

COVID-19'da Antikor Bağımlı İmmünpatoloji, Monoklonal Antikorlar ve Mutasyonlar

Antibody-depent Immunopathology, Monoclonal Antibodies and Mutations in COVID-19

Bülent Çakal¹ 

¹Istanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ORCID ID: B.Ç. 0000-0002-1254-844X

Cite this article as: Çakal, B. COVID-19'da antikor bağımlı İmmünpatoloji, monoklonal antikorlar ve mutasyonlar. Experimed 2020; 10(2): 112-8.

ÖZ

Şiddetli akut solunum sendromu ilişkili bir koronavirusun (SARS-CoV-2) etiyolojik etken olduğu koronavirus 19 hastalığı (COVID-19) pandemisi mevcut ve olası sonuçları ile tüm dünyayı etkisi altına almıştır. COVID-19 ile mücadelede ve SARS-CoV-2 enfeksiyonun önlenmesinde aşı dizaynı ve potansiyel terapötiklerin veya hedeflerin belirlenmesi önceliklidir. Viral enfeksiyonlara karşı oluşan humoral immün yanıt patojenlerin temizlenmesi ve yeniden bulaşmadan korunmak için kritik öneme sahiptir. Buna karşın özellikle düşük afiniteli antikorlar, antikor bağımlı alevlenme (ADE) olarak bilinen immün patolojilere neden olabilirler. ADE özellikle aşı tasarımı için önemli sıkıntılara neden olabilir. Nötralizan etkinliğe sahip insan monoklonal antikorları SARS-CoV-2 enfeksiyonunun tedavisinde alternatif bir seçenek oluşturmaktadır. Dolayısıyla SARS-CoV-2 enfeksiyonunun tedavisindeki terapötik monoklonal antikorları tanımlamaya yönelik araştırmalar halen devam etmektedir. Viral mutasyonların tanımlanması ve dinamiğinin anlaşılması salgının seyri ve kontrolü için kritik öneme sahiptir. RNA virüslerinin polimeraz enzimlerinin hata düzeltme aktivitesinin eksik olması nedeniyle SARS-CoV-2'nin de diğer RNA virüslerine benzer olarak mutasyon oranlarının DNA virüslerine göre daha yüksek olması beklenir. Buna karşın pandemi sürecinde meydana gelen viral mutasyonların yönünü ve etkilerini öngörmek zordur. Bu derlemede ADE, monoklonal antikorlar ve mutasyonların COVID-19 pandemisi üzerine olası etkilerine yönelik bilimsel verilerin irdelenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Koronavirüs, SARS-CoV-2, COVID-19, antikor bağımlı alevlenme, monoklonal antikor, viral mutasyonlar, doğal seleksiyon

ABSTRACT

The Coronavirus disease 19 (COVID-19) pandemic which is the etiological agent of a severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV-2) has influenced the whole world with the current and possible results. In order to intervene on COVID-19 and to prevent the SARS-CoV-2 infection, a vaccine design and identification of potential therapeutics and/or targets are a priority. The humoral immune responses to viral infections have critical importance for the clearance of pathogens and also to protect from reinfections. However, particularly low affinity antibodies can cause an immune pathology known as antibody-dependent enhancement (ADE). ADE can cause important adversity especially for vaccine designs. Human monoclonal antibody with neutralizing activity is an alternative option in the treatment of the SARS-CoV-2 infection. So, research is ongoing to identify therapeutic monoclonal antibodies in the treatment of the SARS-CoV-2 infection. Identification and understanding of the dynamics of viral mutations is of critical importance to the course and control of the outbreak. Due to the lack of error correction activity of RNA virus polymerases, similar to other RNA viruses of SARS-CoV-2 is expected to have higher mutation rates than DNA viruses. For all the direction and effects of viral mutations occurring during the pandemic are difficult to predict. This review aimed to examine scientific data about ADE, monoclonal antibodies and the possible effects of mutations on the course of the COVID-19 pandemic.

Keywords: Coronavirus, SARS-CoV-2, COVID-19, antibody-dependent enhancement, monoclonal antibodies, viral mutations, natural selection

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Bülent Çakal **E-posta:** bulentcakal@yahoo.com

Başvuru/Submitted: 27.05.2020 **Revizyon Talebi/Revision Requested:** 13.07.2020

Son Revizyon/Last Revision Received: 21.07.2020 **Kabul/Accepted:** 06.08.2020



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

GİRİŞ

Virüslerin etiyolojik etkeni olduğu enfeksiyon hastalıklarından korunma ve virüslerin eliminasyonunda antikorlar ve antikor aracılı immünite, birey ve toplum sağlığının korunması açısından yaşamsal öneme sahiptir. Akut viral solunum yolu enfeksiyonları ile ilişkili patolojiler virüs ve/veya immün yanıtlara bağlı olarak gelişebilmektedir. COVID-19'da yetersiz doğal immün yanıtlar ile abartılı adaptif immün yanıtların, hastalığın klinik seyri ve sonuçları üzerinde belirleyici olduğu anlaşılmaktadır.

Antikor yanıtlarının niceliği ve niteliği, ilişkili oldukları efektör immün fonksiyonlar ve sonuçları üzerinde belirleyici etkinliğe sahiptir. Yüksek afiniteli antikorlar spesifik viral epitoplara tanınarak uygun nötralizasyon sağlayabilirler. Nötralizan antikorlar *in vitro* düzeyde viral giriş, füzyon ya da virion'un hücre dışına salınımını bloke etme kapasiteleriyle tanımlanırlar. *In vivo* düzeyde ise nötralizan antikorlar aracısız olarak fonksiyonel olabilirler. SARS-CoV-2 insan anjiyotensin dönüştürücü enzim 2'yi (human angiotensin-converting enzyme 2; hACE2) hücre girişi için fonksiyonel bir reseptör olarak kullanır. Koronavirüslerin spike proteinleri (S) virüsün konak hücreye girişine aracılık eden reseptör tanıma ve membran füzyonunu içeren iki kritik fonksiyona sahiptir. Spike proteini reseptör bağlayan alt birim (S1) ve membran füzyonu ile ilişkili alt birim (S2)'den oluşur. SARS-CoV-2'nin spike proteininin reseptör bağlanma domeninde (RBD) yer alan spesifik nötralizan antikorlar, konak hücre yüzeyinde yer alan ACE2 aracılı viral bağlanmayı nötralize edebilir. Benzer şekilde S2 protein ilişkili viral füzyon da S2 içerisinde yer alan heptad tekrar 2 domainini (HR2) hedef alan nötralizan antikorlar tarafından da viral giriş bloke edilebilir. Nötralizan antikorlar ayrıca kompleman komponentleri, fagositler ve doğal öldürücü (Natural killer; NK) hücreler gibi immün sistemin diğer hücrel bileşenleri ile etkileşebilmektedir. NK hücreleri enfekte hücreler üzerindeki viral protein komplekslerini Ig'nin Fc domainine karşı yüzeylerindeki taşıdıkları Fc reseptörler (Fc receptors; FcRs) gama (Fc.Rs) aracılığıyla tanıyarak, antikor bağımlı sitotoksikite oluştururlar. Miyeloid hücreler de antikorlar ile opsonize olan hücreleri tanımak için bu etkileşimi kullanarak, antikor bağımlı hücrel fagositozis geliştirirler. Gerek NK hücreleri aracılı antikor bağımlı sitotoksikite gerekse miyeloid hücreler aracılı antikor bağımlı hücrel fagositoz antiviral hücrel immünitenin efektör fonksiyonlarını oluşturur. Dolayısıyla bu efektör yanıtlar fagositlerin eşliğinde antikor ilişkili immünite aracılığıyla patojenin eliminasyonuna katkıda bulunabilir. Buna karşın nadiren de olsa patojene spesifik antikorlar, antikor bağımlı alevlenme (ADE) olarak da bilinen bir olağan dışılık sonucunda patolojilere yol açabilirler (1-6).

SARS-CoV-2 enfeksiyonunun klinik seyri ve sonuçları enfekte bireyin düzelmesine imkan veren asemptomatik, hafif ve orta şiddetli enfeksiyondan, ani ve hızlı gelişen yoğun enflamasyon ve sitokin fırtınası ile karakterize, pulmoner tromboz ve bunun sonucu enfekte bireyin ölümüne kadar uzanan geniş bir yelpazede değişkenlik gösterebilmektedir. COVID-19'un patogenezinde humoral immün yanıtların rolü henüz net değildir. SARS-CoV-2 ile enfekte bireylerde virüse karşı gelişen spesifik antikor

düzeylerinin hastalığın klinik şiddeti ile orantılı olmasına karşın klinik sonuçları ile orantılı olmaması, nötralizan antikorların tek başına hastalık şiddetini azaltma ve viral eliminasyondan daha ziyade enfeksiyona karşı koruyucu nitelikte olabileceğine işaret etmektedir (7,8).

ADE ilişkili immünpatojiler ve sonuçları, şiddetli dengue virüs (DENV) enfeksiyonunun immünpatogenezini açıklamak için uzun süredir hipotez edilmekte ve ayrıca insan immün yetmezlik virüsü (Human immunodeficiency virus; HIV), influenza ve Ebola virüsü de içeren diğer virüsler için de rapor edilmektedir (9-12). Dengue virüs serotiplerinden biriyle primer enfeksiyon, kişiyi heterolog DENV serotipiyle sekonder enfeksiyon oluşması halinde hastalığın daha şiddetli geçmesine duyarlı hale getirebilmektedir. Duyarlı bireylere kimerik dört değerli canlı rekombinant dengue aşısı uygulanması sonrası hastane başvuru oranında artışın varlığı, dengue'ye karşı orta düzeyde maternal antikorlara sahip infantlarda hastalık riskinin artışına dair bulguların, dengue patogenezinde antikorların rolünü destekleyen önemli kanıtlar olduğu öne sürülmektedir (13-16). Benzer mekanizma kedilerde ölümle sonuçlanabilen hastalığa sebep olan feline infectious peritonitis virüs olarak adlandırılan koronaviruslar ile enfekte seronegatif ve seropozitif yavru kedilerde de tanımlanmıştır (17). Infantlarda endemik hCoV ilişkili en yüksek alt solunum yolu enfeksiyon yükü %7,8; 6 aya kadarki dönemde %1,5; 2-5 yaş arasında ise sifıra yakın aralığında olmasına karşın, üst solunum yolu enfeksiyon yükünün yaş aralığının benzer olması, alt solunum sisteminde maternal koruyucu immünitenin orta düzeylere düşmesi sonrası yüksek hastalık yükü ve bu durumun antikor sirkülasyonunun olmadığı üst solunum yollarında gözlemlenmemesine ilişkin verilerin de hCoV enfeksiyonlarında ADE olasılığını destekler nitelikte olabileceği belirtilmiştir (18).

SARS-CoV enfeksiyonlarında ADE, monosit, makrofaj ve B hücreleri gibi farklı immün hücreler üzerinde ekspres edilen FcRs ile ilişkilidir. Önceden var olan SARS-CoV'e spesifik antikorlar FcR ekspres eden hücrelere viral girişi olanaklı hale getirebilmektedir. Kısaca önceden var olan antikorların Fab domainler aracılığıyla yeni enfeksiyon etkeni olan virüsün antijenik epitoplarına, Fc domainleri aracılığıyla da FcR ekspres eden hücrelere bağlanması sonucu oluşan etkileşim zinciri enfeksiyon etkeni olan yeni virüsün FcR ekspres eden hücrelere girişini ve bu hücreleri enfekte etmesini olanaklı kılabilir. Nihayetinde bu süreç ACE2 ekspresyonu, endozomal pH ve proteazlardan bağımsız olup, ACE2 dışında hücre içine FcR ilişkili viral girişi ifade etmektedir (19,20).

ADE'nin enfekte konakta SARS-CoV'in yayılımına olanak tanıdığına dair henüz net bir kanıt yoktur. Gerçekte ADE aracılı makrofaj enfeksiyonu, viral replikasyon ve sentez edilen yeni virionun hücre dışına salınımı ile karakterize viral biyogenez ile sonuçlanmaz. Bununla birlikte virüs-antikor immün komplekslerinin birlikteliği, enflamasyonu ve FcRs eşliğinde miyeloid hücrelerin aktivasyonu aracılığıyla doku hasarını teşvik edebilir. Bu şekilde endozom içine ulaşan virüs, RNA'ya duyarlı Toll benzeri reseptörler (Toll-like receptors; TLRs) TLR3, TLR7 ve

TLR8 tarafından tanınır. Makrofajlara ADE aracılı SARS-CoV girişi, TNF ve IL-6 sentezinin artışı indükler. SARS-CoV ile enfekte farelerde ADE'nin IL-10 ve TGF β gibi anti-enflamatuvar sitokin düzeylerinde azalma, CCL2 ve CCL3 gibi pro-enflamatuvar kemokin düzeylerinin ise artışı ile ilişkili olabildiği gösterilmiştir. Dolayısıyla SARS-CoV'ların orijinal boyutlarına sahip spike proteinini kodlayan modifiye aşı virüsü Ankara (modified vaccinia Ankara; MVA) ile insan dışı primatların immünizasyonunun alveoler makrofajların aktivasyonunu teşvik ederek, akut akciğer hasarına neden olabildiği gösterilmiştir (19-23).

Bir antikorun nötralizasyon kapasitesi ve konağı koruma kapasitesi ya da ADE'ye ve akut enflamasyona neden olup olmayaacağı, antikorun spesifitesi, konsantrasyonu, afinitesi ve izotipi gibi çoklu faktörler tarafından belirlenir. Bu açıdan SARS-CoV S ve nükleokapsid (nucleocapsid; N) proteinini kodlayan viral vektör aşılı aracılığıyla anti-S IgG ve anti-N IgG immünizasyonu teşvik edilen farelerde gerçekleştirilen yeniden bulaşma modeli çalışmalarında, viral N proteine karşı bağışıklık kazanan farelerde pro-enflamatuvar sitokinlerin sekresyonu sonucu akciğerlere nötrofil ve eozonofil infiltrasyonunun artışı ile karakterize daha şiddetli akciğer patolojilerinin geliştiği gözlemlenmiştir. Benzer olarak insan dışı primatlarda gerçekleştirilen yeniden bulaşma çalışmalarında da viral spike proteininin RBD ve HR2 epitoplarına karşı oluşan antikorların koruyucu etkinliğinin daha iyi olduğu, buna karşın spike proteininin diğer epitoplarına karşı gerçekleştirilen immünizasyonun ise ADE'yi indükleyebildiği gösterilmiştir (22,24,25).

In vitro deneysel veriler FcRs eksprese eden hücreler için ADE'nin daha çok, düşük antikor konsantrasyonu varlığında gerçekleştiği, yüksek antikor konsantrasyonunun ise SARS-CoV'lerin konak hücre içine girişini nötrale edebilme kapasitesini artırdığı, dolayısıyla yüksek afiniteli antikorların ADE'den ziyade virüsün reseptöre bağlanmasını bloke etme eğiliminde olduğuna işaret etmektedir. Bu açıdan hem ACE2 hem de Fc γ RII eksprese eden insan pnömosit hücre hatlarında yapılan bir çalışmada hastalardan elde edilen anti-SARS-CoV serumu 1/100-2000 dilüsyonda deney ortamına eklendiğinde, virüsün indüklediği apoptozis ve enfektivitenin arttığı, buna karşın deney ortamına daha yüksek konsantrasyonlarda serum eklendiğinde ise nötralizasyon varlığının gözlemlendiği rapor edilmiştir (20,21).

Antikorların efektör fonksiyonları izotipleri tarafından kontrol edilir. Bu açıdan IgM'in kompleman aktivasyonu üzerinden pro-enflamatuvar yanıtları aktive edebildiği, IgG alt sınıflarının ise bağlandığı farklı FcR'leri aracılığıyla immün yanıtlar üzerinde düzenleyici etkilere sahip olduğu kabul edilir. Fc γ R'lerinin çoğunun sinyal iletimi tirozin bazlı immün reseptör aktivasyon motifi (immunoreceptor tyrosine-based activation motif; ITAM) aracılığıyla gerçekleşmesine karşın Fc γ RIIb ise sitoplazmik kuyruğu üzerinde anti-enflamatuvar yanıtlar ile ilişkili tirozin bazlı immün reseptör inhibisyon motifi (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif; ITIM) içerir. Fc γ RI ve Fc γ RIIIa içermeyen Fc γ RIIa ve Fc γ RIIb'nin ektopik ekspresyonunun SARS-CoV enfeksiyonunda ADE'yi indükleyebildiği, Fc γ RIIIa allel polimorfizminin SARS patolojileri ile ilişkili olabildiği, bu açıdan IgG1

ve IgG2 bağlayan Fc γ RIIIa izoformlarının sadece IgG2 bağlayan izoformlarına göre daha şiddetli hastalık gelişmesi ile ilişkili olabildiği rapor edilmiştir (20).

SARS-CoV-2'ye karşı uygun koruyucu antikor yanıtlarının oluşturulması amacıyla aşı ve adjuvanların tanımlanması kritik önem taşımaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda inaktive SARS-CoV virüsü ile farelerin, S protein kodlayan MVA ile rhesus macaques cinsi maymunların ve S proteini kodlayan DNA aşılı ile farelerin immunizasyonunun, genellikle düşük nitelik ve nicelikteki antikor sentezine neden olarak, ADE ve çeşitli düzeylerde eozinofil aracılı immunopatolojileri indükleyebildikleri rapor edilmiştir (23,26). Ayrıca aşılardan güvenliği ve etkinliğinin değerlendirilmesinde konağın yaşı da önem taşımaktadır. Bu açıdan yaşlı farelerde iki aşamalı inaktive SARS-CoV aşı uygulamasının nötralizan antikor yanıtlarını indüklemeye başarısız olduğu gösterilmiştir. Alüminyum türevi adjuvanlar içeren iki aşamalı inaktive SARS-CoV aşılı yaşlı farelerde yüksek titrelerde antikor yanıtlarını indüklemesine karşın, Th2 (tip 2 yardımcı T; T helper 2) tip immün yanıtlar ile ilişkili IgG2 yerine eozonofil ve akciğer patolojileri oluşmasına katkıda bulunabilme potansiyeli taşıyan IgG1 tipindeki yanıtların oluşmasına neden olabildiği de saptanmıştır (26). Bunun aksine fare çalışmaları spike protein RBD'ni içindeki spesifik epitoplara karşı antikor yanıtını hedef alan fraksiyonlarının veya peptid aşılardan koruyucu antikor yanıtlarının gelişiminde daha uygun olabildiği gösterilmiştir (4). Ayrıca canlı-atenüe SARS-CoV aşılardan da yaşlı farelerde koruyucu immün yanıtları indükleyebildiği gösterilmiştir (27). SARS-CoV RBD'sini kodlayan rekombinant Adeno-ilişkili virüs aşılardan intranasal uygulanmasının intramusküler uygulamalara oranla akciğerlerde daha yüksek titrelerde IgA yanıtını indükleyebildiği ve akciğer patolojilerini azaltabildiği rapor edilmiştir (4).

Bununla birlikte henüz viral enfeksiyonunun şiddetinin kaynağının antikor veya T hücre ilişkili immün ya da konak faktörleri ile ilişkili olup olmadığını ayıracak herhangi bir klinik yada laboratuvar parametresi mevcut değildir. Virüs ve konak immün hücreler ile immün hücrelerin kendi arasındaki etkileşimleri türe özgü olması da *in vitro* ve deney hayvanları kullanılarak gerçekleştirilen bilimsel çalışma verilerinin insan ADE ilişkili immünopatolojilere uyarlanmasını sınırlayabilmektedir. Niyahetinde geçirilmiş enfeksiyon, aşı veya pasif transfer yolu ile edinilen, patojene spesifik antikorların, virüse ve enfekte bireyin immünolojik ve genetik faktörlerine bağlı olarak, enfekte kişide hastalığın şiddetlenmesi olarak tanımlanan ADE'ye ilişkin klinik verileri henüz kısıtlıdır (28).

Tüm dünyada SARS-CoV-2'ye yönelik immünizasyon sağlanması amacıyla nükleik asit, viral vektör ve fraksiyonel aday aşılardan oluşan çok yönlü, çok merkezli çalışmalar, preklinik ve klinik deneme aşamalarında sürdürülmektedir. Ancak COVID-19'lu hastalarda SARS-CoV-2 N ve S proteinlerine karşı oluşan yüksek titreli IgM ve IgG sınıfı antikor yanıtlarının bazı hastalarda zararlı etkilerinin olabileceğini yönünde değerlendirmeler de bulunmaktadır (29,30). Buna karşın orta şiddetli seyreden COVID-19 sonrası iyileşme saptanan hastaların %70'inde ölçüle-

bilir düzeyde nötralizan antikor yanıtlarının varlığı ve bunların özelliklerinin belirlenmesi aşı hazırlanmasına yönelik çalışmalara katkı sağlayacaktır (31). Dolayısıyla SARS-CoV-2'ye yönelik aday aşılarda güvenlik değerlendirmesi kapsamında ADE'nin de dikkate alınması gerektiği ve ayrıca güvenilir ve efektif nötralizasyon kapasiteleri nedeniyle monoklonal antikor üretiminin de alternatif bir seçenek olabileceği belirtilmektedir (6).

Özellikle virüs ile temas sonrası şiddetli hastalık riski yüksek olan bireylere, hastalık şiddetinin azaltılması veya tedavisi amacıyla profilaktik antikor (monoklonal) uygulamalarının Ebola veya SARS-CoV enfeksiyonlarında da deneyimlendiği üzere güvenli ve etkili olabilmesi nedeniyle, COVID-19 için de nötralizan etkili monoklonal antikorların tespitine yönelik yoğun araştırmalar mevcuttur (32-35).

SARS-CoV-2 yüzey spike proteini virüsün ACE2 reseptörü aracılığıyla hücreye tutunması ve sonrası membran füzyonu aracılığıyla hücreye girişine aracılık eden, hücre ve doku tropizmi ile enfeksiyonun oluşması ve seyrinde kritik belirleyici olan majör antijendir. Dolayısıyla SARS-CoV'lerin spike proteinleri aşılama, antiviral stratejiler, terapötik antikorlar ve tanı için temel hedeflerden birini teşkil etmektedir. Spike proteini konak hücre reseptörüne bağlanmadan sorumlu S1 ve konak hücre membranlarının füzyonundan sorumlu S2 olmak üzere iki alt birimden oluşur. S1'de N-terminal domain (S1-NTD) ve C-terminal domain (S1-CTD) olmak üzere iki önemli domain içerir. S1 domainlerinden biri ya da ikisi potansiyel olarak reseptörleri bağlar ve reseptör bağlayan domaini (RBD) olarak işlev görür (1,36). SARS-CoV-2 ve SARS-CoV'in S proteinleri arasında filogenetik açıdan nükleotid ve aminoasit düzeyinde sırasıyla yaklaşık %73 ve %77 oranında sekans benzerliği içerdiği rapor edilmiştir. Dolayısıyla iki virüs arasındaki yüksek derecedeki sekans benzerliği evrimsel süreç içerisinde iyi korunmuş ve henüz tespit edilememiş çapraz reaktif epitopların var olma olasılığını artırır (37,38).

SARS-CoV ve SARS-CoV-2 RBD'leri arasında yüksek yapısal benzerliğe rağmen, SARS-CoV RBD ile çapraz reaksiyon veren üç monoklonal antikorun (mAbs S230, m396, 80R) SARS-CoV-2 RBD ile bağlanma reaksiyonu vermediği, dolayısıyla iki virüsün RBD'leri arasındaki çapraz antikor yanıtlarının sınırlı olabileceği vurgulanmıştır (39). Geçirdiği SARS-CoV enfeksiyonu sonrası iyileşen bir hastanın konvelesan serumundan CR3022 olarak adlandırılan, İmmünglobulin (Ig) ağır zincirleri V, D, J (variable, diversity, joining) bölgeleri (IGHV, IGHD ve IGHJ) sırasıyla germ-line IGHV5-51, IGHD3-10 ve IGHJ6 genleri tarafından, buna karşın hafif zincir V ve J bölgeleri ise IGKV4-1 ve IGKJ2 genleri tarafından kodlanan, SARS-CoV'ün RBD'nini hedef alan bir nötralizan antikor elde edilmiştir (40). Gerçekleştirilen IgG blast analizlerinde CR3022 IGHV'nin nükleotid sekans düzeyinde germ-line sekansdaki 8 aa değişikliği ile sonuçlanan %3,1 oranında somatik mutasyon, buna karşın CR3022 IGKV'nin nükleotid sekans düzeyinde germ-line sekansdaki 3 aa değişikliği ile sonuçlanan %1,3 oranında somatik mutasyon içerdiği gösterilmiştir (41). Ayrıca CR0322'nin SARS-CoV-2'nin RBD bölgesine bağlanabildiğinin de gösterilmesi çapraz reaksiyon veren epitopun varlığına işaret etmektedir (42).

SARS-CoV-2'nin RBD ile CR0322'nin kristal yapısının tanımlanmasına yönelik bir çalışmada; CR0322'nin RBD ile etkileşim için hem IgG'nin ağır ve hafif zincirlerini hem de 6 adet ek tanımlayıcı bölgeyi kullandığı belirlenmiştir. 11 aa somatik mutasyondan 5'nin CR0322 tarafından tanınan paratop bölgesinde olmasının ise antikorun afinite olgunlaşmasına işaret ettiği belirtilmiştir. Ayrıca CR0322 tarafından tanınan 28 epitopun 24'ünün (%86) SARS-CoV-2 ve SARS-CoV epitopları arasında korunmuş olduğu da belirlenmiştir. Dolayısıyla bu yüksek sekans benzerliğinin çapraz reaktiviteyi açıkladığı, fakat değişime uğrayan epitoplar nedeniyle, CR0322 Fab domaininin SARS-CoV RBD'ne bağlanma afinitesinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (38). 372. aa pozisyonunda SARS-CoV'nin Treonin (Thr), SARS-CoV-2'nin ise Alanin (Ala) içermesi nedeniyle SARS-CoV'in N370 pozisyonunda oluşan, ek bir N-glikozilasyon alanının CR0322'nin epitopa bağlanma afinitesinde artışa neden olduğu, dolayısıyla bu verilerin SARS-CoV ve SARS-CoV-2 RBD bölgeleri arasındaki antijenik farklılıkların bir kısmının N370 pozisyonundaki N-glikozilasyondan kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir (43). Bu amaçla yapılan mikronötralizasyon deneylerinde, CR022'nin SARS-CoV'i nötralize edebilmesine karşın daha yüksek konsantrasyonlarda dahi SARS-CoV-2'yi nötralize edemediği gösterilmiştir (38). Yine sekans verileri baz alınarak yapılan modelleme çalışmalarında CR022'nin ACE'ye bağlanma uyumunun düşük olduğu, bu açıdan CR022'nin nötralizasyon mekanizmasının reseptör bağlanma blokajından bağımsız olduğu, RBD'ne bağlanmak için ACE2 ile rekabete girmediği, dolayısıyla CR022'nin RBD'yi hedef alan diğer monoklonal antikorlarla birlikte sinerjik etkiye sahip olabileceği belirtilmiştir (40). CR022'nin SARS-CoV-2'nin S protein RBD'ninin açık ve kapalı konformasyonel formlarına karşı afinitesinin farklılık gösterebildiği, ayrıca RBD'nin N terminal bölgesi ile zayıf uyum gösterdiği belirlenmiştir. Buna karşın CR022'nin yapılan ELISA çalışmalarında SARS-CoV-2 ile etkileşebileceği, dolayısıyla SARS-CoV ve SARS-CoV-2 arasında iyi korunmuş benzer kriptomatik epitopların olabileceği belirtilmiştir. Nihayetinde CR022'nin SARS-CoV-2'ye karşı *in-vitro* nötralizasyon kapasitesinin düşük olmasına karşın *in-vivo* nötralizasyon etkinliğinin olabileceği öngörülmüştür (38).

Benzer şekilde 2003 yılı SARS-CoV salgınında enfekte bireylerden viral S proteinine karşı nötralizan etkinliği tanımlanan, S303, S304, S309 ve S315 olarak adlandırılan antikorlardan özellikle S309'un taksonomik olarak *sarbecovirus* alt cinsi içerisinde yer alan SARS-CoV'lerin spike protein RBD'deki korunmuş epitoplara karşı potansiyel nötralizasyon etkinliği gösterilmiştir (44). Çin'in Wuhan bölgesinde SARS-CoV-2 ile enfeksiyon sonrası iyileşen iki bireyin B hücrelerinden elde edilerek, *in vitro* SARS-CoV-2 spike protein RBD'ne karşı potent nötralizan etkinliği belirlenen, COV2-2196 ve COV2-2381 olarak adlandırılan iki monoklonal antikorun gerek transgenik farelere gerekse rhesus macaques cinsi primatlara pasif transferinin SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı deney hayvanlarını koruduğu gösterilmiştir (45). Sonuç olarak korunmuş epitopların tespitinin daha kapsayıcı koronavirus aşılalarının geliştirmesi ve sonraki olası koronavirus salgınlarına karşı çapraz koruyucu antikorların eldesi için yararlı olabileceği belirtilmektedir.

Replikasyon DNA veya RNA içeren genetik materyalin sentezlenmesi amacıyla gerçekleştirilen, dolayısıyla türlerin veya canlılığın devamlılığını sağlayan en temel biyolojik süreçtir. Sentez temel olarak çok sayıdaki ek faktörler haricinde mevcut DNA ya da RNA'nın kalıp/şablon olarak kullanılması ve polimeraz enzimleri aracılığıyla gerçekleşir. Çevresel faktörler doğal seçim baskısı ile kalıp olarak kullanılan bir önceki genetik materyal ve polimeraz enzimi, sentezin biyolojik ve genetik mahiyeti ya da sonuçlarının ve/veya etkilerinin belirlenmesinde kritik rol oynarlar. Replikasyon viral biyogeninin en kritik ve en özgün aşamasıdır. Viral replikasyon amacıyla genel olarak (HIV ve HBV gibi istisnalar hariç) DNA virüsleri DNA polimeraz, RNA virüsleri ise RNA polimeraz enzimini kullanır. Sentezin hızı ve dinamiği virüse ve enfekte ettiği organizmaya göre değişir. RNA polimeraz enzimi hata düzeltme fonksiyonu DNA polimeraz enzimine göre yaklaşık 10^5 kat daha düşüktür. Bu nedenle doğası gereği RNA virüslerinde RNA sentezinin her bir döngüsünde yeni sentezlenen RNA üzerinde, kalıp olarak kullanılan RNA'dan farklı olabilen, nükleotid değişiklikleri (mutasyon) meydana gelebilmektedir. Bu açıdan RNA virüslerinde oluşan mutasyonlar doğal biyolojik sürecin bir sonucu olarak kabul edilir. Dolayısıyla viral genomda virüsün bulaştırıcılığını ve virülansını artıran yönde spontan gelişebilen mutasyonlar meydana gelebilir. Buna karşın bu mutasyonların olumlu ya da olumsuz yönde virolojik ve klinik açıdan, hastalığın seyri, şiddeti ve sonuçları üzerindeki potansiyel etkileri birçok viral ve çevresel faktörün karşılıklı etkileşimiyle şekillenir. Bu faktörlerden en önemlisi ve belirleyici olan ise doğal seçimli baskıdır. Oluşan mutasyonların sürdürülebilir olması için virüslerin seçimli bir baskı altında kalması ve viral genomun da buna imkan ve destek sağlaması gerekir.

Virüslerin evrilmesi üzerinde doğal seçiminin rolü kolaylıkla öngörülemeyebilir. Bu durum yeni ortaya çıkan viral salgınların yönü ve dinamiğinin belirlenmesine yönelik yaklaşımlarda spekülasyonlara neden olabilir. Bu açıdan salgınlar sırasında virüsü daha virülant hale getirebilecek mutasyonların oluşacağı yaygın bir öngörü olmasına karşın bunu destekleyen herhangi bir bilimsel veri ve kanıt yoktur. Keza virülansın evrimi ve süreci henüz çok az bilinen son derece komplike ve karmaşık bilimsel arka plana sahiptir. Mutasyonların evrimsel süreç içerisinde virüsün patojenite ve virülansını artırıcı ya da azaltıcı yönde etkileri olabilir. Dolayısıyla evrilme sürecini belirleyen faktör ve kuvvetlerin ne ve nasıl etkili olabileceği bugün için öngörülmesi oldukça zor olması nedeniyle virülansın izleyebileceği seyir hakkında tahmin veya öngörülerde bulunmak çok güç ve füzuli olabilir. Nihayetinde salgınlar sırasında mutasyonlar meydana gelebilir ama bunun epidemiyolojik etkilerini ölçmek zordur (46).

2002-2003 SARS-CoV epidemisinin başlangıç ve sonlanma safhasında ORF8'de önemli delesyonların saptandığı, viral genomda nötral mutasyon oranının salgın süresince stabil kaldığı, sekansın kodlama yapan özellikle S gen bölgesindeki aa mutasyon oranının ise başlangıçta yüksek olmasına karşın salgının ortası ve sonlarına doğru yavaşlayarak stabil kaldığı, spike proteininin pozitif seçimli baskıya güçlü bir başlangıç yanıtı verdiği ve bu değişimlerin salgının seyrini yönlendirdiğine dair veriler, virüsün konağın seçimli baskısına direnci ve insana adaptasyonu

nuna işaret ettiği yönünde değerlendirilmiştir. Bu açıdan SARS-CoV-2'nin de benzer şekilde bir adaptasyon süreci geçirmiş olabileceği, fakat bu adaptasyonların daha fazla ölüm anlamına gelmesinin olası olmayacağı ifade edilmektedir (46-48).

SARS-CoV-2 spike proteini aşılama, antiviral stratejiler, terapötik antikorlar ve tanı için temel hedeflerden birini teşkil etmesine ek olarak viral spike proteininde oluşacak mutasyonların salgının seyrini değiştirme potansiyelleri ve yine spike proteinini hedef alan olası bir aşının immünizasyonunu etkileme potansiyelleri nedeniyle izlemi ve tanınması kritik önem taşımaktadır. Bu amaçla pandemi süresince izole edilen ve GISAID (Global Initiative on Sharing All Influenza Data) üzerinden paylaşılan viral genomla ait sekans verileri baz alınarak, SARS-CoV-2 genomlarındaki rekombinasyonları ve mutasyonları saptamaya yönelik gerçekleştirilen retrospektif çalışmalarda; viral spike proteinini kodlayan gende D614G, S943P, L5F, L8V/W, H49Y, Y145H/del, Q239K, V367F, G476S, V483A, V615I/F, A831V, D839Y/N/E, S943P, P1263L ve füzyon peptid üzerinde 937-943 aa pozisyonlarında kümelenen mutasyonlar saptandığı rapor edilmiştir. Bu mutasyonlardan özellikle 614. aa pozisyonunda saptanan D614G yönündeki mutasyonun, virüsün bulaşma düzeyinin ve hastalık şiddetinin artışı yönünde etkilerinin olabileceği öngörülmektedir. Viral spike protein RBD'deki bazı aa varyasyonlarının viral enfektivitede azalmaya neden olabileceği, buna karşın A475V, L452R, V483A ve F490L'yi içeren varyantların ise nötralizan antikorlara dirençli olabileceği, bununla birlikte bu viral varyantların yaygın olmadığı da rapor edilmiştir. Ayrıca yapılan *in-vitro* deneysel çalışmalarda viral spike proteindeki N-glikolizasyon alanlarındaki delesyonları içeren bazı varyasyonların viral enfektivitenin azalmasına neden olabileceği, bununla varyasyonlardan N234Q'nun nötralizan antikorlara direnç (immün kaçış) ile N165Q'nun ise nötralizan antikorlara daha duyarlı olması ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bunlarla birlikte, henüz belirtilen mutasyonların olası immünolojik ve hastalık seyri üzerindeki patolojik etkilerinin belirlenmesine yönelik fonksiyonel analizler gerçekleştirilmiş değildir. Bilindiği üzere viral genomda saptanan herhangi bir mutasyonun olası virolojik ve patolojik etkileri ancak virüsün fonksiyonel analizlerinin yapılarak konfirme edilmesi ile ortaya konabilir (49,50).

Bu derlemenin kapsamı dışında olmakla birlikte, geliştirilme aşamasında olan COVID-19 aşılı için potansiyel risklerden biri de aşı ilişkili solunum yolu hastalığının şiddetlenmesi (vaccine-associated enhanced respiratory disease; VAERD) sendromudur. Aşılama aracılığıyla edinilen antikorlar ADE'ye neden olması dışında, VAERD'ye de neden olabilmektedir. VAERD aşılama sonrası spesifik antijenik epitoplara karşı nötralizan kapasitesi zayıf antikor yanıtları ile ilişkilidir. Nötralizasyon kapasitesi düşük olmasına karşın özellikle yüksek viral yük varlığında, antikorların viral epitoplara ile oluşturduğu immün kompleksler ve kompleman aktivasyonu enflamatuvar sitokin yanıtlarının indüklenmesine neden olarak VAERD'e neden olabilmektedirler. VAERD ayrıca aşının T_H1 yönündeki immün yanıtlardan ziyade T_H2 yönündeki immün yanıtların indüklenmesi sonrası gelişen, T_H2 ilişkili sitokin yanıtları ve alerjik enflamasyon ile ilişkili olabilmektedir (51).

COVID-19'un immünpatogenezi ile ilişkili bilimsel veri ve bilgiler henüz sınırlıdır. Mevcut bilimsel ve klinik veriler COVID-19'da bağışık yanıtının virüs, enfekte birey ve çevresel faktörlerin karşılıklı etkileşimi ile şekillendiği, enfeksiyonun klinik seyri ve sonuçlarının hastaların çoğunda enfeksiyonunun kontrol altına alınmasına imkan verebilen immün yanıtlardan oluştuğu bildirilmektedir. Ancak özellikle kronik inflamasyon ve immün yetmezlik gibi komorbiditelerin eşlik ettiği çok yaşlı kişilerde ise immün fonksiyon bozukluğu ve/veya yetersizliği sonucu ani ve hızla gelişen yoğun inflamasyon, sitokin ve kemokin fırtınası ile karakterize olan pulmoner tromboz ile sonuçlanabilen oldukça geniş bir yelpazeyi içerebilmektedir (52).

SONUÇ

Sonuç olarak,

- virüse spesifik antikorlar enfeksiyonun kontrolünde önemli rol oynamasına karşın nadiren de olsa ADE ilişkili olumsuz sonuçları olabildiği,
- özellikle aşı tasarımları ve antikor tedavileri için ADE ve VAERD olasılığının dikkate alınması gerektiği,
- nötralizan etkinliğe sahip olan monoklonal antikorların SARS-CoV-2 enfeksiyonunun tedavisinde potansiyel alternatif bir seçenek oluşturduğu,
- COVID-19 salgını ile mücadelede viral genomdaki mutasyon ve/veya varyasyonların yakından izleniminin gerekli ve yararlı olduğu,
- mutasyonların virüsün olası zararlı etkilerini gösteren bir endikatör olmaktan ziyade yeni salgınların anlaşılmasına yardımcı olduğu,
- gerçekte mutasyonların virüslerin yaşam döngülerinin doğal bir parçası olduğu ve salgınların seyrini olumsuz yönde değiştirebilecek etkilerinin ise nadir ve sınırlı olduğu öngörülebilir.

Etik Komite Onayı: Bu çalışmada, etik komite iznine gerek duyulacak bir materyal ya da deney hayvanı kullanılmamıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - B.Ç.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - B.Ç.; Analiz ve/veya Yorum - B.Ç.; Literatür Taraması - B.Ç.; Yazan - B.Ç.; Eleştirel İnceleme - B.Ç.

Çıkar Çatışması: Yazar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek: Yazar bu çalışmada finansal destek almadığını beyan etmiştir.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval is not required because of no material or experimental animal that would require permission.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - B.Ç.; Data Collection and/or Processing - B.Ç.; Analysis and/or Interpretation - B.Ç.; Literature Search - B.Ç.; Writing - B.Ç.; Critical Reviews - B.Ç.

Conflict of Interest: The author has no conflict of interest to declare.

Financial Disclosure: The author declared that this study has received no financial support.

KAYNAKLAR

1. Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu Rev Virol* 2016; 29;3(1): 237-26. [CrossRef]
2. Tortorici MA, Veeseleer D. Structural insights into coronavirus entry. *Adv Virus Res* 2019; 105: 93-116. [CrossRef]
3. Walls AC, Tortorici MA, Snijder J, Xiong X, Bosch B-J, Rey FA, et al. Tectonic conformational changes of a coronavirus spike glycoprotein promote membrane fusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114: 11157-62. [CrossRef]
4. Du L, He Y, Zhou Y, Liu, Zheng B-J, Jiang S. The spike protein of SARS-CoV-2 a target for vaccine and therapeutic development. *Nat Rev Microbiol* 2020; 7: 226-36. [CrossRef]
5. Yasui F, Kohara M, Kitabatake M, Nishiwaki T, Fujii H, Tateno C, et al. Phagocytic cells contribute to the antibody-mediated elimination of pulmonary-infected SARS coronavirus. *Virology* 2014; 454:157-68. [CrossRef]
6. Iwasaki A, Yang Y. The potential danger of suboptimal antibody responses in COVID-19. *Nat Rev Immunol* 2020; 20: 339-41. [CrossRef]
7. Zohar T, Alter G. Dissecting antibody-mediated protection against SARS-CoV-2. *Nature Review Immunology* 2020; 20: 393-5. [CrossRef]
8. Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, Wang X, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis* 2020; doi: 10.1093/cid/ciaa344. [CrossRef]
9. Peiris JSM, Chu CM, Cheng VCC, Chan KS, Hung IFN, Poon LLM, et al. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *Lancet* 2003; 361: 1767v72. [CrossRef]
10. Ho M-S, Wei-Ju C, Chen H-Y, Lin S-F, Wang M-C, Di J, et al. Neutralizing antibody response and SARS severity. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1730-7. [CrossRef]
11. Robinson WE Jr, Montefiori DC, Mitchell WM. Antibody-dependent enhancement of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Lancet* 1988; 8589: 790-4. [CrossRef]
12. Takada A, Feldmann H, Ksiazek TG, Kawaoka Y. Antibody-dependent enhancement of Ebola virus infection. *J Virol* 2003; 77: 7539-44. [CrossRef]
13. Wilder-Smith A, Ooi EE, Horstick O, Wills B. Dengue. *Lancet* 2019; 393: 350-63. [CrossRef]
14. Halstead SB, O'Rourke EJ. Dengue viruses and mononuclear phagocytes. I. Infection enhancement by non-neutralizing antibody. *J Exp Med* 1977; 146: 201-17. [CrossRef]
15. Sridhar S, Luedtke A, Langevin E, Zhu M, Bonaparte M, Machabert T, et al. Effect of Dengue Serostatus on Dengue Vaccine Safety and Efficacy. *N Engl J Med* 2018; 379(4): 327-40. [CrossRef]
16. Kliks SC, Nimmanitya S, Nisalak A, Burke DS. Evidence that maternal dengue antibodies are important in the development of dengue hemorrhagic fever in infants. *Am J Trop Med Hyg* 1988; 38: 411-4119. [CrossRef]
17. Weiss RC, Scott FW. Antibody-mediated enhancement of disease in feline infectious peritonitis: comparisons with dengue hemorrhagic fever. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1981; 4: 175-89. [CrossRef]
18. Talbot HK, Shepherd BE, Crowe Jr JE, Griffin MR, Edwards KM, Podsiad AM, et al. The pediatric burden of human coronaviruses evaluated for twenty years. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28(8): 682-7. [CrossRef]

19. Wang S-F, Tseng S-P, Yen C-H, Yang J-Y, Tsao C-H, Shen C-W, et al. Antibody- dependent SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 2014; 451: 208-14. [\[CrossRef\]](#)
20. Jaume M, Yip MS, Cheung CY, Leung HL, Li PH, Kien F, Dutry I, et al. Anti- severe acute respiratory syndrome coronavirus spike antibodies trigger infection of human immune cells via a pH- and cysteine protease- independent FcγR pathway. *J Virol* 2011; 85: 10582-97. [\[CrossRef\]](#)
21. Yip MS, Leung HL, Li PH, Cheung CY, Dutry I, Li D, et al. Antibody-dependent enhancement of SARS coronavirus infection and its role in the pathogenesis of SARS. *Hong Kong Med J* 2016; 22: 25-31.
22. Yasui F, Kai H, Kitabatake M, Inoue S, Yoneda M, Yokochi S, et al. Prior immunization with severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus (SARS- CoV) nucleocapsid protein causes severe pneumonia in mice infected with SARS-CoV. *J Immunol* 2008; 181: 6337-48. [\[CrossRef\]](#)
23. Liu L, Wei Q, Lin Q, Fang J, Wang H, Kwok H, et al. Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. *JCI Insight* 2019; 4(4): e123158. [\[CrossRef\]](#)
24. Wang, Q, Zhang L, Kuwahara K, Li L, Liu Z, Li T, et al. Immunodominant SARS coronavirus epitopes in humans elicited both enhancing and neutralizing effects on infection in non- human primates. *ACS Infect Dis* 2016;2:361-76. [\[CrossRef\]](#)
25. WanY, Shang J, Sun S, Tai W, Chen J, Geng Q, et al. Molecular Mechanism for Antibody-Dependent Enhancement of Coronavirus Entry. *Journal of Virology* 2020; 94: e02015-19. [\[CrossRef\]](#)
26. Bolles M, Deming D, Long K, Agnihothram S, Whitmore A, Ferris M, et al. A double- inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine provides incomplete protection in mice and induces increased eosinophilic proinflammatory pulmonary response upon challenge. *J Virol* 2011; 85: 12201-15. [\[CrossRef\]](#)
27. Graham RL, Becker MM, Eckerle LD, Bolles M, Denison MR, Baric RS. A live, impaired- fidelity coronavirus vaccine protects in an aged, immunocompromised mouse model of lethal disease. *Nat Med* 2012; 18: 1820-6. [\[CrossRef\]](#)
28. Arvin AM, Fink K, Schmid MA, Cathcart A, Spreafico R, Havenar-Daughton C. A perspective on potential antibodydependent enhancement of SARS-CoV-2. *Nature* 2020; doi.org/10.1038/s41586-020-2538-8. [\[CrossRef\]](#)
29. Tan W, Lu Y, Zhang J, Wang J, Dan Y, Tan Z, He X, et al. Viral kinetics and antibody responses in patients with COVID-19. Preprint at medRxiv 2020; <https://doi.org/10.1101/2020.03.24.20042382>. [\[CrossRef\]](#)
30. Jiang H-w, Li Y, Zhang H-n, Wang W, Men D, Yang X, et al. Global profiling of SARS-CoV-2 specific IgG/IgM responses of convalescents using a proteome microarray. Preprint at medRxiv 2020;<https://doi.org/10.1101/2020.03.20.20039495>. [\[CrossRef\]](#)
31. Wu F, Wang A, Liu M, Wang Q, Chen J, Xia S, et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. Preprint at medRxiv 2020; doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365. [\[CrossRef\]](#)
32. Corti D, Misasi J, Mulangu S, Stanley DA, Kanekiyo M, Wollen S, et al. Protective monotherapy against lethal Ebola virus infection by a potently neutralizing antibody. *Science* 2016; 351: 1339-42. [\[CrossRef\]](#)
33. Levine MM. Monoclonal Antibody Therapy for Ebola Virus Disease. *N Engl J Med* 2019; 38: 2365-6. [\[CrossRef\]](#)
34. Traggiai E, Becker S, Subbarao K, Kolesnikova L, Uematsu Y, Gismondo MR, et al. An efficient method to make human monoclonal antibodies from Emory B cells: patent neutralization of SARS coronavirus. *Nat Med* 2004;10: 87-5. [\[CrossRef\]](#)
35. Rockx B, Donaldson E, Frieman M, Sheahan T, Corti D, Lanzavecchia A, et al. Escape from human monoclonal antibody neutralization affects *in vitro* and *in vivo* fitness of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Infect Dis* 2010; 20: 946-55. [\[CrossRef\]](#)
36. Tortorici MA, Walls AC, Lang Y, Wang C, Li Z, Koerhuis D, Veesler D, et al. Structural basis for human coronavirus attachment to sialic acid receptors. *Nat Struct Mol Biol* 2019; 26: 481-9. [\[CrossRef\]](#)
37. ZhouP, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, et. al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020; 579: 270-3. [\[CrossRef\]](#)
38. Meng Y, Nicholas C.W, Xueyong Z, Chang-Chun DL, Ray TYS, Huibin L, Chris KPM, Ian AW. A highly conserved cryptic epitope in the receptor-binding domains of SARS-CoV-2 and SARS-CoV. *Science* 2020; 368: 630-3. [\[CrossRef\]](#)
39. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, et. al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* 2020; 367: 1260-3. [\[CrossRef\]](#)
40. ter Meulen J, van den Brink EN, Poon LLM, Marissen WE, Leung CS, Cox F. Human monoclonal antibody combination against SARS coronavirus: Synergy and coverage of escape mutants. *PLOS Med* 2006; 3: e237. [\[CrossRef\]](#)
41. Ye J, Ma N, Madden TL, Ostell JM. IgBLAST: An immunoglobulin variable domain sequence analysis tool. *Nucleic Acids Res* 2013; 41: 34-40. [\[CrossRef\]](#)
42. Tian X, Li C, Huang A, Xia S, Lu S, Shi Z, Lu L, et al. patent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirusspecific human monoclonal antibody. *Emerg. Microbes Infect* 2020; 9: 382-5. [\[CrossRef\]](#)
43. Watanabe Y, Berndsen ZT, Raghwan J, Seabright GE, Allen JD, McLellan JS, et al. Vulnerabilities in coronavirus glycan shields despite extensive glycosylation. *bioRxiv* 2020. [\[CrossRef\]](#)
44. Pinto D, Park Y-J, Beltramello M, Walls AC, Tortorici MA, et al. Structural and functional analysis of a patent sarbecovirus neutralizing antibody. *bioRxiv* 2020. [\[CrossRef\]](#)
45. Zost SJ, Gilchuk P, Case JB, Binshtein E, Chen RE, Nkolola JP, et al. Potently neutralizing and protective human antibodies against SARS-CoV-2. *Nature* 2020; doi.org/10.1038/s41586-020-2548-6. [\[CrossRef\]](#)
46. Grubaugh ND, Petrone ME, Holmes EC. We shouldn't worry when a virus mutates during disease outbreaks. *Nature* 2020; 5: 529-30. [\[CrossRef\]](#)
47. The Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium. Molecular Evolution of the SARS Coronavirus During the Course of the SARS Epidemic in China. *Science* 2004; 303: 1666-9. [\[CrossRef\]](#)
48. Zhu Y, Liu M, Zhao W, Zhang J, Zhang X, Wang K, et al. Isolation of virus from a SARS patient and genome-wide analysis of genetic mutations related to pathogenesis and epidemiology from 47 SARS-CoV isolates. *Virus Genes* 2005; 30(1): 93-102. [\[CrossRef\]](#)
49. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, et al. Spike mutation pipeline reveals the emergence of a more transmissible form of SARS-CoV-2. *bioRxiv* 2020; doi:10.1101/2020.04.29.069054. [\[CrossRef\]](#)
50. Li Q, Wu J, Nie J, Zhang L, Hao H, Liu S, et al. The impact of mutations in SARS-CoV-2 spike on viral infectivity and antigenicity. *Cell* 2020; doi.org/10.1016/j.cell. [\[CrossRef\]](#)
51. Polack FP. Atypical Measles and Enhanced Respiratory Syncytial Virus Disease (ERD) Made Simple. *Pediatr Res* 2007; 62(1): 111-5. [\[CrossRef\]](#)
52. Sokolowska M, Lukasik Z, Agache I, Akdis CA, Akdis D, Akdis M, et al. Immunology of COVID-19: mechanisms, clinical outcome, diagnostics and perspectives - a report of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI). *Allergy* 2020; doi: 10.1111/all.14462. [\[CrossRef\]](#)