCL		1~300	326~572	573~635	636~717
	PHEV <sup>[24]</sup>	MF083115.1			13~298	311~608		
	HCoV-OC43 <sup>[25]</sup>	KX344031.1	60HW		15~302	335~607		
	HCoV-HKU1 <sup>[26]</sup>	QOZME7	5I08		14~297	325~605		
	SARS-CoV <sup>[27]</sup>	NC_004718.3	5X58_5X5B		18~292	318~513	517~575	576~662
	SARS-CoV-2 <sup>[28]</sup>	NC_045512.2	6XR8_6XRA		14~306	331~528	528~591	591~686
	MERS-CoV <sup>[27]</sup>	NC_019843.3	5X59_5X5C_5X5F		18~350	381~588	595~655	656~751
$\gamma$	IBV <sup>[29]</sup>	MK728875.1	6CV0		21~237	269~414	248~269,414~492	237~248,492~567
$\delta$	PDCoV <sup>[30]</sup>	KJ601780.1	6B7N_6BFU		52~277	302~422	288~302,422~485	277~288,485~522

FCoV:猫冠状病毒;TGEV:猪传染性胃肠炎病毒;PEDV:猪流行性腹泻病毒;PRCoV:猪呼吸道冠状病毒;SADS-CoV:猪急性腹泻综合征冠状病毒;HCoV-229E:人冠状病毒 229E;HCoV-NL63:人冠状病毒 NL63;BCoV:牛冠状病毒;MHV:鼠肝炎病毒;PHEV:猪血凝性脑脊髓炎病毒;HCoV-OC43:人冠状病毒 OC43;HCoV-HKU1:人冠状病毒 HKU1;SARS-CoV:严重急性呼吸综合征冠状病毒;SARS-CoV-2:严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 型;MERS-CoV:中东呼吸综合征冠状病毒;IBV:传染性支气管炎病毒;PDCoV:猪  $\delta$  冠状病毒;NCBI:美国国家生物技术信息中心;S1-D0:S1 亚基 0 结构域;S1-NTD:S1 亚基氨基端结构域;S1-CTD:S1 亚基羧基端结构域;SD1:亚结构域 1;SD2:亚结构域 2。

### 1.1 氨基端结构域(S1-NTD)

如图 2 所示,冠状病毒 S 蛋白的 S1-NTD 主要由核心结构及其顶部的“天花板”结构组成,其中核心结构包含两层反平行的  $\beta$ -折叠层结构。在不同冠状病毒中,S1-NTD 的结构特征和受体识别机制呈现明显差异。 $\beta$ -冠状病毒中 HCoV-OC43、BCoV、HCoV-HKU1 以及猪血凝性脑脊髓炎病毒(PHEV)的 S1-NTD 核心结构与“天花板”结构之间形成 1 个疏水口袋,可与 *N*-乙酰基-9-*O*-唾液酸(Neu5/9Ac2)相互作用<sup>[31-32]</sup>。SARS-

CoV-2、MERS-CoV 的 S1-NTD 中也具有保守的唾液酸(Sia)结合口袋<sup>[33-35]</sup>,二者可能具有相似的 Sia 结合机制<sup>[36-37]</sup>。与其他  $\beta$ -冠状病毒不同,鼠肝炎病毒(MHV)是目前已知的唯一通过 S1-NTD 识别蛋白受体癌胚抗原相关细胞黏附分子 1a(CEACAM1a)的冠状病毒。该病毒 S1-NTD 的核心结构由两层  $\beta$ -折叠片构成  $\beta$ -三明治结构,其中一个片层由 6 条反平行的  $\beta$ -链组成,另一个片层由 7 条反平行的  $\beta$ -链组成<sup>[38]</sup>。 $\gamma$ -冠状病毒的 S1-NTD 具有半乳糖折叠结构,其核心结构由两层  $\beta$ -折

叠片形成 $\beta$ -三明治结构,每层 $\beta$ -折叠片由 6 条反平行的 $\beta$ -链组成<sup>[29]</sup>。在核心结构下方有 1 个 $\beta$ -折叠片和 1 个 $\alpha$ -螺旋,核心结构上方为环状“天花板”结构<sup>[29]</sup>。 $\delta$ -冠状病毒 PDCoV 的 S1-NTD 也具有半乳糖折叠,其核心结构由两层 $\beta$ -折叠片形成 $\beta$ -三明治结构,其中一个片层由 6 条反平行的 $\beta$ -链组成,另一个片层由 7 条反平行的 $\beta$ -链组成。PDCoV 的 S1-NTD 核心结构的顶部存在 1 个 $\alpha$ -螺旋,核心结构的下方为 1 个 $\beta$ -折叠片和 1 个 $\alpha$ -螺旋<sup>[30]</sup>。 $\alpha$ -冠状病毒 SADS-CoV 的 S1-NTD 核心结构由两层 $\beta$ -折叠片形成 $\beta$ -三明治结构,每层 $\beta$ -折叠片由 6 条反平行的 $\beta$ -链组成,在核心结构与“天花板”结构之间形成了口袋结构,口袋结构可能与糖结合有关<sup>[21]</sup>。值得注意的是,部分 $\alpha$ -冠状病毒,如 HCoV-NL63、FCoV、猪流行性腹泻病毒(PEDV)的 S1 亚基含有两个结构域,其中一个位于氨基端,被称为 S1-D0 结构域,该结构可能是由 NTD 复制产生的<sup>[39]</sup>。PEDV 的 S1-D0 结构域存在“向上”和“向下”两种构象状态<sup>[39-40]</sup>。“向下”构象中,S1-D0 向 S2 亚基折叠,“向上”构象中,S1-D0 呈螺旋浆状展开<sup>[39-40]</sup>。HCoV-NL63 和 HCoV-229E 的 S 蛋白所有 S1-D0 均为“向下”构象,而 FCoV 的 S 蛋白所有 S1-D0 均为“向上”构象<sup>[18,41-42]</sup>。

### 1.2 羧基端结构域(S1-CTD)

如图 3 所示,S1-CTD 位于 S 蛋白三聚体的顶端,SARS-CoV 和 MERS-CoV 的 S1-CTD 在“向上”和“向下”两种构象中动态转换。受体结合作用能够将 S1-CTD 稳定在“向上”构象,减弱 S1 亚基与 S2 亚基的相互作用,从而促进 S1 亚基和 S2 亚基的解离<sup>[27,43-44]</sup>。从蛋白质结构来看,不同冠状病毒的 S1-CTD 均包含 1 个核心结构和 1 个负责受体识别的受体结合基序(RBM),但其具体构造存在显著差异。SARS-CoV 的 S1-CTD 由 1 个核心结构和 1 个扩展环组成,其核心结构包括一层由 5 条反平行 $\beta$ -链构成的 $\beta$ -折叠片和几个短 $\alpha$ -螺旋。扩展环结构位于核心结构的边缘,形成 1 个平缓的凹面,两侧有两条脊,中间有两条反平行的 $\beta$ -链,该结构是与血管紧张素转换酶(ACE2)结合的 RBM。与 SARS-CoV 一样,MERS-CoV 的 S1-CTD 也含有 1 个核心结构和 1 个 RBM。虽然其核心结构与 SARS-CoV 的高度相似,但该病毒 RBM 是由 4 条 $\beta$ -链组成的 $\beta$ -折叠片,从而导致了病毒受体特异性的差异<sup>[45-47]</sup>。尽管 HCoV-NL63 的受体也是 ACE2,但其 S1-CTD 结构与 SARS-CoV 的明显不同<sup>[23]</sup>。作为 $\alpha$ -冠状病毒,HCoV-NL63 的 S1-CTD 的

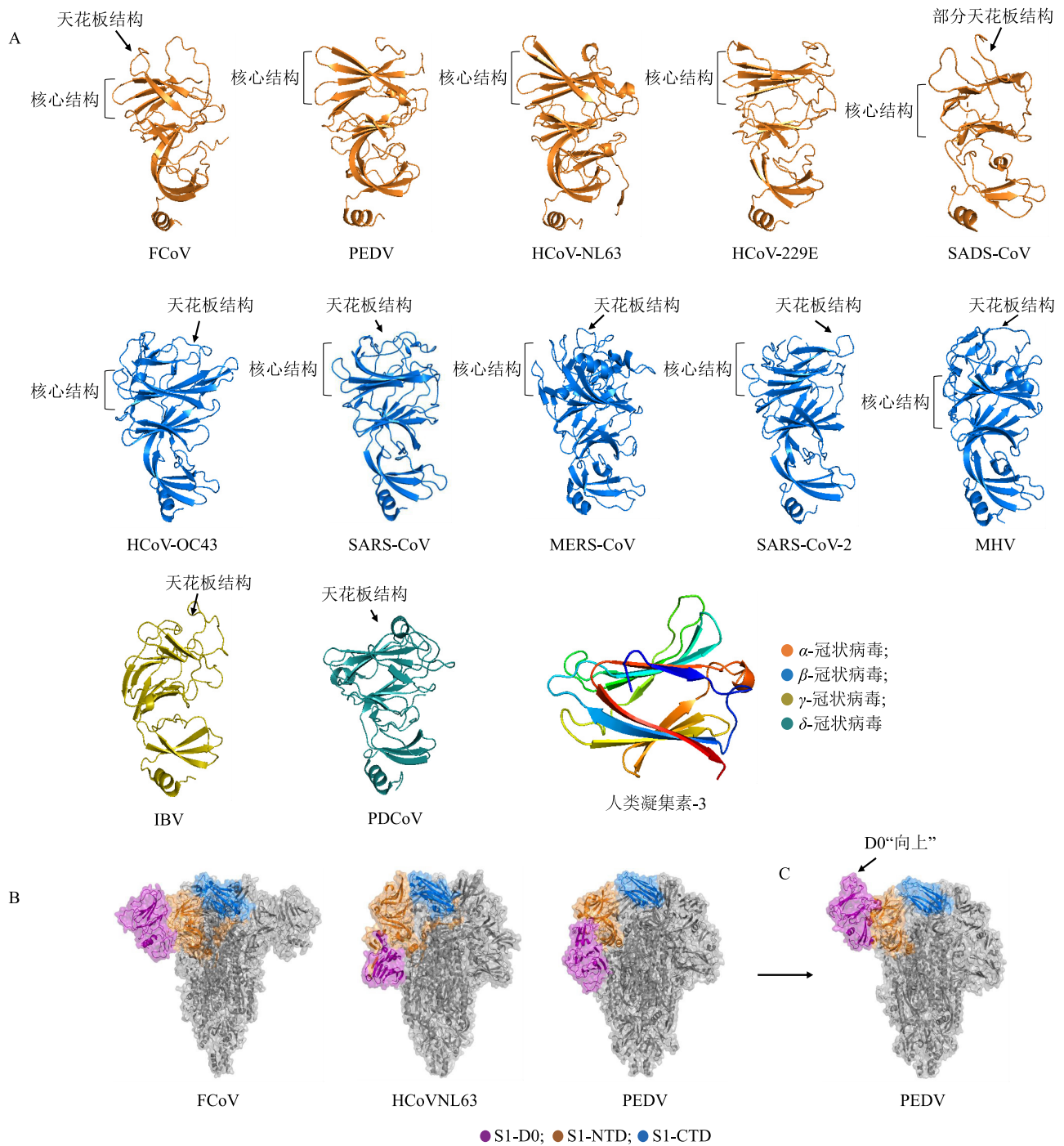
核心结构是 1 个由两层 $\beta$ -折叠片通过疏水作用叠加而成的 $\beta$ -三明治结构,而 RBM 区域则是由 3 个短而不连续的环组成<sup>[23]</sup>。另一种 $\alpha$ 冠状病毒 PRCoV 的 S1-CTD 也包含 1 个 $\beta$ -三明治的核心结构与 3 个 RBM 环,这与 HCoV-NL63 的 S1-CTD 的核心结构高度相似<sup>[19]</sup>。 $\gamma$ -冠状病毒属成员 IBV 的 S1-CTD 与其他冠状病毒存在明显差异,其核心结构是由两层 $\beta$ -折叠片组成的 $\beta$ -三明治结构,其中一层 $\beta$ -折叠片是由 5 条反平行的 $\beta$ -链组成,另一层是由 2 条平行的 $\beta$ -链组成<sup>[29]</sup>。在核心结构的边缘有 2 个扩展环,推测其可能是与尚未明确的宿主蛋白受体结合的 RBM<sup>[29]</sup>。 $\delta$ -冠状病毒 PDCoV 的 S1-CTD 是 3 条反平行的 $\beta$ -链与 3 条混合的 $\beta$ -链组成的三明治结构。在三明治核心结构的顶部,存在有类似于 HCoV-NL63 的 3 个 RBM 环<sup>[30]</sup>(图 3B)。

### 1.3 亚结构域 1(SD1)与亚结构域 2(SD2)

在冠状病毒 S 蛋白的 S1-CTD 与 S2 亚基之间还存在两个亚结构域 1(SD1)和亚结构域 2(SD2),这两个亚结构域将 S1 与 S2 连接。 $\gamma$ -冠状病毒 IBV 的 SD1 和 SD2 由不连续的区域组成<sup>[29]</sup>。如图 4 所示, $\delta$ -冠状病毒 PDCoV 的 SD1 和 SD2 同样不连续,SD1 是由两层 $\beta$ -折叠片组成的 $\beta$ -三明治结构,其中一层包含两条 $\beta$ -链,另一层包含 5 条 $\beta$ -链。SD2 也是由两层 $\beta$ -折叠片组成的 $\beta$ -三明治结构,每层 $\beta$ -折叠片由 3 条 $\beta$ -链组成<sup>[30]</sup>。

## 2 S1 亚基对不同受体的识别机制

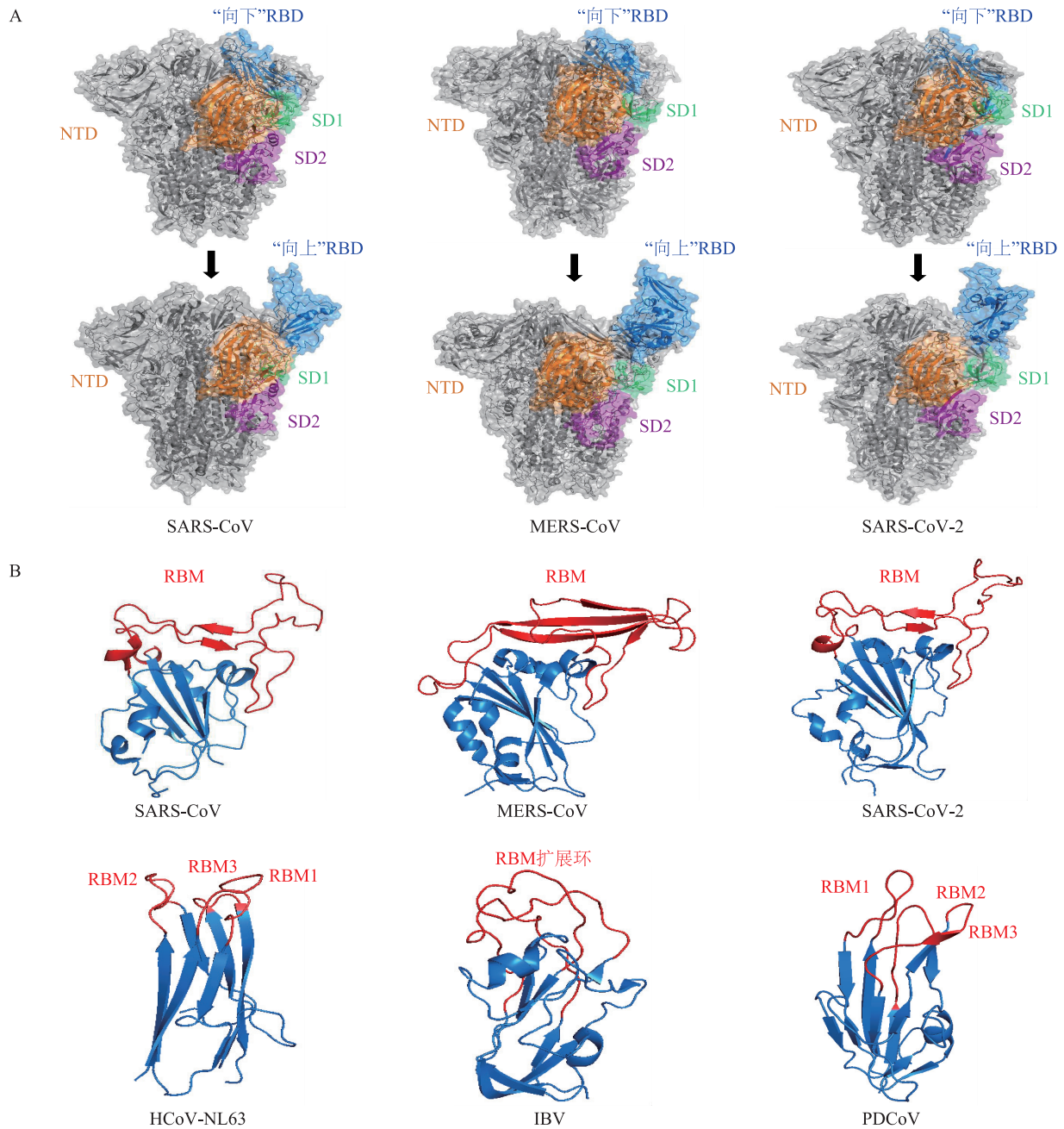
受体识别是刺突蛋白(S 蛋白)介导冠状病毒入侵宿主细胞的首要步骤,也是决定其跨物种间传播能力的关键环节。部分冠状病毒在进化过程中获得了识别不同宿主多种受体的能力,从而扩大了其感染范围。如表 2 所示,冠状病毒通过其 S 蛋白上的受体结合域(RBD)与宿主细胞表面的蛋白质受体或其他附着因子结合,进而启动感染过程。目前,已有 4 种蛋白质被确认为冠状病毒的主要受体,分别为氨肽酶 N(APN/CD13)、癌胚抗原相关细胞黏附分子 1a(CEACAM1a)、血管紧张素转换酶 2(ACE2)以及二肽基肽酶 4(DPP4)。除上述主要受体外,宿主细胞表面还存在多种可作为附着因子或共受体的分子,如唾液酸(Sia)、硫酸乙酰肝素(HS)、C 型凝集素和神经纤毛蛋白-1(NRP-1)等。这些分子通常通过辅助病毒与主要受体的结合,在调节冠状病毒的组织嗜性、致病性方面发挥重要作用。



A: S1-RBD的“向上”或“向下”两种构象; B: 部分  $\alpha$ -冠状病毒 S1-D0 结构; C: PEDV 的 S1-D0“向上”构象(蛋白质数据库标志符: 7W73)。FCoV: 猫冠状病毒(蛋白质数据库标志符: 6JX7); PEDV: 猪流行性腹泻病毒(蛋白质数据库标志符: 6U7K); HCoV-NL63: 人冠状病毒 NL63(蛋白质数据库标志符: 5SZS); HCoV-229E: 人冠状病毒 229E(蛋白质数据库标志符: 7CYC); SADS-CoV: 猪急性腹泻综合征病毒(蛋白质数据库标志符: 6M39); HCoV-OC43: 人冠状病毒 OC43(蛋白质数据库标志符: 6OHW); SARS-CoV: 严重急性呼吸综合征冠状病毒(蛋白质数据库标志符: 5X58); MERS-CoV: 中东呼吸综合征病毒(蛋白质数据库标志符: 5X59); SARS-CoV-2: 严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 型(蛋白质数据库标志符: 6XR8); MHV: 鼠肝炎病毒(蛋白质数据库标志符: 3JCL); IBV: 传染性支气管炎病毒(蛋白质数据库标志符: 6CV0); PDCoV: 猪  $\delta$  冠状病毒(蛋白质数据库标志符: 6B7N)。

图 2 不同冠状病毒 S1-NTD 结构

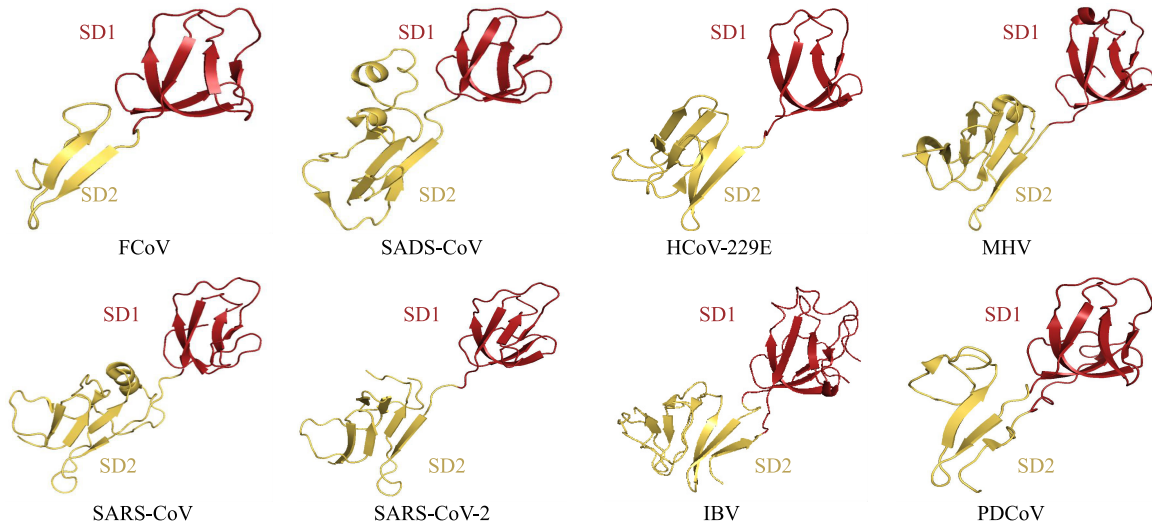
Fig.2 Structure of the S1-NTD among different coronaviruses



A;S1-RBD 结构;B;S1-CTD 结构。SARS-CoV;严重急性呼吸综合征冠状病毒(蛋白质数据库标志符:5X58);MERS-CoV;中东呼吸综合征病毒(蛋白质数据库标志符:5X59);SARS-CoV-2;严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 型(蛋白质数据库标志符:6XR8);HCoV-NL63;人冠状病毒 NL63(蛋白质数据库标志符:3KBH);IBV;传染性支气管炎病毒(蛋白质数据库标志符:6CV0);PDCoV;猪  $\delta$  冠状病毒(蛋白质数据库标志符:6B7N);NTD;氨基端结构域;SD1;亚结构域 1;SD2;亚结构域 2;RBD;受体结合域;RBM;受体结合基序。SARS-CoV S1-RBD “向下” 构象;严重急性呼吸综合征冠状病毒 S1 亚基受体结合域的“向下” 构象(蛋白质数据库标志符:5X58);SARS-CoV S1-RBD “向上” 构象;严重急性呼吸综合征冠状病毒 S1 亚基受体结合域的“向上” 构象(蛋白质数据库标志符:5X5B);MERS-CoV S1-RBD “向下” 构象;中东呼吸综合征病毒 S1 亚基受体结合域的“向下” 构象(蛋白质数据库标志符:7YN0);MERS-CoV S1-RBD “向上” 构象;中东呼吸综合征病毒 S1 亚基受体结合域的“向上” 构象(蛋白质数据库标志符:5X5F);SARS-CoV-2 S1-RBD “向下” 构象;严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 型 S1 亚基受体结合域的“向下” 构象(蛋白质数据库标志符:6ZB5);SARS-CoV-2 S1-RBD “向上” 构象;严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 型 S1 亚基受体结合域的“向上” 构象(蛋白质数据库标志符:7KJ5)。

图 3 不同冠状病毒 S1-CTD 结构

Fig.3 Structure of the S1-CTD among different coronaviruses



FCoV:猫冠状病毒(蛋白质数据库标志符:6JX7);SADS-CoV:猪急性腹泻综合征病毒(蛋白质数据库标志符:6M39);HCoV-229E:人冠状病毒 229E(蛋白质数据库标志符:7CYC);MHV:鼠肝炎病毒(蛋白质数据库标志符:3JCL);SARS-CoV:严重急性呼吸综合征病毒(蛋白质数据库标志符:5X58);SARS-CoV-2:严重急性呼吸综合征病毒 2(蛋白质数据库标志符:6XR8);IBV:传染性支气管炎病毒(蛋白质数据库标志符:6CV0);PDCoV:猪 $\delta$ 冠状病毒(蛋白质数据库标志符:6B7N)。

图 4 不同冠状病毒亚结构域 1 (SD1) 与亚结构域 2 (SD2) 结构

Fig.4 Structure of subdomain 1 (SD1) and subdomain 2 (SD2) among different coronaviruses

表 2 不同冠状病毒的宿主与蛋白质受体

Table 2 Hosts and protein receptors of different coronaviruses

冠状病毒		受体			附着因子	
属	名称	宿主	名称	PBD ID 受体结合基序位置(aa)		
$\alpha$	FCoV	猫	fAPN <sup>[48]</sup>		DC-SIGN <sup>[49]</sup> 、HS <sup>[50]</sup>	
	TGEV	猪	pAPN <sup>[51]</sup>	4F2M 524~536,570~574,632,634 <sup>[19]</sup>	Neu5Ac <sup>[52]</sup>	
	PEDV	猪	未知		HS <sup>[53]</sup> 、DC/L-SIGN <sup>[54]</sup>	
	PRCoV	猪	pAPN <sup>[55]</sup>	4F5C 297~313,340~361 <sup>[56]</sup>		
	SADS-CoV	猪	未知		Sia <sup>[57]</sup> 、HS <sup>[57]</sup>	
	HCoV-229E	人	hAPN <sup>[58]</sup>	6U7G 315~320,352~359,404~408 <sup>[59]</sup>	DC/L-SIGN <sup>[60]</sup>	
	HCoV-NL63	人	hACE2 <sup>[61]</sup>	7FC3 493~513,531~541,585~590 <sup>[23]</sup>	HS <sup>[62]</sup> 、DC/L-SIGN <sup>[63]</sup>	
	$\beta$	BCoV	牛	未知		9-O-Ac-Sia <sup>[64]</sup>
		MHV	鼠	mCEACAM1a <sup>[65]</sup>	3R4D 15~29,86~89,160,172~174 <sup>[38]</sup>	9-O-Ac-Sia <sup>[66]</sup> 、HS <sup>[67-68]</sup>
		PHEV	猪	pDPP4 <sup>[24]</sup>	6QFY 433~585 <sup>[24]</sup>	9-O-Ac-Sia <sup>[69]</sup>
HCoV-OC43		人	未知		9-O-Ac-Sia <sup>[69-70]</sup> 、HS <sup>[50]</sup>	
HCoV-HKU1		人	hTMPRSS2 <sup>[71]</sup>	8VGT 488,505,507,512~515,517~518,520~522,527~530,532,544 <sup>[72]</sup>	9-O-Ac-Sia <sup>[69]</sup>	
SARS-CoV		人	hACE2 <sup>[73]</sup>	2AJF 424~494 <sup>[23]</sup>	HS <sup>[74-75]</sup> 、DC/L-SIGN <sup>[76-77]</sup>	
SARS-CoV-2		人	hACE2 <sup>[78]</sup>	6M0J 438~506 <sup>[79]</sup>	Sia <sup>[80]</sup> 、HS <sup>[74]</sup> 、NRP-1 <sup>[81-82]</sup> 、DC/L-SIGN <sup>[83]</sup>	
MERS-CoV		人	hDPP4 <sup>[46]</sup>	4KR0 484~567 <sup>[47]</sup>	Neu5Ac <sup>[84-85]</sup>	
$\gamma$	IBV	鸡	未知		Neu5Ac <sup>[86]</sup> 、HS <sup>[87-88]</sup> 、DC/L-SIGN <sup>[89]</sup>	
	$\delta$	PDCoV	猪	pAPN <sup>[90-91]</sup>	7VRQ 317~322,357,389,391,394~401,403 <sup>[92]</sup>	Sia <sup>[93]</sup> 、HS <sup>[94]</sup>

FCoV:猫冠状病毒;TGEV:猪传染性胃肠炎病毒;PEDV:猪流行性腹泻病毒;PRCoV:猪呼吸道冠状病毒;SADS-CoV:猪急性腹泻综合征冠状病毒;HCoV-229E:人冠状病毒 229E;HCoV-NL63:人冠状病毒 NL63;BCoV:牛冠状病毒;MHV:鼠肝炎病毒;PHEV:猪血凝性脑脊髓炎病毒;HCoV-OC43:人冠状病毒 OC43;HCoV-HKU1:人冠状病毒 HKU1;SARS-CoV:严重急性呼吸综合征冠状病毒;SARS-CoV-2:严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 型;MERS-CoV:中东呼吸综合征冠状病毒;IBV:传染性支气管炎病毒;PDCoV:猪 $\delta$ 冠状病毒;PBD ID:蛋白质数据库标志符;fAPN:猫氨肽酶 N;pAPN:猪氨肽酶 N;hAPN:人氨肽酶 N;hACE2:人血管紧张素转换酶 2;mCEACAM1a:鼠癌胚抗原相关黏附分子 1a;pDPP4:猪二肽基肽酶 4;hTMPRSS2:人跨膜丝氨酸蛋白酶 2;hDPP4:人二肽基肽酶 4;DC-SIGN:树突状细胞特异性细胞间黏附分子-3-结合非整合素;HS:硫酸乙酰肝素;Neu5Ac:N-乙酰神经氨酸;DC/L-SIGN:树突状细胞/肝脏/淋巴结特异性细胞间黏附分子-3-结合非整合素;Sia:唾液酸;9-O-Ac-Sia:9-O-乙酰化唾液酸;NRP-1:神经纤毛蛋白-1。

## 2.1 氨肽酶 N (APN)

氨肽酶 N (APN) 属于 II 型金属蛋白酶, 由 967 个氨基酸残基组成, 包括 1 个较短的 N 端胞质结构域、1 个独立的跨膜结构域以及 1 个包含活性位点的胞外结构域<sup>[95-96]</sup>。哺乳动物的 APN 以头对头二聚体的形式锚定于细胞膜表面<sup>[97]</sup>, 该蛋白质是 HCoV-229E、TGEV、II 型 FCoV 以及 CCoV 等多种  $\alpha$ -冠状病毒入侵宿主细胞的关键受体<sup>[48, 51, 58-98]</sup>。这些病毒的 S 蛋白 CTD 结构域可与宿主的 APN 结合, 但其受体结合结构域 (RBD) 的长度、互作模式以及结合界面的分子特征存在差异<sup>[19, 99]</sup>。 $\alpha$ -冠状病毒的受体结合基序 (RBM) 通常由 3 个不连续的短环组成, 尽管 HCoV-229E、TGEV、FCoV 和 CCoV 的 S 蛋白具有较高的同源性, 其 APN 结合域却位于非同源区域<sup>[100]</sup>。如 TGEV 与 APN 结合的 RBD 位于 S 蛋白第 522~744 位氨基酸<sup>[52]</sup>, 而 HCoV-229E 的 RBD 位于 S 蛋白第 417~547 位氨基酸<sup>[59, 101]</sup>。PRCoV 是 TGEV 自然缺失突变体, 这两种病毒的 RBD 氨基酸序列同源性达 97%, 且 RBD 上与受体互作的残基完全相同, 表明 TGEV 和 PRCoV 与 pAPN 上的相同区域结合<sup>[19, 92]</sup>。研究发现, APN 可呈现“开放”或“闭合”两种构象状态<sup>[102]</sup>, TGEV、PRCoV 仅能与“开放”构象的 pAPN 结合<sup>[103]</sup>, 而 HCoV-229E 的 S1 亚基的 RBD 能够与任何一种构象状态的 hAPN 结合<sup>[102]</sup>。

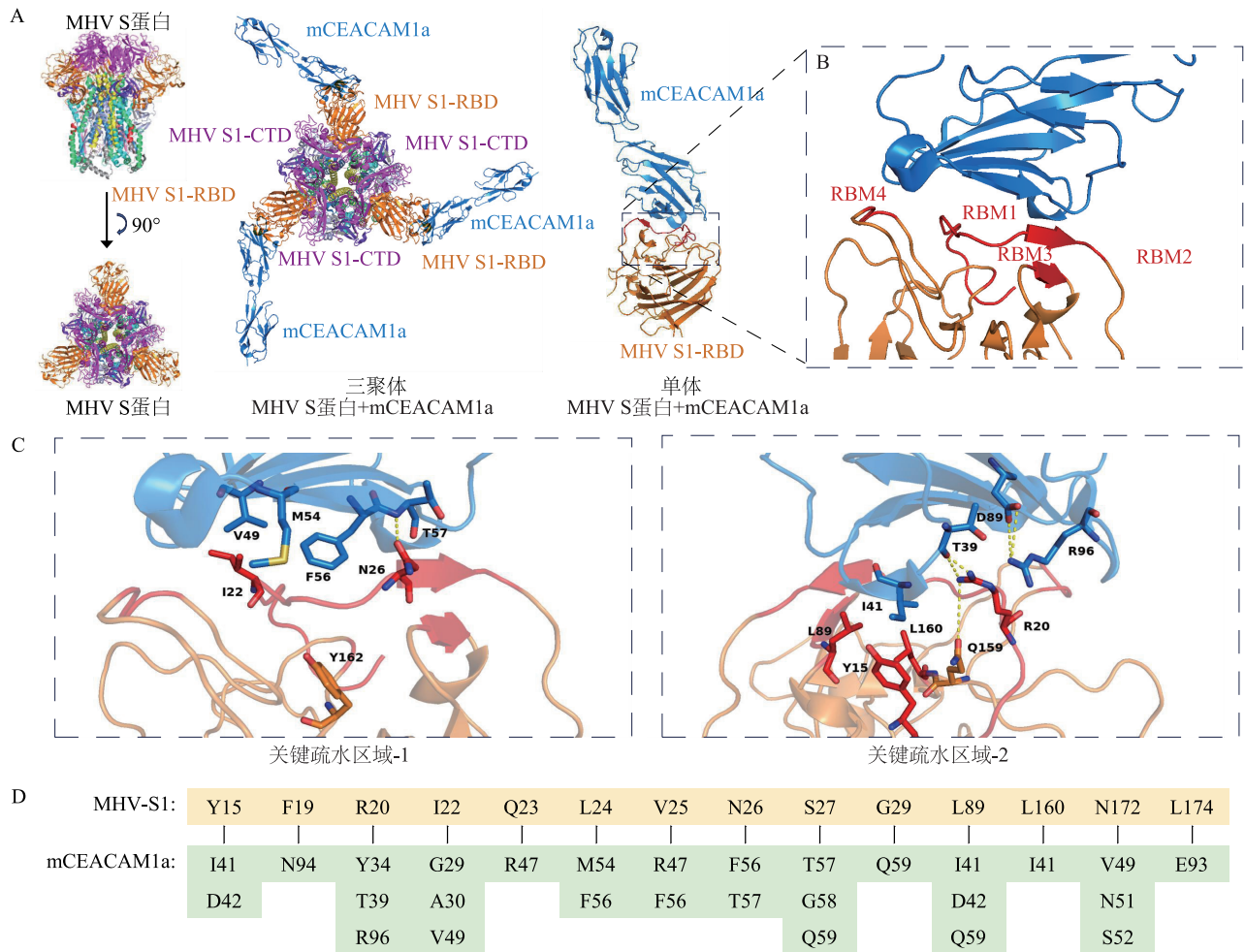
冠状病毒 S 蛋白 RBD 与受体之间主要通过氢键、范德华力、盐桥等进行相互作用。TGEV 中, RBD 的 Y528 残基上的羟基能够与 pAPN 上的 E731 残基和 W737 残基的侧链形成氢键。G527 残基位于  $\beta$  转角近 pAPN 一侧, 与 pAPN 的 N736 残基的主链形成氢键。RBD 的 Q530 残基的侧链与 pAPN 的 NAG7361 和 N736 残基的侧链构成氢键网络<sup>[19]</sup>。如图 5 所示, 在 HCoV-229E 的 RBD 的 3 个环状结构中, Loop 1 最长, 其 N319 残基的侧链与 hAPN 的 E291 残基的羰基形成氢键。C317 残基和 C320 残基形成的二硫键与 hAPN 的 Y289 残基和 E291 残基的侧链发生相互作用<sup>[103]</sup>。C317 残基和 Y318 残基与 hAPN 的 Y289 残基、V290 残基、I309 残基、A310 残基和 L318 残基之间存在非极性相互作用。Loop 2 的 R359 残基与 hAPN 的 D315 残基形成盐桥, Loop 3 的 W404 残基、S407 残基与 hAPN 的 D315 残基、K292 残基发生相互作用<sup>[103]</sup>。属于  $\delta$ -冠状病毒的 PDCoV 也可通

过结合 pAPN 入侵宿主细胞, 但其受体结合位点与 HCoV-229E、PRCoV 存在差异。与 PRCoV 和 HCoV-229E 的 RBM 相比, PDCoV 的 RBD 较短<sup>[92]</sup>。PDCoV 的 RBM 由 4 条  $\beta$ -链和 2 个环组成, 其 RBD 的 D317 残基、F318 残基以及 E320 残基均能够与 pAPN 的 K379 残基形成氢键或者盐桥<sup>[92]</sup>; pAPN 的 E426 残基、W429 残基分别与 RBD 的 R322 和 E320 残基形成盐桥或氢键。PDCoV S-RBD 的残基 (N397-R401) 通过氢键和盐桥与 APN 的  $\alpha$ 19-20 环 (R741-E745) 结合, 其中 Y398 残基还能够与 pAPN 的 H789 残基形成盐桥<sup>[92]</sup>。与 HCoV-229E 类似, PDCoV 与闭合构象的 APN 结合<sup>[92]</sup>。

## 2.2 癌胚抗原相关细胞黏附分子 1a (CEACAM1a)

MHV-A59 受体蛋白 CEACAM1a 是首个被鉴定出的冠状病毒受体, 属于癌胚抗原 (CEA) 家族<sup>[104-105]</sup>。癌胚抗原相关黏附分子 1 (CEACAM1) 由 4 个胞外 Ig 样结构域 (从 N 端起依次记为 N、A1、B、A2, 或记为 D1、D2、D3、D4)、1 个跨膜结构域以及 1 个胞质尾区组成<sup>[106-107]</sup>。CEACAM1a 是 CEACAM1 基因编码蛋白质通过选择性剪接产生的一种主要蛋白质亚型。如图 6 所示, 鼠肝炎病毒 (MHV) S 蛋白三聚体中, 每个单体的 S1-NTD 结构域相距较远, 使得每个 S1-NTD 均可独立结合 1 个 CEACAM1a 分子<sup>[108]</sup>。不同致病型 MHV 的 S1-NTD 负责受体结合的区域 (RBM) 在氨基酸序列和结构上较为保守<sup>[109]</sup>。晶体结构和定点突变分析结果表明, CEACAM1a 的 D1 结构域中有 17 个氨基酸残基能够与 MHV 的 S1-NTD 中 14 个氨基酸残基发生相互作用<sup>[38]</sup>, 该结合界面以疏水作用和分散的极性相互作用为主导, 其中 2 个疏水区域尤为关键: 第 1 个区域以 CEACAM1a 的 I41 残基为中心, 被 MHV 的 S 蛋白的 Y15 残基、L89 残基和 L160 残基的疏水侧链以及 MHV S 蛋白的 Q159 残基和 R20 残基的脂肪族侧链环绕<sup>[110]</sup>; 第 2 个区域涉及多个疏水残基, 包括 MHV 的 I22 残基和 Y162 残基以及 mCEACAM1a 的 V49 残基、M54 残基和 F56 残基。此外, 氢键或盐桥进一步稳定了这些疏水区域, 例如 MHV 的 S 蛋白的 R20 残基与受体 T39 残基的主链羰基之间形成氢键, 受体的 R96 残基与 D89 残基之间构成双分支盐桥。同时, MHV 的 S 蛋白的 N26 残基还与受体的 T57 残基的主链酰胺基团之间形成氢键<sup>[38]</sup>。





A: MHV+CEACAM1a (蛋白质数据库标志符: 3R4D); B: MHV S-RBM; C: MHV S-RBM 中的两个关键疏水区域; D: MHV-RBM 残基与 mCEACAM1a-VBM 残基互作<sup>[38]</sup>。MHV: 鼠肝炎病毒; mCEACAM1a: 鼠胚胎抗原相关黏附分子 1a; RBM: 受体结合基序; S1-CTD: S1 亚基羧基端结构域; S1-RBD: S1 亚基受体结合域。

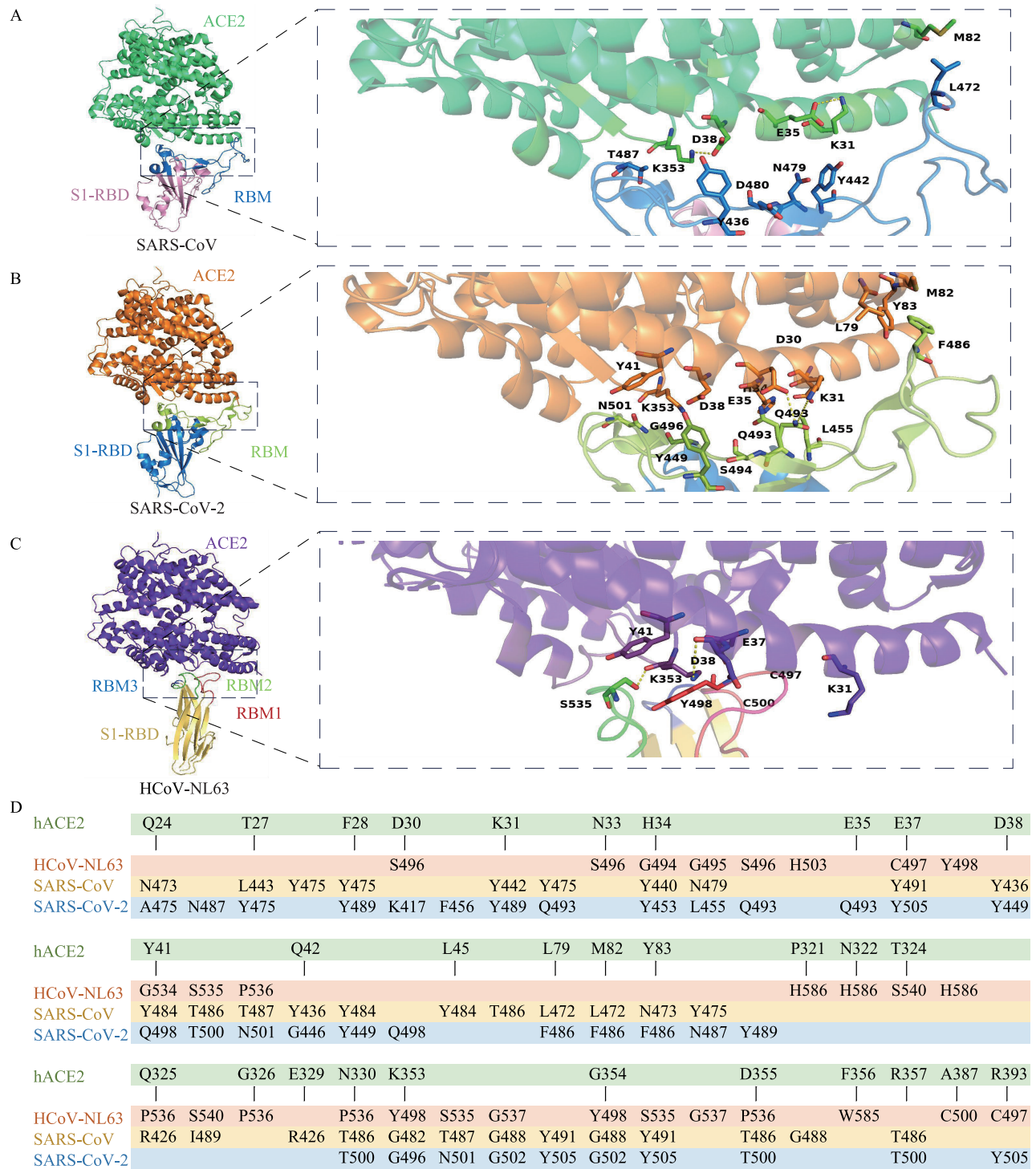
图 6 鼠肝炎病毒 S1 亚基受体结合结构域 (S1-RBD) 与癌胚抗原相关黏附分子 1a (CEACAM1a) 结合形成的晶体结构

Fig.6 The crystal structure formed by the binding of the spike protein S1 subunit receptor-binding domain (S1-RBD) of mouse hepatitis virus (MHV) to carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1a (CEACAM1a)

### 2.3 血管紧张素转换酶 (ACE2)

ACE2 是一种锌依赖的金属酶, 具有羧肽酶活性, 其主要功能是将血管紧张素 II 转化为血管紧张素。SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 的 S 蛋白氨基酸序列具有约 77% 的同源性, 二者均能够识别 hACE2<sup>[111-112]</sup>, 其中 SARS-CoV-2 的 S1 亚基受体结合域 (S1-RBD) 与 hACE2 的亲和力显著高于 SARS-CoV 的 S1-RBD<sup>[113]</sup>。值得注意的是, ACE2 也是  $\alpha$ -冠状病毒属成员 HCoV-NL63 的受体<sup>[62]</sup>。如图 7 所示, ACE2 的病毒结合基序 (VBM) 上存在两个重要结合位点, 分别为 K31 残基和 K353 残基, 这两个残基在病毒与受体结合过程中分别形成两个盐桥, 使

病毒与 ACE2 受体的结合变得极其牢固和稳定<sup>[114]</sup>。在 SARS-CoV RBD 与 hACE2 的复合物结构中, K31 与 K353 各自形成的盐桥埋藏在界面的疏水环境中, RBM 的 Y442 残基负责稳定和支撑 K31 残基形成的盐桥, 而 T487 残基负责稳定和支撑 K353 残基形成的盐桥<sup>[115]</sup>。SARS-CoV-2 的 RBD-ACE2 与 SARS-CoV 的 RBD-ACE2 结构相似, ACE2 的 D30 残基、K31 残基、H34 残基、Y41 残基、K353 残基等极性残基通过氢键和盐桥与 RBD 相互作用<sup>[116-118]</sup>。此外, RBD 的 F486 残基和 ACE2 的 L79 残基、M82 残基和 Y83 残基之间形成疏水作用, 进一步增强了受体结合的特异性与稳定性<sup>[116-118]</sup>。



A: SARS-CoV + hACE2 (蛋白质数据库标志符: 2AJF); B: SARS-CoV-2 + hACE2 (蛋白质数据库标志符: 6M0J); C: HCoV-NL63 + hACE2 (蛋白质数据库标志符: 7FC3); D: 不同冠状病毒 RBM 残基与 hACE2-VBM 残基分子互作<sup>[79]</sup>。SARS-CoV: 严重急性呼吸综合征病毒; SARS-CoV-2: 严重急性呼吸综合征病毒 2 型; HCoV-NL63: 人冠状病毒 NL63; S1-RBD: S1 亚基受体结合域; ACE2: 血管紧张素转换酶; RBM: 受体结合基序; hACE2: 人血管紧张素。

图 7 不同冠状病毒 S1 亚基受体结合结构域 (S1-RBD) 与人血管紧张素 (hACE2) 结合形成的晶体结构

Fig.7 The crystal structure formed by the binding of the spike protein S1 subunit receptor-binding domain (S1-RBD) from different coronaviruses to human angiotensin-converting enzyme 2 (hACE2)

与致病性较强的 SARS-CoV、SARS-CoV-2 不同, HCoV-NL63 仅能够引起轻度或亚临床感染, 但其 S1-CTD 和 hACE2 的结合效率与 SARS-CoV 相当<sup>[119]</sup>。HCoV-NL63 的 S 蛋白 RBD 中存在 3 对二硫键, 分别为 C497-C500、C516-C567、C550-C577, 其中 C497-C500 有助于稳定受体结合环, 而 C516-C567 和 C550-C577 则共同维持远端结构域的构象。HCoV-NL63 的 RBM 由 3 个不连续的  $\beta$  环状结构组成, 分别为 RBM1、RBM2 和 RBM3, 但只有 RBM1 和 RBM2 直接参与 S 蛋白与 ACE2 的结合<sup>[114]</sup>。HCoV-NL63 与 SARS-CoV 的 S1-CTD 结构不同, 但二者结合于 ACE2 上相同的区域, ACE2 的 K353 残基在 HCoV-NL63 与受体的结合过程中发挥关键作用<sup>[114]</sup>。病毒与受体结合后, ACE2 的 K353 残基嵌入由 ACE2 的 Y41 残基和 NL63-CoV 的 S 蛋白的 Y498 残基的芳香环以及 ACE2 的 E37 残基和 S 蛋白的 S535 残基的烷基链共同构成的疏水隧道中。在隧道末端, ACE2 的 D38 残基与 K353 残基形成盐桥, 从而加强了病毒-受体相互作用<sup>[23]</sup>。

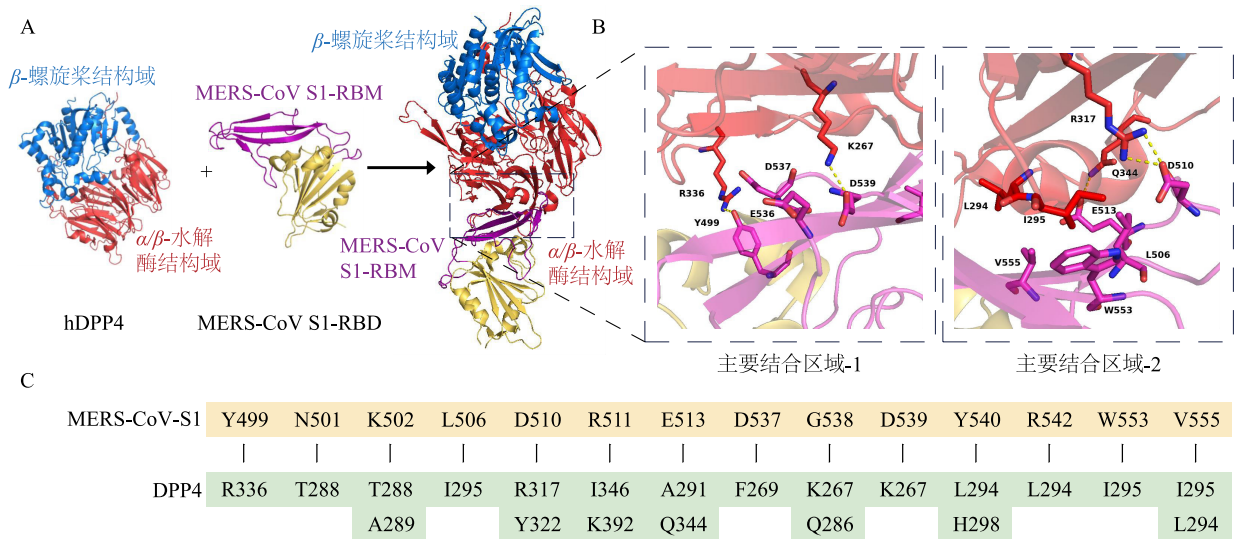
#### 2.4 二肽基肽酶 4 (DPP4)

二肽基肽酶 4 (DPP4) 是一种丝氨酸外肽酶, 在细胞表面以 II 型跨膜糖蛋白同源二聚体的形式存在。如图 8 所示, DPP4 的每个单体由靠近细胞膜的  $\alpha/\beta$  水解酶结构域和远离细胞膜的  $\beta$ -螺旋桨结构域组成<sup>[120-121]</sup>。MERS-CoV 以 DPP4 作为其主要受体, 其 RBD 位于 S 蛋白 367~606 氨基酸残基处, 其中 S1 亚基的受体结合基序 (S1-RBM) 包含 4 条反平行的  $\beta$ -链,  $\beta$ -链形成的平面用于结合 DPP4 的  $\beta$ -螺旋桨结构域<sup>[115]</sup>。在 MERS-CoV 的 S 蛋白与 DPP4 的结合界面, 共有 14 个 S 蛋白残基与 15 个 DPP4 残基接触, 这些残基通过氢键、盐桥等形成极性相互作用网络<sup>[45-46]</sup>。与 SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 类似, MERS-CoV 与 DPP4 的界面包含两个主要的结合区域。在第一个区域中, MERS-CoV 的酸性残基 E536 残基、D537 残基和 D539 残基形成带负电荷的表面, 其中 D539 与 DPP4 的碱性残基 K267 形成盐桥<sup>[115]</sup>; MERS-CoV 的 S 蛋白 Y499 残基与 DPP4 的 R336 残基形成氢键<sup>[46]</sup>。第二个结合区域由 MERS-CoV 的 RBD 的 L506 残基、W553 残基、V555 残基以及 DPP4 的 L294 残基、I295 残基构成 1 个疏水中心<sup>[115]</sup>。另外, MERS-CoV 的 RBD 的 D510 残基和 E513 残基分别与 DPP4 的 R317 残基和 Q344 残基形成盐桥与氢键<sup>[27, 46]</sup>。研究结果表明, MERS-CoV 能够结合多种哺

乳动物的 DPP4, 包括骆驼、马以及山羊和蝙蝠, 这是因为 DPP4 在不同物种间较为保守<sup>[122-123]</sup>。猪血凝性脑脊髓炎病毒 (PHEV) 也能够结合 DPP4, 该病毒不仅能感染猪, 还能感染野生小鼠。进一步研究发现, PHEV 的 S1-RBD 与鼠 DPP4 和猪 DPP4 均具有高亲和性<sup>[124]</sup>。

#### 2.5 跨膜丝氨酸蛋白酶 2 (TMPRSS2)

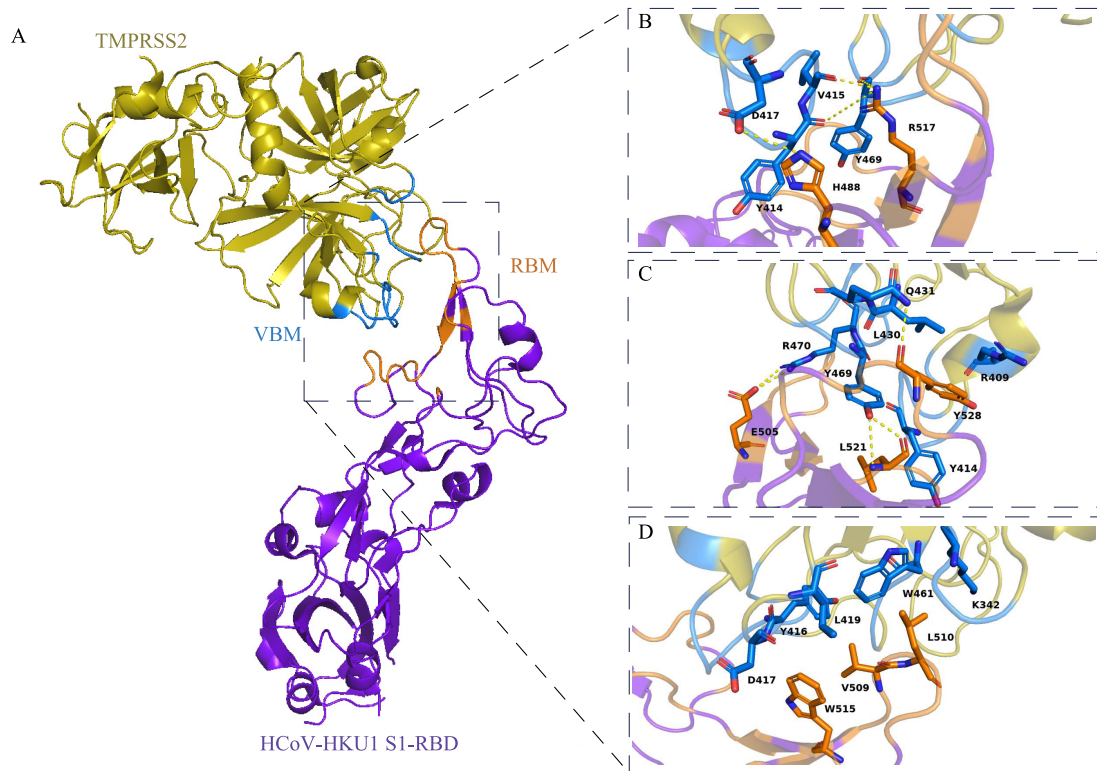
跨膜丝氨酸蛋白酶 2 (TMPRSS2) 属于 II 型跨膜丝氨酸蛋白酶家族<sup>[125]</sup>。作为冠状病毒的宿主蛋白酶, TMPRSS2 是能够水解激活多种冠状病毒的 S 蛋白<sup>[78, 126-127]</sup>。研究发现, 该蛋白质可作为 HCoV-HKU1 的受体, 并介导 HCoV-HKU1 与 9-O-乙酰化唾液酸 (9-O-Ac-Sia) 结合, 进而触发 S 蛋白构象的改变<sup>[71]</sup>。如图 9 所示, TMPRSS2 的 VBM 能够插入 RBD 核心  $\beta$ -折叠片的两条  $\beta$ -链之间。HCoV-HKU1 S1-RBM 由 H488 残基、E505 残基、T507-H512 残基区域、W515 残基、R517-C518 残基区域、C520-P522 残基区域、A527-P530 残基区域、S532 残基和 E554 残基组成, 可识别 TMPRSS2 的 K340-K342 残基区域、R409 残基、S412-D417 残基区域、L419 残基、L430-Q431 残基区域、W461-S463 残基区域和 A468-R470 残基区域<sup>[72]</sup>。这些残基通过静电力、范德华力、氢键或盐桥等多种相互作用结合, 如 HCoV-HKU1 的 S 蛋白的 H488 残基的咪唑侧链与 TMPRSS2 的 D417 残基的羧基, R517 残基的侧链与 TMPRSS2 的 Y414 残基、V415 残基、Y469 残基的主链羰基之间产生静电作用。HCoV-HKU1 的 S 蛋白的 E505 残基的羧基侧链与 TMPRSS2 的 R470 残基的胍基侧链之间形成盐桥。V509 残基的侧链与 TMPRSS2 的 Y416 残基、L419 残基和 W461 残基的侧链发生范德华相互作用, W515 残基的侧链与 TMPRSS2 的 Y416 残基、D417 残基和 L419 残基发生范德华相互作用。L510 残基的侧链与 TMPRSS2 的 K342 残基的烷基、W461 残基的吡啶环相互接触。L521 残基的侧链位于 TMPRSS2 的 Y414 残基和 Y469 残基侧链之间, 且 L521 残基的主链酰胺基和羰基与 Y469 残基的侧链苯酚羟基形成氢键。Y528 残基的侧链与 TMPRSS2 的 R409 残基、L430 残基、Y469 残基的侧链、Y528 残基的主链羰基相互作用, 同时 Y528 残基的主链羰基与 TMPRSS2 的 Q431 残基的侧链酰胺基之间形成氢键<sup>[72]</sup>。值得注意的是, HCoV-HKU1 与 9-O-Ac-Sia 的结合是其 S1 结构域发生上翻构象变化的前提, 翻转后的 RBD 才能结合 TMPRSS2<sup>[71-72, 128]</sup>。



A; MERS-CoV + hDPP4 (蛋白质数据库标志符: 4KR0); B; MERS-CoV S1-RBM 中的两个主要结合区域; C; MERS-CoV-RBM 残基与 hDPP4-VBM 残基分子互作。hDPP4: 人二肽基肽酶 4; S1-RBD: S1 亚基受体结合结构域; MERS-CoV: 中东呼吸综合征病毒; S1-RBM: S1 亚基受体结合基序; MERS-CoV S1: 中东呼吸综合征病毒 S1 亚基; DPP4: 二肽基肽酶 4; RBM: 受体结合基序。

图 8 中东呼吸综合征病毒 (MERS-CoV) S1 亚基受体结合结构域 (S1-RBD) 与人二肽基肽酶 4 (hDPP4) 结合形成的晶体结构

Fig.8 The crystal structure formed by the binding of the spike protein S1 subunit receptor-binding domain (S1-RBD) of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) to human dipeptidyl peptidase 4 (hDPP4)



A; HCoV-HKU1 + TMPRSS2 (蛋白质数据库标志符: 8VGT); B; 静电作用; C; 盐桥与氢键作用; D; 其他作用力。TMPRSS2: 跨膜丝氨酸蛋白酶 2; RBM: 受体结合基序; VBM: 病毒结合基序; HCoV-HKU1: 人冠状病毒 HKU1; S1-RBD: S1 亚基受体结合结构域。

图 9 人冠状病毒 HKU1 (HCoV-HKU1) S1 亚基受体结合结构域 (S1-RBD) 与跨膜丝氨酸蛋白酶 2 (TMPRSS2) 结合形成的晶体结构

Fig.9 The crystal structure formed by the binding of the spike protein S1 subunit receptor-binding domain (S1-RBD) of human coronavirus HKU1 (HCoV-HKU1) to transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2)

## 2.6 其他受体

唾液酸 (Sia) 是一类具有九碳骨架的  $\alpha$ -酮酸糖,常与糖蛋白或糖脂结合,其家族常见成员包括 *N*-乙酰神经氨酸 (Neu5Ac 或 NaNA)、*N*-羟乙酰神经氨酸 (Neu5Gc) 以及 *O*-乙酰化衍生物<sup>[129]</sup>,其中 Neu5Ac 分布于多种动物组织中<sup>[130-131]</sup>。在  $\alpha$ -冠状病毒属中,TGEV 的 S 蛋白可与 Sia 结合,结合活性与其肠溶性密切相关<sup>[52,132]</sup>。猪流行性腹泻病毒 (PEDV) 的 S1-NTD 结构域同样具有糖结合活性,截短表达的 S1 片段 (S1-793、S1-324、S1-434 和 S1-543) 均能以高亲和力结合糖蛋白<sup>[133]</sup>。中东呼吸综合征冠状病毒 (MERS-CoV) 的 S 蛋白与  $\alpha$ -2,3 唾液酸的结合活性高于  $\alpha$ -2,6 唾液酸<sup>[85]</sup>。牛冠状病毒 (BCoV) 和人冠状病毒 OC43 (HCoV-OC43) 的 S 蛋白也具有血凝活性,并可利用 *N*-乙酰基-9-*O*-唾液酸作为附着因子<sup>[64,134]</sup>。BCoV 能够更高效地识别  $\alpha$ -2,3 唾液酸,HCoV-OC43 则更易结合  $\alpha$ -2,6 唾液酸<sup>[135]</sup>。有研究结果指出,唾液酸可能是 SARS-CoV-2 入侵细胞的辅助受体<sup>[136]</sup>。然而,也有研究者发现,ACE2 的唾液酸修饰会降低 SARS-CoV-2 的 S 蛋白与 ACE2 的结合效率<sup>[137]</sup>。MHV-JHM 毒株的 S 蛋白 NTD 结构域同样为唾液酸结合的关键区域<sup>[66]</sup>。尽管 IBV 的蛋白受体尚未明确,但其 S 蛋白同样具有血凝活性,且 S1-NTD 能够同时识别  $\alpha$ -2,3 唾液酸和  $\alpha$ -2,6 唾液酸<sup>[86,138-140]</sup>。早期研究结果表明,IBV 的 M41 毒株 S 蛋白 N 端的 253 个氨基酸残基 (19~272 aa) 是与  $\alpha$ -2,3 唾液酸相互作用的关键区域,其中 N38 残基、H43 残基、P63 残基以及 T69 残基是关键结合残基<sup>[141]</sup>。近期研究人员进一步将 IBV 唾液酸结合域缩小至 209 个氨基酸残基 (19~227 aa)<sup>[140]</sup>。

硫酸乙酰肝素 (HS) 是一种常见的糖胺聚糖,广泛表达于动物组织的细胞表面和细胞外基质中,在维持机体发育和内环境稳定中具有重要作用,并参与多种疾病发生过程<sup>[142]</sup>。HS 的识别基序为 XB-BXB 或 XBXXBBB (其中 B 表示碱性氨基酸,如赖氨酸、精氨酸或组氨酸)<sup>[143-144]</sup>。多种冠状病毒毒株在持续感染或细胞培养适应过程中演化出结合 HS 的能力<sup>[145]</sup>。如禽传染性支气管炎病毒 (IBV) Beaudette 株,其 S2' 裂解位点包含一个符合 HS 结合特征的序列 (<sub>685</sub>SSRRKRSL<sub>692</sub>),该毒株可能将 HS 作为选择性的受体使用<sup>[87-88]</sup>。在依赖 ACE2 受体的入

侵细胞的过程中,SARS-CoV 和 SARS-CoV-2 也需要借助与 HS 的结合以促进病毒入侵<sup>[74]</sup>。尽管 SARS-CoV-2 的 S 蛋白上的 S1/S2 裂解位点 (<sub>681</sub>PRRARS<sub>686</sub>) 符合典型 HS 结合基序,但实际上其与 HS 的结合区域位于 ACE2 结合位点附近<sup>[146]</sup>。冷冻电镜下的结构分析结果表明,HS 能够诱导 SARS-CoV-2 的 S 蛋白受体结合结构域 (RBD) 构象转向开放状态,从而增强其与 ACE2 的亲和力<sup>[146]</sup>。

树突状细胞特异性细胞间黏附分子-3-结合非整合素 (DC-SIGN) 以及肝脏/淋巴结特异性细胞间黏附分子-3-结合非整合素 (L-SIGN) 同属于 II 型 C 型凝集素<sup>[147]</sup>。已有研究结果表明,DC-SIGN 和 L-SIGN 可作为附着因子促进 SARS-CoV、HCoV-NL63 以及猫传染性腹膜炎病毒 (FIPV) 的入侵<sup>[49,63,148-149]</sup>。在 SARS-CoV 感染中,DC/L-SIGN 仅能作为效率较低的独立替代受体<sup>[76]</sup>。SARS-CoV 的 S 蛋白上至少需要包含 7 个糖基化位点 (N109、N118、N119、N158、N227、N589、N699) 才能够与 DC/L-SIGN 发生结合,而这些位点均在 ACE2 的结合域之外<sup>[77]</sup>。DC/L-SIGN 也能够促进 IBV、PEDV 以及 SARS-CoV-2 的感染<sup>[54,89,150]</sup>。

神经纤毛蛋白 1 (NRP1) 又称 CD304、BDCA-4 或 VEGF165R1,属于 I 型跨膜蛋白。研究结果表明,NRP-1 是 SARS-CoV-2 侵入细胞的重要宿主因子。SARS-CoV-2 的 S 蛋白在宿主细胞中被弗林蛋白酶切割成 S1 亚基和 S2 亚基,其 S1 亚基的 C 末端 (682~685 aa) 暴露 RRAR 基序,能够与 NRP-1 的 b1 结构域结合<sup>[81-82]</sup>。分子动力学模型进一步揭示,NRP-1 与 S1 亚基的相互作用有助于稳定 S1 亚基,从而促进 S2 亚基 N 端区域的分离,提高病毒的感染能力<sup>[151]</sup>。

## 3 S1 亚基氨基酸位点的突变对冠状病毒受体识别的影响

冠状病毒在复制过程中,S 蛋白易发生多种氨基酸位点突变。病毒 S1 亚基 RBD 氨基酸位点的突变会影响病毒与受体的亲和力,甚至能够改变其组织嗜性和宿主范围。PEDV 的 S 蛋白 RBD 的 A605E 和 E633Q 突变,增强了减毒株 DR13 对 Vero 细胞的感染能力<sup>[152]</sup>。TGEV 的 S 基因第 214 位和 655 位核苷酸的突变会导致病毒丧失肠道嗜性<sup>[153]</sup>。进一步研究发现,S219A (U655→G) 突变是

TGEV 呼吸道毒株获得肠道嗜性的关键<sup>[154]</sup>,而在 S 蛋白中插入 Y374 残基、T37 残基能够使病毒滴度提升 1 000 倍<sup>[154]</sup>。 $\beta$ -冠状病毒中,鼠肝炎病毒(MHV) A59 毒株 S1-NTD 结构域的 R20A 突变、R20K 突变和 N26A 突变会显著削弱病毒传染性,证实了 R20 残基、N26 残基与受体 mCEACAM1a 之间氢键的重要性<sup>[155]</sup>。病毒 S 蛋白的 Q159 残基和 R20 残基之间的氢键有助于引导 Arg20 处于正确位置,从而与宿主受体 mCEACAM1a 发生相互作用<sup>[38]</sup>,Q159L 突变导致病毒在小鼠肝脏中的亲嗜性与复制能力下降<sup>[156]</sup>。中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV) S1-RBD 的 Y499A 突变破坏了 Y499 残基和 R336 残基之间的氢键,从而阻断 MERS-CoV RBD 和 DPP4 的结合,限制了病毒的入侵<sup>[46]</sup>。L506A 或 W553A 的单突变能够改变疏水核心结构,显著降低受体结合与病毒入侵效率,L506A/W553A/V555A 三突变则导致病毒入侵效率进一步下降<sup>[46]</sup>。S 蛋白的 I529T 突变或 D510G 突变也会减弱病毒与 DPP4 的亲和力<sup>[157]</sup>。D510A 突变破坏了该位点与 DPP4 的 R317 残基之间的盐桥,E513A 突变则阻断了该位点与 DPP4 的 Q344 残基之间的氢键<sup>[46]</sup>。SARS-CoV 的 RBM 的 K479N 突变导致病毒从棕榈果子狸向人类的传播,而 S487T 突变则进一步增强了病毒的人际传播能力<sup>[158]</sup>。与 SARS-CoV 相比,SARS-CoV-2 的 RBD 发生了 6 个位点的突变,分别为 Y442→L455、L472→F486、N479→Q493、D480→S494、T487→N501、Y491→Y505,这些突变导致病毒与 ACE2 的亲和力提高了 20 倍<sup>[159-160]</sup>。在 SARS-CoV-2 变异株 S 蛋白中出现的 N501Y、K417N 和 E484K 突变进一步增强了病毒与 ACE2 亲和力<sup>[161-162]</sup>。在 HCoV-229E 中,S 蛋白 F318 残基的突变导致其与 hAPN 的亲和力下降 13 倍<sup>[103]</sup>。即使 HCoV-229E 的 S1-RBD 区域 C317S/C320S 双突变体的 S 蛋白浓度高达 15  $\mu\text{mol/L}$ ,也无法与受体结合<sup>[103]</sup>。PDCoV 的 S1-RBD 的 F318 残基、E320 残基、R322 残基、R357 残基和 Y398 残基的突变导致病毒的 S 蛋白与 pAPN 或 hAPN 的亲和力降低 5~150 倍<sup>[92]</sup>。

#### 4 基于 S1 与受体结构的抗病毒治疗策略与药物研发

冠状病毒的 S 蛋白与宿主细胞表面受体的相互作用位点,是开发抗病毒药物的关键靶点。计算机

辅助药物设计(如分子对接)在蛋白质抑制剂发现与优化中发挥核心作用。结合结构生物学、免疫学和生物信息学等多学科手段,研究人员针对 S1-RBD 及其受体展开了深入研究,逐步开发出单克隆中和抗体、小分子抑制剂、多肽和天然药物等多种抗病毒药物。

大多数针对冠状病毒的单克隆抗体能精确靶向 S 蛋白的 RBD 区域,如靶向 SARS-CoV 的 S1-RBD 的单克隆抗体 80R、m396、CR3014 及 S230.15<sup>[163-165]</sup>,靶向 MERS-CoV 的 S1-RBD 的 LCA60、MERS-4、MERS27、m336、4C2 和 2E6<sup>[166-169]</sup>,均可有效阻断病毒与受体的结合。在 SARS-CoV-2 中,中和抗体 B38 与 H4 能够竞争性地占据 RBD 上与 ACE2 重叠的结合位点,从而抑制病毒入侵<sup>[170]</sup>。部分抗体如 VHH-72 和 H014 还表现出对 SARS-CoV 与 SARS-CoV-2 的交叉中和能力<sup>[171-172]</sup>。纳米抗体因其相对分子量小、便于吸入给药及生产成本较低等优势,展现出较好的应用前景,PiN-21、H11-D4 及 NIHCovnb-112 等纳米抗体均可结合 RBD,并有效阻断病毒与受体间的相互作用<sup>[173-175]</sup>。除 RBD 外,针对 S1-NTD 结构域开发的单克隆抗体,如 4A8、CoV-IC-247 也能够通过结合特定构象的表位阻断病毒入侵<sup>[176-177]</sup>。

S 蛋白的 S1 亚基同样可以作为小分子药物的理想靶点。基于结构的分子对接技术,研究人员可从现有化合物库中快速筛选候选分子。其中舍曲林、千金藤素等可通过结合 S1 亚基干扰 S 蛋白与 ACE2 的相互作用<sup>[178-179]</sup>。结合表面等离子体技术(SPR)等技术,研究人员进一步发现天然化合物如甘草酸、山奈酚、槲皮素等能够结合 SARS-CoV-2 的 S1-RBD,并抑制病毒活性<sup>[180-181]</sup>。蛋白质/多肽类抑制剂如凝集素 Griffithisin(GRFT)可靶向 SARS-CoV-2 的 S1 亚基的糖基化修饰位点<sup>[182]</sup>,基于 ACE2 与 RBD 结合界面设计的肽类抑制剂 LCB1/3,能够在皮摩尔水平实现强效中和<sup>[183]</sup>。

#### 5 总结与展望

本文综述了冠状病毒 S1 亚基的晶体结构特征及其在受体识别机制方面的研究进展。随着冷冻电镜技术的广泛应用,我们对 S1 亚基各结构域的精细结构、其与受体的结合界面以及关键氨基酸残基作用机制的认识日益深化。研究结果表明,S1 亚基关键位点的突变能够显著改变病毒的受体结合能力、

组织嗜性及宿主范围,这从结构生物学层面揭示了冠状病毒快速实现跨种传播的分子基础。

未来的研究方向应聚焦于以下方面:深入解析不同冠状病毒 S1-RBD 在构象动态转换过程中的分子机制;发展并开发能够精准预测 S 蛋白突变对受体结合影响的计算模型;系统阐明自然界中冠状病毒 S1 蛋白的遗传多样性及其演化规律。对 S1 亚基结构与功能的持续探索,将为开发广谱抗病毒疫苗与药物以及建立新型早期诊断技术提供关键理论支撑,从而全面提升人类应对冠状病毒病威胁的防治能力。

### 参考文献:

- [1] SCHALK A F, HAWN M C. An apparently new respiratory disease of baby chicks[J]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1931, 78:413-422.
- [2] ALMEIDA J D, TYRRELL D A. The morphology of three previously uncharacterized human respiratory viruses that grow in organ culture[J]. *Journal of General Virology*, 1967, 1(2):175-178.
- [3] MCINTOSH K, KAPIKIAN A Z, TURNER H C, et al. Seroepidemiologic studies of coronavirus infection in adults and children[J]. *American Journal of Epidemiology*, 1970, 91(6):585-592.
- [4] GRAHAM R L, BARIC R S. Recombination, reservoirs, and the modular spike; mechanisms of coronavirus cross-species transmission[J]. *Journal of Virology*, 2010, 84(7):3134-3146.
- [5] LI W H, WONG S K, LI F, et al. Animal origins of the severe acute respiratory syndrome coronavirus; insight from ACE2-S-protein interactions[J]. *Journal of Virology*, 2006, 80(9):4211-4219.
- [6] LI F. Receptor recognition and cross-species infections of SARS coronavirus[J]. *Antiviral Research*, 2013, 100(1):246-254.
- [7] CHAN J F, TO K K, TSE H, et al. Interspecies transmission and emergence of novel viruses; lessons from bats and birds[J]. *Trends in Microbiology*, 2013, 21(10):544-555.
- [8] WOO P C, LAU S K, LAM C S, et al. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus[J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(7):3995-4008.
- [9] CORMAN V M, BALDWIN H J, TATENO A F, et al. Evidence for an ancestral association of human coronavirus 229E with bats[J]. *Journal of Virology*, 2015, 89(23):11858-11870.
- [10] CUI J, LI F, SHI Z L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, 17(3):181-192.
- [11] GUAN Y, ZHENG B J, HE Y Q, et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China[J]. *Science*, 2003, 302(5643):276-278.
- [12] ALAGAILI A N, BRIESE T, MISHRA N, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in dromedary camels in Saudi Arabia[J]. *mBio*, 2014, 5(2):e00884-14.
- [13] VIJGEN L, KEYAERTS E, LEMEY P, et al. Evolutionary history of the closely related group 2 coronaviruses: porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus, bovine coronavirus, and human coronavirus OC43[J]. *Journal of Virology*, 2006, 80(14):7270-7274.
- [14] ZHOU P, FAN H, LAN T, et al. Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin[J]. *Nature*, 2018, 556(7700):255-258.
- [15] NAKAGAKI K, NAKAGAKI K, TAGUCHI F. Receptor-independent spread of a highly neurotropic murine coronavirus JHMV strain from initially infected microglial cells in mixed neural cultures[J]. *Journal of Virology*, 2005, 79(10):6102-6110.
- [16] STODDART C A, SCOTT F W. Intrinsic resistance of feline peritoneal macrophages to coronavirus infection correlates with in vivo virulence[J]. *Journal of Virology*, 1989, 63(1):436-440.
- [17] LI F. Receptor recognition mechanisms of coronaviruses; a decade of structural studies[J]. *Journal of Virology*, 2015, 89(4):1954-1964.
- [18] YANG T J, CHANG Y C, KO T P, et al. Cryo-EM analysis of a feline coronavirus spike protein reveals a unique structure and camouflaging glycans[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(3):1438-1446.
- [19] REGUERA J, SANTIAGO C, MUDGAL G, et al. Structural bases of coronavirus attachment to host aminopeptidase N and its inhibition by neutralizing antibodies[J]. *PLoS Pathogens*, 2012, 8(8):e1002859.
- [20] HUANG C Y, DRACZKOWSKI P, WANG Y S, et al. In situ structure and dynamics of an alphacoronavirus spike protein by cryo-ET and cryo-EM[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1):1-15.
- [21] GUAN H X, WANG Y W, PERCULIJA V, et al. Cryo-electron microscopy structure of the swine acute diarrhea syndrome coronavirus spike glycoprotein provides insights into evolution of unique coronavirus spike proteins[J]. *Journal of Virology*, 2020, 94(22):1-13.
- [22] SONG X Y, SHI Y J, DING W, et al. Cryo-EM analysis of the HCoV-229E spike glycoprotein reveals dynamic prefusion conformational changes[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1):1-9.
- [23] WU K L, LI W K, PENG G Q, et al. Crystal structure of NL63 respiratory coronavirus receptor-binding domain complexed with its human receptor[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(47):19970-19974.
- [24] SHI J C, HU S Y, WEI H L, et al. Dipeptidyl peptidase 4 interacts with porcine coronavirus PHEV spikes and mediates host range expansion[J]. *Journal of Virology*, 2024, 98(7):1-17.
- [25] MAH M G, ZELLER M A, ZHANG R, et al. Discordant phylogenetic and spatiotemporal transmission patterns driving the long-

- term persistence and evolution of human coronaviruses[J]. *Npj Viruses*, 2024, 2(1):1-16.
- [26] KIRCHDOERFER R N, COTTRELL C A, WANG N S, et al. Pre-fusion structure of a human coronavirus spike protein [J]. *Nature*, 2016, 531(7592):118-121.
- [27] YUAN Y, CAO D F, ZHANG Y F, et al. Cryo-EM structures of MERS-CoV and SARS-CoV spike glycoproteins reveal the dynamic receptor binding domains [J]. *Nature Communications*, 2017, 8:1-9.
- [28] CAI Y F, ZHANG J, XIAO T S, et al. Distinct conformational states of SARS-CoV-2 spike protein [J]. *Science*, 2020, 369(6511):1586-1592.
- [29] SHANG J, ZHENG Y, YANG Y, et al. Cryo-EM structure of infectious bronchitis coronavirus spike protein reveals structural and functional evolution of coronavirus spike proteins[J]. *PLoS Pathogens*, 2018, 14(4):1-19.
- [30] SHANG J, ZHENG Y, YANG Y, et al. Cryo-electron microscopy structure of porcine deltacoronavirus spike protein in the prefusion state[J]. *Journal of Virology*, 2018, 92(4):1-14.
- [31] SCHULTZE B, GROSS H J, BROSSMER R, et al. The S protein of bovine coronavirus is a hemagglutinin recognizing 9-O-acetylated sialic acid as a receptor determinant [J]. *Journal of Virology*, 1991, 65(11):6232-6237.
- [32] PENG G Q, XU L Q, LIN Y L, et al. Crystal structure of bovine coronavirus spike protein lectin domain [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(50):41931-41938.
- [33] SEYRAN M, TAKAYAMA K, UVERSKY V N, et al. The structural basis of accelerated host cell entry by SARS-CoV-2 dagger [J]. *FEBS Journal*, 2021, 288(17):5010-5020.
- [34] FANTINI J, DI SCALA C, CHAHINIAN H, et al. Structural and molecular modelling studies reveal a new mechanism of action of chloroquine and hydroxychloroquine against SARS-CoV-2 infection [J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2020, 55(5):1-8.
- [35] PARK Y J, WALLS A C, WANG Z Q, et al. Structures of MERS-CoV spike glycoprotein in complex with sialoside attachment receptors [J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2019, 26(12):1151-1157.
- [36] AWASTHI M, GULATI S, SARKAR D P, et al. The sialoside-binding pocket of SARS-CoV-2 spike glycoprotein structurally resembles MERS-CoV [J]. *Viruses*, 2020, 12(9):1-10.
- [37] MILANETTI E, MIOTTO M, DI RIENZO L, et al. In-silico evidence for a two receptor based strategy of SARS-CoV-2 [J]. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2021, 8:1-11.
- [38] PENG G Q, SUN D W, RAJASHANKAR K R, et al. Crystal structure of mouse coronavirus receptor-binding domain complexed with its murine receptor [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(26):10696-10701.
- [39] WRAPP D, MCLELLAN J S. The 3.1-angstrom cryo-electron microscopy structure of the porcine epidemic diarrhea virus spike protein in the prefusion conformation [J]. *Journal of Virology*, 2019, 93(23):1-13.
- [40] KIRCHDOERFER R N, BHANDARI M, MARTINI O, et al. Structure and immune recognition of the porcine epidemic diarrhea virus spike protein [J]. *Structure*, 2021, 29(4):385-392.
- [41] ZHANG K M, LI S S, PINTILIE G, et al. A 3.4-Å cryo-electron microscopy structure of the human coronavirus spike trimer computationally derived from vitrified NL63 virus particles [J]. *Quality Review Board*, 2020, 1:e11.
- [42] WALLS A C, TORTORICI M A, FRENZ B, et al. Glycan shield and epitope masking of a coronavirus spike protein observed by cryo-electron microscopy [J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2016, 23(10):899-905.
- [43] SONG W F, GUI M, WANG X Q, et al. Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2 [J]. *PLoS Pathogens*, 2018, 14(8):1-19.
- [44] GUI M, SONG W F, ZHOU H X, et al. Cryo-electron microscopy structures of the SARS-CoV spike glycoprotein reveal a prerequisite conformational state for receptor binding [J]. *Cell Research*, 2017, 27(1):119-129.
- [45] LU G W, HU Y W, WANG Q H, et al. Molecular basis of binding between novel human coronavirus MERS-CoV and its receptor CD26 [J]. *Nature*, 2013, 500(7461):227-231.
- [46] WANG N S, SHI X L, JIANG L W, et al. Structure of MERS-CoV spike receptor-binding domain complexed with human receptor DPP4 [J]. *Cell Research*, 2013, 23(8):986-993.
- [47] CHEN Y Q, RAJASHANKAR K R, YANG Y, et al. Crystal structure of the receptor-binding domain from newly emerged Middle East respiratory syndrome coronavirus [J]. *Journal of Virology*, 2013, 87(19):10777-10783.
- [48] TRESNAN D B, LEVIS R, HOLMES K V. Feline aminopeptidase N serves as a receptor for feline, canine, porcine, and human coronaviruses in serogroup I [J]. *Journal of Virology*, 1996, 70(12):8669-8674.
- [49] REGAN A D, WHITTAKER G R. Utilization of DC-SIGN for entry of feline coronaviruses into host cells [J]. *Journal of Virology*, 2008, 82(23):11992-11996.
- [50] DE HAAN C A, HAIJEMA B J, SCHELLEN P, et al. Cleavage of group 1 coronavirus spike proteins: how furin cleavage is traded off against heparan sulfate binding upon cell culture adaptation [J]. *Journal of Virology*, 2008, 82(12):6078-6083.
- [51] DELMAS B, GELFI J, L'HARIDON R, et al. Aminopeptidase N is a major receptor for the entero-pathogenic coronavirus TGEV [J]. *Nature*, 1992, 357(6377):417-420.
- [52] KREMPL C, SCHULTZE B, LAUDE H, et al. Point mutations in the S protein connect the sialic acid binding activity with the enteropathogenicity of transmissible gastroenteritis coronavirus [J]. *Journal of Virology*, 1997, 71(4):3285-3287.
- [53] HUAN C C, WANG Y, NI B, et al. Porcine epidemic diarrhea vi-

- rus uses cell-surface heparan sulfate as an attachment factor[J]. Archives of Virology, 2015, 160(7):1621-1628.
- [54] ZHAO P W, XU L D, ZHANG Y T, et al. Expression of the human or porcine C-type lectins DC-SIGN/L-SIGN confers susceptibility to porcine epidemic diarrhea virus entry and infection in otherwise refractory cell lines[J]. Microbial Pathogenesis, 2021, 157: 104956.
- [55] PENG J Y, PUNYADARSANIYA D, SHIN D L, et al. The cell tropism of porcine respiratory coronavirus for airway epithelial cells is determined by the expression of porcine aminopeptidase N[J]. Viruses, 2020, 12(11):1-12.
- [56] LI F. Structure, Function, and evolution of coronavirus spike proteins[J]. Annual Review of Virology, 2016, 3(1):237-261.
- [57] YANG Y L, WANG B, LI W T, et al. Functional dissection of the spike glycoprotein S1 subunit and identification of cellular cofactors for regulation of swine acute diarrhea syndrome coronavirus entry [J]. Journal of Virology, 2024, 98(4):1-22.
- [58] YEAGER C L, ASHMUN R A, WILLIAMS R K, et al. Human aminopeptidase N is a receptor for human coronavirus 229E[J]. Nature, 1992, 357(6377):420-422.
- [59] LI Z J, TOMLINSON A C, WONG A H, et al. The human coronavirus HCoV-229E S-protein structure and receptor binding [J]. Elife, 2019, 8:1-22.
- [60] FUOCHI V, FLORESTA G, EMMA R, et al. Heparan sulfate and enoxaparin interact at the interface of the spike protein of HCoV-229E but not with HCoV-OC43[J]. Viruses, 2023, 15(3):1-16.
- [61] HOFMANN H, PYRC K, VAN DER HOEK L, et al. Human coronavirus NL63 employs the severe acute respiratory syndrome coronavirus receptor for cellular entry[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(22):7988-7993.
- [62] MILEWSKA A, ZAREBSKI M, NOWAK P, et al. Human coronavirus NL63 utilizes heparan sulfate proteoglycans for attachment to target cells[J]. Journal of Virology, 2014, 88(22):13221-13230.
- [63] HOFMANN H, SIMMONS G, RENNEKAMP A J, et al. Highly conserved regions within the spike proteins of human coronaviruses 229E and NL63 determine recognition of their respective cellular receptors[J]. Journal of Virology, 2006, 80(17):8639-8652.
- [64] SCHULTZE B, HERRLER G. Bovine coronavirus uses N-acetyl-9-O-acetylneuraminic acid as a receptor determinant to initiate the infection of cultured cells[J]. Journal of General Virology, 1992, 73(Pt4):901-906.
- [65] TAGUCHI F, HIRAI-YUKI A. Mouse hepatitis virus receptor as a determinant of the mouse susceptibility to MHV infection [J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 3(68):1-4.
- [66] QING E, HANTAK M, PERLMAN S, et al. Distinct roles for sialoside and protein receptors in coronavirus infection [J]. mBio, 2020, 11(1):1-18.
- [67] SCHICKLI J H, THACKRAY L B, SAWICKI S G, et al. The N-terminal region of the murine coronavirus spike glycoprotein is associated with the extended host range of viruses from persistently infected murine cells [J]. Journal of Virology, 2004, 78(17):9073-9083.
- [68] DE HAAN C A, LI Z, TE LINTELO E, et al. Murine coronavirus with an extended host range uses heparan sulfate as an entry receptor[J]. Journal of Virology, 2005, 79(22):14451-14456.
- [69] HULSWIT R J G, LANG Y F, BAKKERS M J G, et al. Human coronaviruses OC43 and HKU1 bind to 9-O-acetylated sialic acids via a conserved receptor-binding site in spike protein domain A [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2019, 116(7):2681-2690.
- [70] TORTORICI M A, WALLS A C, LANG Y F, et al. Structural basis for human coronavirus attachment to sialic acid receptors[J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2019, 26(6):481-489.
- [71] SAUNDERS N, FERNANDEZ I, PLANCHAIS C, et al. TMPRSS2 is a functional receptor for human coronavirus HKU1[J]. Nature, 2023, 624(7990):207-214.
- [72] MCCALLUM M, PARK Y J, STEWART C, et al. Human coronavirus HKU1 recognition of the TMPRSS2 host receptor[J]. Cell, 2024, 187(16):4231-4245.
- [73] LI W H, MOORE M J, VASILIEVA N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus [J]. Nature, 2003, 426(6965):450-454.
- [74] ZHOU P, YANG X L, WANG X G, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J]. Nature, 2020, 579(7798):270-273.
- [75] LANG J S, YANG N, DENG J J, et al. Inhibition of SARS pseudovirus cell entry by lactoferrin binding to heparan sulfate proteoglycans[J]. PLoS One, 2011, 6(8):1-11.
- [76] JEFFERS S A, TUSELL S M, GILLIM-ROSS L, et al. CD209L (L-SIGN) is a receptor for severe acute respiratory syndrome coronavirus[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(44):15748-15753.
- [77] HAN D P, LOHANI M, CHO M W. Specific asparagine-linked glycosylation sites are critical for DC-SIGN- and L-SIGN-mediated severe acute respiratory syndrome coronavirus entry[J]. Journal of Virology, 2007, 81(21):12029-12039.
- [78] HOFFMANN M, KLEINE-WEBER H, SCHROEDER S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor[J]. Cell, 2020, 181(2):271-280.
- [79] LAN J, CHEN P, LIU W M, et al. Structural insights into the binding of SARS-CoV-2, SARS-CoV, and hCoV-NL63 spike receptor-binding domain to horse ACE2[J]. Structure, 2022, 30(10):1432-1442.
- [80] SUN X L. The role of cell surface sialic acids for SARS-CoV-2 infection[J]. Glycobiology, 2021, 31(10):1245-1253.
- [81] DALY J L, SIMONETTI B, KLEIN K, et al. Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection [J]. Science, 2020, 370(6518):861-865.

- [ 82 ] CANTUTI-CASTELVETRI L, OJHA R, PEDRO L D, et al. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity[J]. *Science*, 2020, 370( 6518 ):856-860.
- [ 83 ] RAHIMI N. C-type Lectin CD209L/L-SIGN and CD209/DC-SIGN; cell adhesion molecules turned to pathogen recognition receptors[J]. *Biology (Basel)*, 2020, 10( 1 ):1-15.
- [ 84 ] WIDAGDO W, OKBA N M A, LI W, et al. Species-specific colocalization of middle east respiratory syndrome coronavirus attachment and entry receptors[J]. *Journal of Virology*, 2019, 93( 16 ):1-12.
- [ 85 ] LI W T, HULSWIT R J G, WIDJAJA I, et al. Identification of sialic acid-binding function for the Middle East respiratory syndrome coronavirus spike glycoprotein [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114( 40 ):E8508-E8517.
- [ 86 ] WINTER C, SCHWEGMANN-WESSELS C, CAVANAGH D, et al. Sialic acid is a receptor determinant for infection of cells by avian Infectious bronchitis virus [J]. *Journal of General Virology*, 2006, 87: 1209-1216. DOI:10.1099/vir.0.81651-0.
- [ 87 ] MADU I G, CHU V C, LEE H, et al. Heparan sulfate is a selective attachment factor for the avian coronavirus infectious bronchitis virus Beaudette[J]. *Avian Diseases*, 2007, 51( 1 ):45-51.
- [ 88 ] BICKERTON E, MAIER H J, STEVENSON-LEGGETT P, et al. The S2 subunit of infectious bronchitis virus beaudette is a determinant of cellular tropism[J]. *Journal of Virology*, 2018, 92( 19 ):1-18.
- [ 89 ] ZHANG Y T, BUCKLES E, WHITTAKER G R. Expression of the C-type lectins DC-SIGN or L-SIGN alters host cell susceptibility for the avian coronavirus, infectious bronchitis virus[J]. *Veterinary Microbiology*, 2012, 157( 3/4 ):285-293.
- [ 90 ] WANG B, LIU Y, JI C M, et al. Porcine deltacoronavirus engages the transmissible gastroenteritis virus functional receptor porcine aminopeptidase N for infectious cellular entry[J]. *Journal of Virology*, 2018, 92( 12 ):1-13.
- [ 91 ] LI W T, HULSWIT R J G, KENNEY S P, et al. Broad receptor engagement of an emerging global coronavirus may potentiate its diverse cross-species transmissibility[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115( 22 ):E5135-E5143.
- [ 92 ] JI W W, PENG Q, FANG X Q, et al. Structures of a deltacoronavirus spike protein bound to porcine and human receptors[J]. *Nature Communications*, 2022, 13( 1467 ):1-11.
- [ 93 ] LIU Y, WANG B, LIANG Q Z, et al. Roles of two major domains of the porcine deltacoronavirus S1 subunit in receptor binding and neutralization[J]. *Journal of Virology*, 2021, 95( 24 ):1-17.
- [ 94 ] XIAO W W, HUANG W, CHEN C Q, et al. Porcine deltacoronavirus uses heparan sulfate as an attachment receptor[J]. *Veterinary Microbiology*, 2023, 276: 109616.
- [ 95 ] NOCEK B, MULLIGAN R, BARGASSA M, et al. Crystal structure of aminopeptidase N from human pathogen *Neisseria meningitidis* [J]. *Proteins*, 2008, 70( 1 ):273-279.
- [ 96 ] LUAN Y P, XU W F. The structure and main functions of aminopeptidase N[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2007, 14( 6 ):639-647.
- [ 97 ] CHEN L, LIN Y L, PENG G Q, et al. Structural basis for multifunctional roles of mammalian aminopeptidase N [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109( 44 ):17966-17971.
- [ 98 ] TRESNAN D B, HOLMES K V. Feline aminopeptidase N is a receptor for all group I coronaviruses[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1998, 440:69-75.
- [ 99 ] CHEN L, LIN Y L, PENG G Q, et al. Structural basis for multifunctional roles of mammalian aminopeptidase N[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109( 44 ):17966-17971.
- [ 100 ] TUSELL S M, SCHITTONI S A, HOLMES K V. Mutational analysis of aminopeptidase N, a receptor for several group I coronaviruses, identifies key determinants of viral host range[J]. *Journal of Virology*, 2007, 81( 3 ):1261-1273.
- [ 101 ] BONAVIA A, ZELUS B D, WENTWORTH D E, et al. Identification of a receptor-binding domain of the spike glycoprotein of human coronavirus HCoV-229E [J]. *Journal of Virology*, 2003, 77( 4 ):2530-2538.
- [ 102 ] WONG A H, ZHOU D X, RINI J M. The X-ray crystal structure of human aminopeptidase N reveals a novel dimer and the basis for peptide processing[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287( 44 ):36804-36813.
- [ 103 ] WONG A H M, TOMLINSON A C A, ZHOU D, et al. Receptor-binding loops in alphacoronavirus adaptation and evolution [J]. *Nature Communications*, 2017, 8( 1735 ):1-10.
- [ 104 ] DVEKSLER G S, DIEFFENBACH C W, CARDELLICCHIO C B, et al. Several members of the mouse carcinoembryonic antigen-related glycoprotein family are functional receptors for the coronavirus mouse hepatitis virus-A59[J]. *Journal of Virology*, 1993, 67( 1 ):1-8.
- [ 105 ] WILLIAMS R K, JIANG G S, HOLMES K V. Receptor for mouse hepatitis virus is a member of the carcinoembryonic antigen family of glycoproteins[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1991, 88( 13 ):5533-5536.
- [ 106 ] DVEKSLER G S, PENSIERO M N, CARDELLICCHIO C B, et al. Cloning of the mouse hepatitis virus (MHV) receptor; expression in human and hamster cell lines confers susceptibility to MHV [J]. *Journal of Virology*, 1991, 65( 12 ):6881-6891.
- [ 107 ] BEAUCHEMIN N, DRABER P, DVEKSLER G, et al. Redefined nomenclature for members of the carcinoembryonic antigen family [J]. *Experimental Cell Research*, 1999, 252( 2 ):243-249.
- [ 108 ] SHANG J, WAN Y S, LIU C, et al. Structure of mouse coronavirus spike protein complexed with receptor reveals mechanism for viral entry[J]. *PLoS Pathogens*, 2020, 16( 3 ):1-20.
- [ 109 ] TSAI J C, ZELUS B D, HOLMES K V, et al. The N-terminal do-

- main of the murine coronavirus spike glycoprotein determines the CEACAM1 receptor specificity of the virus strain[J]. *Journal of Virology*, 2003, 77(2): 841-850.
- [110] PENG G Q, YANG Y, PASQUARELLA J R, et al. Structural and molecular evidence suggesting coronavirus-driven evolution of mouse receptor[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(6): 2174-2181.
- [111] WANG Q H, ZHANG Y F, WU L L, et al. Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2[J]. *Cell*, 2020, 181(4): 894-904.
- [112] LETKO M, MARZI A, MUNSTER V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses[J]. *Nature Microbiology*, 2020, 5(4): 562-569.
- [113] SHANG J, WAN Y S, LUO C M, et al. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2020, 117(21): 11727-11734.
- [114] WU K L, CHEN L, PENG G Q, et al. A virus-binding hot spot on human angiotensin-converting enzyme 2 is critical for binding of two different coronaviruses[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(11): 5331-5337.
- [115] VERMA J, SUBBARAO N. A comparative study of human betacoronavirus spike proteins: structure, function and therapeutics[J]. *Archives of Virology*, 2021, 166(3): 697-714.
- [116] SHANG J, YE G, SHI K, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2[J]. *Nature*, 2020, 581(7807): 221-224.
- [117] LAN J, GE J W, YU J F, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor[J]. *Nature*, 2020, 581(7807): 215-220.
- [118] YAN R H, ZHANG Y Y, LI Y N, et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2[J]. *Science*, 2020, 367(6485): 1444-1448.
- [119] LIN H X, FENG Y, WONG G L, et al. Identification of residues in the receptor-binding domain (RBD) of the spike protein of human coronavirus NL63 that are critical for the RBD-ACE2 receptor interaction[J]. *Journal of General Virology*, 2008, 89: 1015-1024.
- [120] KAMEOKA J, TANAKA T, NOJIMA Y, et al. Direct association of adenosine deaminase with a T cell activation antigen, CD26[J]. *Science*, 1993, 261(5120): 466-469.
- [121] MILLET J K, JAIMES J A, WHITTAKER G R. Molecular diversity of coronavirus host cell entry receptors[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2021, 45(3): 1-16.
- [122] BARLAN A, ZHAO J, SARKAR M K, et al. Receptor variation and susceptibility to Middle East respiratory syndrome coronavirus infection[J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(9): 4953-4961.
- [123] VAN DOREMALEN N, MIAZGOWICZ K L, MILNE-PRICE S, et al. Host species restriction of Middle East respiratory syndrome coronavirus through its receptor, dipeptidyl peptidase 4[J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(16): 9220-9232.
- [124] SHI J C, LI Z, ZHANG J, et al. PHEV infection: a promising model of betacoronavirus-associated neurological and olfactory dysfunction[J]. *PLoS Pathogens*, 2022, 18(6): 1-27.
- [125] LUKASSEN S, CHUA R L, TREFZER T, et al. SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells[J]. *EMBO Journal*, 2020, 39(10): 1-15.
- [126] KAWASE M, SHIRATO K, VAN DER HOEK L, et al. Simultaneous treatment of human bronchial epithelial cells with serine and cysteine protease inhibitors prevents severe acute respiratory syndrome coronavirus entry[J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(12): 6537-6545.
- [127] HEURICH A, HOFMANN-WINKLER H, GIERER S, et al. TMPRSS2 and ADAM17 cleave ACE2 differentially and only proteolysis by TMPRSS2 augments entry driven by the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein[J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(2): 1293-1307.
- [128] GAO X P, ZHU K X, WANG L, et al. Structural basis for the interaction between human coronavirus HKU1 spike receptor binding domain and its receptor TMPRSS2[J]. *Cell Discovery*, 2024, 10(84): 1-4.
- [129] SCHAUER R, KAMERLING J P. Exploration of the sialic acid world[J]. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 2018, 75: 1-213.
- [130] SEALY J E, PEACOCK T P, SADEYEN J R, et al. Adsorptive mutation and N-linked glycosylation modulate influenza virus antigenicity and fitness[J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2020, 9(1): 2622-2631.
- [131] LEWIS A L, DESA N, HANSEN E E, et al. Innovations in host and microbial sialic acid biosynthesis revealed by phylogenomic prediction of nonulosonic acid structure[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(32): 13552-13557.
- [132] KREMPL C, BALLESTEROS M L, ZIMMER G, et al. Characterization of the sialic acid binding activity of transmissible gastroenteritis coronavirus by analysis of haemagglutination-deficient mutants[J]. *Journal of General Virology*, 2000, 81(Pt2): 489-496.
- [133] DENG F, YE G, LIU Q Q, et al. Identification and comparison of receptor binding characteristics of the spike protein of two porcine epidemic diarrhea virus strains[J]. *Viruses*, 2016, 8(55): 1-15.
- [134] VLASAK R, LUYTJES W, SPAAN W, et al. Human and bovine coronaviruses recognize sialic acid-containing receptors similar to those of influenza C viruses[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1988, 85(12): 4526-4529.
- [135] KUNKEL F, HERRLER G. Structural and functional analysis of the surface protein of human coronavirus OC43[J]. *Virology*, 1993, 195(1): 195-202.
- [136] NGUYEN L, MCCORD K A, BUI D T, et al. Sialic acid-containing glycolipids mediate binding and viral entry of SARS-CoV-2[J]. *Nature Chemical Biology*, 2022, 18(1): 81-90.
- [137] CHU H, HU B J, HUANG X E, et al. Host and viral determinants

- for efficient SARS-CoV-2 infection of the human lung[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(134):1-15.
- [138] WICKRAMASINGHE I N, DE VRIES R P, GRONE A, et al. Binding of avian coronavirus spike proteins to host factors reflects virus tropism and pathogenicity[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(17):8903-8912.
- [139] WINTER C, HERRLER G, NEUMANN U. Infection of the tracheal epithelium by infectious bronchitis virus is sialic acid dependent[J]. *Microbes and Infection*, 2008, 10(4):367-373.
- [140] YOU R R, LIU K C, HUANG M, et al. Identification and comparison of the sialic acid-binding domain characteristics of avian coronavirus infectious bronchitis virus spike protein[J]. *Journal of Virology*, 2023, 97(5):1-18.
- [141] ProMKUNTOD N, VAN EIJDHOVEN R E, DE VRIEZE G, et al. Mapping of the receptor-binding domain and amino acids critical for attachment in the spike protein of avian coronavirus infectious bronchitis virus[J]. *Virology*, 2014, 448:26-32.
- [142] BISHOP J R, SCHUKSZ M, ESKO J D. Heparan sulphate proteoglycans fine-tune mammalian physiology[J]. *Nature*, 2007, 446(7139):1030-1037.
- [143] CARDIN A D, WEINTRAUB H J. Molecular modeling of protein-glycosaminoglycan interactions[J]. *Arteriosclerosis*, 1989, 9(1):21-32.
- [144] LIU J, THORP S C. Cell surface heparan sulfate and its roles in assisting viral infections[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2002, 22(1):1-25.
- [145] TIWARI V, MAUS E, SIGAR I M, et al. Role of heparan sulfate in sexually transmitted infections[J]. *Glycobiology*, 2012, 22(11):1402-1412.
- [146] CLAUSEN T M, SANDOVAL D R, SPLIID C B, et al. SARS-CoV-2 infection depends on cellular heparan sulfate and ACE2[J]. *Cell*, 2020, 183(4):1043-1057.
- [147] CURTIS B M, SCHARNOWSKE S, WATSON A J. Sequence and expression of a membrane-associated C-type lectin that exhibits CD4-independent binding of human immunodeficiency virus envelope glycoprotein gp120[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992, 89(17):8356-8360.
- [148] MARZI A, GRAMBERG T, SIMMONS G, et al. DC-SIGN and DC-SIGNR interact with the glycoprotein of Marburg virus and the S protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus[J]. *Journal of Virology*, 2004, 78(21):12090-12095.
- [149] YANG Z Y, HUANG Y, GANESH L, et al. pH-dependent entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus is mediated by the spike glycoprotein and enhanced by dendritic cell transfer through DC-SIGN[J]. *Journal of Virology*, 2004, 78(11):5642-5650.
- [150] THEPAUT M, LUCZKOWIAK J, VIVES C, et al. DC/L-SIGN recognition of spike glycoprotein promotes SARS-CoV-2 transinfection and can be inhibited by a glycomimetic antagonist[J]. *PLoS Pathogens*, 2021, 17(5):1-27.
- [151] LI Z L, BUCK M. Neuropilin-1 assists SARS-CoV-2 infection by stimulating the separation of Spike protein S1 and S2[J]. *Biophys Journal*, 2021, 120(14):2828-2837.
- [152] CHEN B Q, DONG S J, YU L, et al. Three amino acid substitutions in the spike protein enable the coronavirus porcine epidemic diarrhea virus to infect Vero cells[J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(1):1-18.
- [153] BALLESTEROS M L, SANCHEZ C M, ENJUANES L. Two amino acid changes at the N-terminus of transmissible gastroenteritis coronavirus spike protein result in the loss of enteric tropism[J]. *Virology*, 1997, 227(2):378-388.
- [154] SANCHEZ C M, PASCUAL-IGLESIAS A, SOLA I, et al. Minimum determinants of transmissible gastroenteritis virus enteric tropism are located in the N-Terminus of spike protein[J]. *Pathogens*, 2019, 9(2):1-13.
- [155] LEPARC-GOFFART I, HINGLEY S T, CHUA M M, et al. Altered pathogenesis of a mutant of the murine coronavirus MHV-A59 is associated with a Q159L amino acid substitution in the spike protein[J]. *Virology*, 1997, 239(1):1-10.
- [156] LEPARC-GOFFART I, HINGLEY S T, CHUA M M, et al. Targeted recombination within the spike gene of murine coronavirus mouse hepatitis virus-A59:Q159 is a determinant of hepatotropism[J]. *Journal of Virology*, 1998, 72(12):9628-9636.
- [157] KIM Y, CHEON S, MIN C K, et al. Spread of mutant middle east respiratory syndrome coronavirus with reduced affinity to human CD26 during the South Korean outbreak[J]. *mBio*, 2016, 7(2):1-8.
- [158] LI W H, ZHANG C S, SUI J H, et al. Receptor and viral determinants of SARS-coronavirus adaptation to human ACE2[J]. *EMBO Journal*, 2005, 24(8):1634-1643.
- [159] SPINELLO A, SALTALAMACCHIA A, MAGISTRATO A. Is the rigidity of SARS-CoV-2 spike receptor-binding motif the hallmark for its enhanced infectivity? Insights from all-atom simulations[J]. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 2020, 11(12):4785-4790.
- [160] ANDERSEN K G, RAMBAUT A, LIPKIN W I, et al. The proximal origin of SARS-CoV-2[J]. *Nature Medicine*, 2020, 26(4):450-452.
- [161] GOBEIL S M, JANOWSKA K, MCDOWELL S, et al. Effect of natural mutations of SARS-CoV-2 on spike structure, conformation, and antigenicity[J]. *Science*, 2021, 373(6555):1-16.
- [162] CAI Y F, ZHANG J, XIAO T S, et al. Structural basis for enhanced infectivity and immune evasion of SARS-CoV-2 variants[J]. *Science*, 2021, 373(6555):642-648.
- [163] ZHU Z Y, CHAKRABORTI S, HE Y X, et al. Potent cross-reactive neutralization of SARS coronavirus isolates by human monoclonal antibodies[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(29):12123-12128.
- [164] GREENOUGH T C, BABCOCK G J, ROBERTS A, et al. Development and characterization of a severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus-neutralizing human monoclonal antibody that

- provides effective immunoprophylaxis in mice[J]. *Journal of Infectious Diseases*, 2005, 191(4): 507-514.
- [165] ROCKX B, CORTI D, DONALDSON E, et al. Structural basis for potent cross-neutralizing human monoclonal antibody protection against lethal human and zoonotic severe acute respiratory syndrome coronavirus challenge[J]. *Journal of Virology*, 2008, 82(7): 3220-3235.
- [166] CORTI D, ZHAO J C, PEDOTTI M, et al. Prophylactic and post-exposure efficacy of a potent human monoclonal antibody against MERS coronavirus[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(33): 10473-10478.
- [167] JIANG L W, WANG N S, ZUO T, et al. Potent neutralization of MERS-CoV by human neutralizing monoclonal antibodies to the viral spike glycoprotein[J]. *Science Translational Medicine*, 2014, 6(234): 234-259.
- [168] YING T, DU L, JU T W, et al. Exceptionally potent neutralization of Middle East respiratory syndrome coronavirus by human monoclonal antibodies[J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(14): 7796-7805.
- [169] LI Y, WAN Y, LIU P, et al. A humanized neutralizing antibody against MERS-CoV targeting the receptor-binding domain of the spike protein[J]. *Cell Research*, 2015, 25(11): 1237-1249.
- [170] WU Y, WANG F R, SHEN C G, et al. A noncompeting pair of human neutralizing antibodies block COVID-19 virus binding to its receptor ACE2[J]. *Science*, 2020, 368(6496): 1274-1278.
- [171] WRAPP D, DE VIEGER D, CORBETT K S, et al. Structural basis for potent neutralization of betacoronaviruses by single-domain camelid antibodies[J]. *Cell*, 2020, 181(6): 1436-1441.
- [172] LV Z, DENG Y Q, YE Q, et al. Structural basis for neutralization of SARS-CoV-2 and SARS-CoV by a potent therapeutic antibody[J]. *Science*, 2020, 369(6510): 1505-1509.
- [173] NAMBULLI S, XIANG Y F, TILSTON-LUNEL N L, et al. Inhalable Nanobody (PiN-21) prevents and treats SARS-CoV-2 infections in Syrian hamsters at ultra-low doses[J]. *Science Advances*, 2021, 7(22): 1-10.
- [174] HUO J D, LE BAS A, RUZA R R, et al. Neutralizing nanobodies bind SARS-CoV-2 spike RBD and block interaction with ACE2[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2020, 27(9): 846-854.
- [175] ESPARZA T J, MARTIN N P, ANDERSON G P, et al. High affinity nanobodies block SARS-CoV-2 spike receptor binding domain interaction with human angiotensin converting enzyme[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(22370): 1-13.
- [176] CHI X Y, YAN R H, ZHANG J, et al. A neutralizing human antibody binds to the N-terminal domain of the Spike protein of SARS-CoV-2[J]. *Science*, 2020, 369(6504): 650-655.
- [177] HASTIE K M, LI H Y, BEDINGER D, et al. Defining variant-resistant epitopes targeted by SARS-CoV-2 antibodies: a global consortium study[J]. *Science*, 2021, 374(6566): 472-478.
- [178] CHEN Y L, WU Y, CHEN S Y, et al. Sertraline is an effective SARS-CoV-2 entry inhibitor targeting the spike protein[J]. *Journal of Virology*, 2022, 96(24): 1-20.
- [179] XIANG Y S, WANG M G, CHEN H Z, et al. Potential therapeutic approaches for the early entry of SARS-CoV-2 by interrupting the interaction between the spike protein on SARS-CoV-2 and angiotensin-converting enzyme 2(ACE2)[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2021, 192(114724): 1-12.
- [180] YU S P, ZHU Y Y, XU J R, et al. Glycyrrhizic acid exerts inhibitory activity against the spike protein of SARS-CoV-2[J]. *Phyto-medicine*, 2021, 85(153364): 1-11.
- [181] MENG J R, LIU J Z, FU L, et al. Anti-entry activity of natural flavonoids against SARS-CoV-2 by targeting spike RBD[J]. *Viruses*, 2023, 15(160): 1-16.
- [182] CAI Y X, XU W, GU C J, et al. Griffithsin with a broad-spectrum antiviral activity by binding glycans in viral glycoprotein exhibits strong synergistic effect in combination with a pan-coronavirus fusion inhibitor targeting SARS-CoV-2 spike S2 subunit[J]. *Virologica Sinica*, 2020, 35(6): 857-860.
- [183] CAO L X, GORESHNIK I, COVENTRY B, et al. De novo design of picomolar SARS-CoV-2 miniprotein inhibitors[J]. *Science*, 2020, 370(6515): 426-431.

(责任编辑:成纾寒)