

SARS-CoV-2入胞机制的研究进展

袁小枚^{1*}, 李利峰², 王 嘉^{1#}

¹汕头大学医学院, 广东 汕头

²香港大学医学院, 香港

收稿日期: 2022年12月26日; 录用日期: 2023年2月28日; 发布日期: 2023年3月8日

摘 要

新冠病毒(SARS-CoV-2)大流行对全球的公共卫生及经济造成了前所未有的影响, 有关它的研究也成为了当前科学界最热门的领域之一; 作为病毒感染的首要环节, SARS-CoV-2的入胞机制更成为人们认识病毒行为、研究阻断病毒入侵途径的关注点。本文对SARS-CoV-2进入细胞过程中涉及的蛋白、受体、辅助因子、入胞过程中的S蛋白构象变化、入胞途径等进行了全面综述, 以期展示SARS-CoV-2的入胞条件与动态图谱, 为明晰病毒与细胞的相互作用、研制疫苗或治疗药物奠定基础。

关键词

SARS-CoV-2, S蛋白, 受体, 水解激活, 膜融合, 入胞

Research Progress on the Mechanism of SARS-CoV-2 Entry into Cells

Xiaomei Yuan^{1*}, Lifeng Li², Jia Wang^{1#}

¹Shantou University Medical College, Shantou Guangdong

²Hong Kong University Li Ka Shing Faculty of Medicine, Hong Kong

Received: Dec. 26th, 2022; accepted: Feb. 28th, 2023; published: Mar. 8th, 2023

Abstract

The novel coronavirus pandemic made great impact on both public health and economy, and thus became one of the major hotspots in research. As the primary step of infection, how SARS-CoV-2 viruses enter the host cells is the key to understand the viral behavior and also crucial for block-

*第一作者。

#通讯作者。

ing the virus infection. To illustrate the cell entry process, the proteins, receptors, cofactors, conformational changes of S proteins and pathways involved in the entry process of SARS-CoV-2 into cells were comprehensively reviewed. The perspicuity on cellular entry conditions and viral dynamic change during this process helps to understand the virus-cell interaction and lays foundation for vaccines and therapeutic drugs development.

Keywords

SARS-CoV-2, S Protein, Receptor, Activation by Hydrolysis, Fusion of Membrane, Entry of Cell

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 概述

SARS-CoV-2 引起的 COVID-19 大流行, 至今已感染超过 6 亿人并导致超 660 万人的死亡 (<https://coronavirus.jhu.edu/map.html>)。该病毒一种是具有包膜的单股正链 RNA 病毒[1]; 其基因组编码三类蛋白, 分别是在病毒 RNA 合成中起作用的 pp1a 和 pp1ab; 在病毒的侵入和组装过程中必不可少的结构蛋白, 如刺突蛋白(S), 包膜蛋白(E), 膜蛋白(M)及核衣壳蛋白(N); 和涉及到病毒的致病性及免疫逃逸的另外 9 种附属蛋白[2]。由于 SARS-CoV-2 入胞过程是病毒复制周期中的第一步, 亦是最重要的感染环节, 因此, 入胞过程成为了疫苗及药物设计的靶向之一[3]-[10]。本文主要针对该过程中涉及的病毒 S 蛋白与细胞表面受体的结合、蛋白的变构与活化、病毒膜与细胞膜的融合及内化等过程的研究进展进行综述。

2. S 蛋白的结构与功能

SARS-CoV-2 的 S 蛋白是三聚体跨膜糖蛋白, 每个单体包含两个亚基, 分别为 S1 亚基和 S2 亚基。S1 亚基分 N 末端区域(NTD)和 C 末端区域(CTD), 其中 CTD 包含受体结合域(RBD) [11] (图 1); RBD 可在“上开”与“下合”两种构象中变化, 实现在结合受体和逃逸免疫之间的功能转换[12]。相比 S1 亚基, S2 亚基包含多个功能域, 包括融合肽(FP)、HR1 与 HR2、跨膜域(TM)、以及位于 S2 亚基 C 端细胞质尾部(CT)。S2 亚基被蛋白酶切割后, 由大部分疏水氨基酸组成的 S2 亚基构象改变可暴露出 FP 结构域, 触发 S2 从融膜前状态转换成融膜状态, 在膜融合过程中发挥穿透并锚定在细胞膜上的作用, 继而牵拉病毒膜与细胞膜互相靠近, 实现病毒膜与细胞膜的融合[13]; FP 之后的 HR1 与 HR2 是由 HPPHCPC 组成的两个七肽重复域, 这种氨基酸排列会形成疏水性的二级结构, 并且通过构象的重折叠触发 FP 牵拉病毒膜与细胞膜的融合过程[14] [15]。HR2 之后的跨膜域(TM)主要功能则是将 S 蛋白锚定在病毒膜上[16] [17]。另外, 在 S1/S2 处存在一段多碱性氨基酸序列(即 RRAR), 形成 Furin 酶切位点, 可被 Furin (弗林蛋白酶)裂解形成 S1 亚基和 S2 亚基[18]。

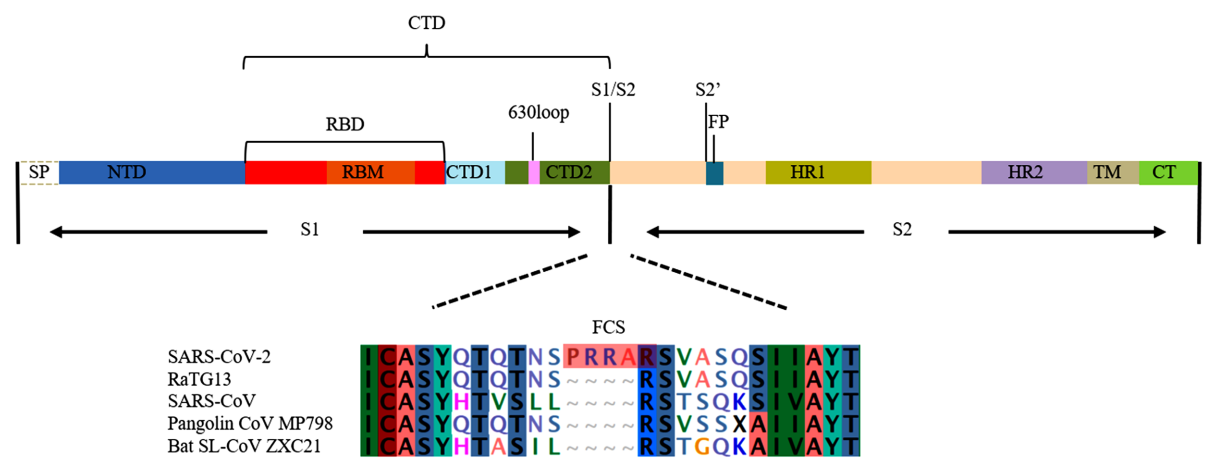
3. S 蛋白的受体

3.1. 主要受体 ACE2 及受体辅助因子

在 COVID-19 爆发的早期, 科学家已研究证实 SARS-CoV-2 与 SARS-CoV 均使用细胞表面的血管紧张转换素酶 2 (ACE2)作为主要受体进入细胞[11] [12]。虽然两者的 RBD 序列仅有 74%的一致性, 但由于某些关键氨基酸的替换, 致使 SARS-CoV-2 S 蛋白与 ACE2 的亲合力相比 SARS-CoV 高 10~20 倍[19],

这一特性使 SARS-CoV-2 可以在人群中进行高效传播。研究显示猴, 兔子, 穿山甲, 蝙蝠, 猫, 狗等动物的 ACE2 也可以与 SARS-CoV-2 的 RBD 结合, 虽然结合效率不尽相同, 但提示着 SARS-CoV-2 也可能是从天然宿主跨物种传播至这些动物中并进行适应后再传播至人的进化过程[20] [21]。

此外, 研究人员发现 NPR(神经纤毛蛋白)和 CD4 等可作为 ACE2 的受体辅助蛋白[22] [23], 通过协助 ACE2 与 S 蛋白的结合, 显著提高 SARS-CoV-2 的感染率。其中 NPR 是一类非酪氨酸激酶跨膜蛋白, NPR1 和 NPR2 能特异识别并结合 Furin 切割 S1/S2 位点后形成的 C 末端 R/K-X-X-R 残基。研究发现, 对 NPR1 活性的抑制可降低 SARS-CoV-2 对 CaCo-2 细胞的感染率[24] [25]。而 CD4 可直接结合 SARS-CoV-2 的 RBD, 协助病毒以依赖于 ACE2/TMPRSS2 通路进入 CD4+T 淋巴细胞(如辅助性 T 细胞)中[26]。因此, NPR 和 CD4 等作为受体辅助因子, 可能在 SARS-CoV-2 对某些低水平表达 ACE2 细胞的感染中发挥补偿作用。



注: SP: 信号肽; NTD: N 末端区域; RBD: 受体结合域; RBM: 受体结合基序 CTD1: C 末端区域 1; CTD2: C 末端区域 2; FP: 融合肽; HR1: 七肽重复域 1; HR2: 七肽重复域 2; TM: 跨膜域; CT: 胞质尾部; S1/S2: S1/S2 切割位点; S2': S2'切割位点; FCS (红色): 弗林酶切割位点; SARS-CoV-2: 新冠病毒; RaTG13: 中华菊头蝠冠状病毒; SARS-CoV: SARS 病毒; Pangolin CoV MP798: 穿山甲冠状病毒; Bat SL-CoV ZXC21: 蝙蝠 SARS 样冠状病毒。

Figure 1. The structure of S protein
图 1. S 蛋白结构域示意图

3.2. 潜在受体

研究表明 SARS-CoV-2 还可以利用细胞表面的其他蛋白作为潜在受体或辅助受体。其中 AXL (酪氨酸蛋白激酶受体)可作为 SARS-CoV-2 进入呼吸系统的潜在受体, 敲除 AXL 后能显著减少 SARS-CoV-2 对人肺细胞的感染[27]; CD147 的人工表达也可实现 SARS-CoV-2 对 BHK21 的有效感染[28]。卢智刚团队从 5046 种人类膜蛋白中筛选出 12 种能与 SARS-CoV-2 的 S 蛋白互作的膜蛋白, 其中的 ASGR1 (去唾液酸糖蛋白受体 1)和 KREMEN1 (含环状结构的跨膜蛋白 1)经实验证实能与 S 蛋白结合并促使病毒感染低水平表达 ACE2 的免疫细胞群[29]。SARS-CoV-2 多受体结合的特征, 提示其具有更大的细胞侵袭性, 与临床上观察到的部分 COVID-19 病人出现系统性多器官感染的症状相符。

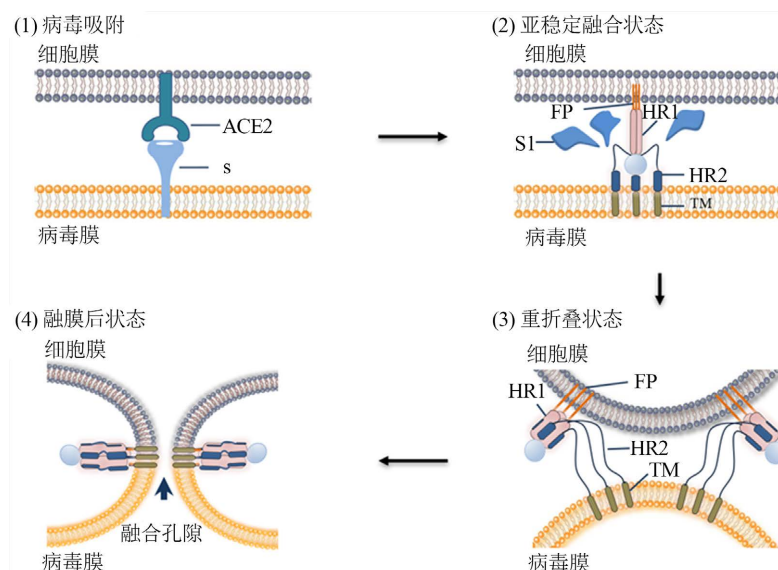
此外, LFA-1 可与 SARS-CoV 的跨膜蛋白 ORF7a 直接结合, 可能是 SARS-CoV 感染白细胞时的黏附因子或受体[30]。最新研究发现, 在感染 Jurkat-ACE2-KO (敲除 ACE2 的人急性淋巴细胞白血病细胞)时, LFA-1 (白细胞相关因子受体 1)可能成为 SARS-CoV-2 主要的受体[31], 提示 SARS-CoV-2 在感染淋巴细胞时可采用不依赖于 ACE2/TMPRSS2 的方式, 但其具体机制如何仍待进一步研究证实。

4. SARS-CoV-2 进入细胞的条件

SARS-CoV-2 入胞过程中 S 蛋白需要进行一系列的构象改变, 为病毒膜与细胞膜相互靠近融合过程提供所需的能量。这种构象的改变靠 S 蛋白与 ACE2 结合后经历的两次蛋白酶的切割来实现。第一次是 Furin 切割 S1/S2 分界处由多碱性氨基酸位点(RRAR)组成的弗林酶切位点(FCS) [18], 第二次是细胞蛋白酶如 TMPRSS2 或 Cathepsin L 裂解 S2 亚基中 FP 前的 S2'位点[32]。除此之外, 研究发现 trypsin (胰酶)、Elastase (弹力蛋白酶)及 Plasmin (血纤维蛋白溶酶)等蛋白酶也能 S 蛋白水解激活的过程中起到一定的作用[33] [34]。不同的蛋白酶将决定病毒入胞的不同途径(详见 6. SARS-CoV-2 进入细胞的途径)。

5. S 蛋白介导膜融合的机制与过程

SARS-CoV-2 的膜融合是在 S 蛋白与受体结合之后, 由 S 蛋白经过高能量构象变化以触发病毒膜与细胞膜进行融合的过程[35]。在 SARS-CoV-2 的 S 蛋白结构研究中, 人们发现了影响膜融合过程的关键元素, 分别是融膜肽末端区域(FPPR), RBD 区域的 630 loop 以及 S1-CTD2 (见图 1), 主要参与调节 S 蛋白融膜肽构象的改变[23]。在 S 蛋白三聚体结构中, FPPR 和 630 loop 维持 RBD 处于非活性的状态。当相邻的 RBD 构象改变, 处于活性状态并与 ACE2 结合时, 将促使 FPPR 和 630 loop 构象也发生改变; 其中 FPPR 构象改变可使 S2'位点得以暴露, 便于蛋白酶识别与切割; 而 630 loop 构象改变后则暴露出 S1-CTD2 疏水区域, 影响 S1 与 S2 亚基的结合, 最终导致 S1 亚基的脱离; 在 S1 亚基脱离后, S2 亚基发生了一系列构象重折叠过程, 促使 S2 亚基构象从亚融合稳定状态过渡到稳定融合状态[36]。S2 亚基的 HR1 构象展开后, 驱动融合肽插入进靶细胞膜中, 随后 HR2 再折叠进行构象改变, 并牵拉的病毒膜与细胞膜拉向同一侧, 这种过程导致相互作用的膜弯曲并逐渐靠近彼此, 最终触发膜融合过程(如图 2); 膜融合过程并非自发进行, 需要消耗高能量去实现膜相互靠近的过程, 所需能量则由一系列的构象改变提供[35]。



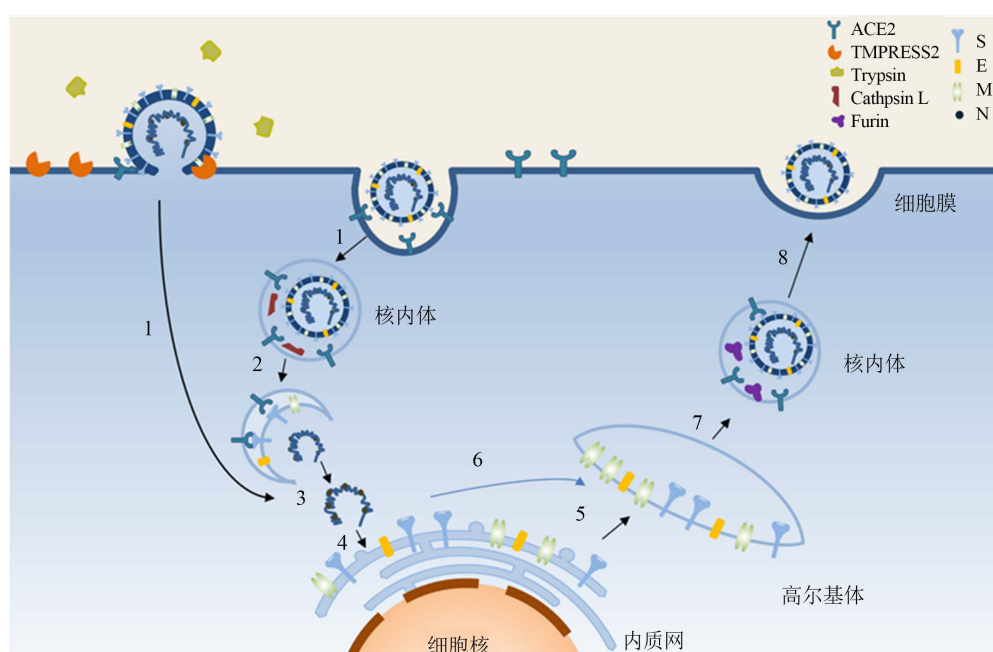
注: ACE2: 血管紧张素转换酶 2; S: 刺突蛋白; S1: S1 亚基; FP: 融合肽; HR1: 七肽重复域 1; HR2: 七肽重复域 2; TM: 跨膜域; (1) 病毒吸附: SARS-CoV-2 S 蛋白识别并结合细胞膜表面的 ACE2 受体; (2) 亚稳定融合状态: S 蛋白经蛋白酶水解切割形成 S1 与 S2 亚基, S2 亚基的 HR1 构象展开, 驱动 FP 嵌入细胞膜中; (3) 重折叠状态: S2 亚基的 HR2 发生折叠构象改变, 牵拉病毒膜与细胞膜相互弯曲靠近; (4) 融膜后状态: 病毒膜与细胞膜融合之后, 实现病毒入胞。

Figure 2. The process of fusion of membrane

图 2. 膜融合过程

6. SARS-CoV-2 进入细胞的途径

目前研究发现 SARS-CoV-2 有两种进入细胞的方式, 而采用哪种入胞方式主要取决于裂解 S2' 位点的蛋白酶[9]。若细胞表面存在 TMPRSS2, 病毒主要通过依赖 Furin/TMPRSS2 调控方式, 实现质膜融合的过程进入细胞(图 3, 1→3 途径) [37]; 但在 TMPRSS2 缺乏的细胞系中, SARS-CoV-2 则依赖于网格蛋白调控内吞方式形成核内体结构, 最终激活 Cathepsin L 识别并裂解 S2' 位点实现核内体膜融和过程(图 3, 1→2→3 途径) [38]。有研究表明, 敲除 Furin 酶切位点的突变株对人肺细胞的感染效率相比野生型毒株降低 10 倍左右; 感染突变株的金黄地鼠, 不仅体重没有明显变化, 还能有效保护金黄地鼠面对野生型毒株致死量的攻击[39] [40] [41]; 在雪貂的传播实验中, 突变株不仅在上呼吸道中不能进行高效复制, 还无法通过空气传播感染相邻的雪貂[42]。综上所述, Furin 酶切位点的存在可增强 S 蛋白的水解激活, 并有利于提高 SARS-CoV-2 的 Furin/TMPRSS2 质膜融合效率, 从而进一步增强了 SARS-CoV-2 的感染性、扩大了其感染向性范围[37] [43]。



注: 1→3: 质膜融合进入通路; 1→2→3: 核内体膜融合进入通路; 4: 蛋白合成; 5: 蛋白加工; 6: RNA 合成; 7: 病毒组装; 8: 病毒释放。

Figure 3. The pathways of SARS-CoV-2 entry cell

图 3. SARS-CoV-2 进入细胞的通路

7. 总结

相比 SARS-CoV, 由于 SARS-CoV-2 的 S 蛋白中有 Furin 酶切位点, 病毒的感染性显著增强。尽管过去两年多的时间, 新冠病毒一直在突变进化, 但该位点却一直保留, 成为病毒维持其流行能力的一大特征。虽然 ACE2 作为 SARS-CoV-2 主要的受体分子, 但在最新的研究中发现, 还有一些细胞蛋白可以作为其的潜在受体或 ACE2 辅助因子, 弥补了在某些低水平表达 ACE2 受体的组织/细胞的感染, 扩大了 SARS-CoV-2 组织向性的范围。此外, SARS-CoV-2 能结合不同种属 ACE2 可为其溯源过程提供一定的参考依据。

SARS-CoV-2 的整个入胞过程是由多种分子共同参与的一个复杂过程, 既包括 Furin/TMPRSS2 途径,

又存在 Cathepsin 旁路。针对这一特性,使用蛋白酶抑制剂的鸡尾酒疗法能取得不错的治疗效果,临床实验表明,同时使用甲磺酸卡莫司他(TMPS2 抑制剂)及 E64d (Cathepsin L 抑制剂)时能完全抑制 SARS-CoV-2 的感染[9] [44]。

本文主要对 SARS-CoV-2 入胞机制的研究进展进行总结,尤其是 S 蛋白的水解激活过程,以及介绍了 SARS-CoV-2 在低水平表达 ACE2 的细胞/组织所结合的潜在受体或受体辅助因子,为全面理解和认识 SARS-CoV-2 的入胞机制提供重要的依据。尽管 SARS-CoV-2 的入胞机制研究已经取得显著的进展,但仍有一些未解的问题,如与 S 蛋白 NTD 结合的 AXL 是如何诱导膜融合过程?在受体结合过程中,需要多少三聚体 S 蛋白与 ACE2 结合后才触发膜融合过程?SARS-CoV-2 感染过程中,不同种属的 ACE2 与三聚体 S 蛋白的结合方式是一致的?待更多未解的问题被研究清楚后才能针对 SARS-CoV-2 的入胞机制研制出广谱的疫苗或抑制剂有效干预 COVID-19 的流行。

基金项目

广东省科技专项资金“基于大数据分析的病原诊断和防治”(2019ST042);广东省科技专项资金“病毒性新发传染病的研究与防治”(210804126870918)。

参考文献

- [1] Wang, C., Horby, P.W., Hayden, F.G., *et al.* (2020) A Novel Coronavirus Outbreak of Global Health Concern. *The Lancet*, **395**, 470-473. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30185-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30185-9)
- [2] Kim, D., Lee, J.Y., Yang, J.S., *et al.* (2020) The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell*, **181**, 914-921.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.011>
- [3] Lv, Z., Deng, Y.Q., Ye, Q., *et al.* (2020) Structural Basis for Neutralization of SARS-CoV-2 and SARS-CoV by a Potent Therapeutic Antibody. *Science*, **369**, 1505-1509. <https://doi.org/10.1126/science.abc5881>
- [4] Wang, X., Cao, R., Zhang, H., *et al.* (2020) The Anti-Influenza Virus Drug, Arbidol Is an Efficient Inhibitor of SARS-CoV-2 *in Vitro*. *Cell Discovery*, **6**, 28. <https://doi.org/10.1038/s41421-020-0169-8>
- [5] De Vries, R.D., Schmitz, K.S., Bovier, F.T., *et al.* (2021) Intranasal Fusion Inhibitory Lipopeptide Prevents Direct-Contact SARS-CoV-2 Transmission in Ferrets. *Science*, **371**, 1379-1382. <https://doi.org/10.1126/science.abf4896>
- [6] Xia, S., Liu, M., Wang, C., *et al.* (2020) Inhibition of SARS-CoV-2 (Previously 2019-nCoV) Infection by a Highly Potent Pan-Coronavirus Fusion Inhibitor Targeting Its Spike Protein That Harbors a High Capacity to Mediate Membrane Fusion. *Cell Research*, **30**, 343-355. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0305-x>
- [7] Ling, R., Dai, Y., Huang, B., *et al.* (2020) *In Silico* Design of Antiviral Peptides Targeting the Spike Protein of SARS-CoV-2. *Peptides*, **130**, Article ID: 170328. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2020.170328>
- [8] Hoffmann, M., Schroeder, S., Kleine-Weber, H., *et al.* (2020) Nafamostat Mesylate Blocks Activation of SARS-CoV-2: New Treatment Option for COVID-19. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **64**, e00754-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.00754-20>
- [9] Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., *et al.* (2020) SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, **181**, 271-280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- [10] Cheng, Y.W., Chao, T.L., Li, C.L., *et al.* (2020) Furin Inhibitors Block SARS-CoV-2 Spike Protein Cleavage to Suppress Virus Production and Cytopathic Effects. *Cell Reports*, **33**, Article ID: 108254. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108254>
- [11] Benton, D.J., Wrobel, A.G., Xu, P., *et al.* (2020) Receptor Binding and Priming of the Spike Protein of SARS-CoV-2 for Membrane Fusion. *Nature*, **588**, 327-330. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2772-0>
- [12] Walls, A.C., Park, Y.J., Tortorici, M.A., *et al.* (2020) Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, **181**, 281-292 e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>
- [13] Xu, X., Li, G., Sun, B., *et al.* (2022) S2 Subunit of SARS-CoV-2 Spike Protein Induces Domain Fusion in Natural Pulmonary Surfactant Monolayers. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, **13**, 8359-8364. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcl.2c01998>
- [14] Chambers, P., Pringle, C.R. and Easton, A.J. (1990) Heptad Repeat Sequences Are Located Adjacent to Hydrophobic

- Regions in Several Types of Virus Fusion Glycoproteins. *Journal of General Virology*, **71**, 3075-3080. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-71-12-3075>
- [15] Kumar, S., Maurya, V.K., Prasad, A.K., *et al.* (2020) Structural, Glycosylation and Antigenic Variation between 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) and SARS Coronavirus (SARS-CoV). *VirusDisease*, **31**, 13-21. <https://doi.org/10.1007/s13337-020-00571-5>
- [16] Tang, T., Bidon, M., Jaimes, J.A., *et al.* (2020) Coronavirus Membrane Fusion Mechanism Offers a Potential Target for Antiviral Development. *Antiviral Research*, **178**, Article ID: 104792. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104792>
- [17] Xia, X. (2021) Domains and Functions of Spike Protein in Sars-Cov-2 in the Context of Vaccine Design. *Viruses*, **13**, 109. <https://doi.org/10.3390/v13010109>
- [18] Coutard, B., Valle, C., De Lamballerie, X., *et al.* (2020) The Spike Glycoprotein of the New Coronavirus 2019-nCoV Contains a Furin-Like Cleavage Site Absent in CoV of the Same Clade. *Antiviral Research*, **176**, Article ID: 104742. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104742>
- [19] Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., *et al.* (2020) Structural Basis for the Recognition of SARS-CoV-2 by Full-Length Human ACE2. *Science*, **367**, 1444-1448. <https://doi.org/10.1126/science.abb2762>
- [20] Wu, L., Chen, Q., Liu, K., *et al.* (2020) Broad Host Range of SARS-CoV-2 and the Molecular Basis for SARS-CoV-2 Binding to Cat ACE2. *Cell Discovery*, **6**, 68. <https://doi.org/10.1038/s41421-020-00210-9>
- [21] Liu, K., Tan, S., Niu, S., *et al.* (2021) Cross-Species Recognition of SARS-CoV-2 to Bat ACE2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **118**, e2020216118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2020216118>
- [22] Peng, R., Wu, L.A., Wang, Q., *et al.* (2021) Cell Entry by SARS-CoV-2. *Trends in Biochemical Sciences*, **46**, 848-860. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2021.06.001>
- [23] Jackson, C.B., Farzan, M., Chen, B., *et al.* (2022) Mechanisms of SARS-CoV-2 Entry into Cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **23**, 3-20. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00418-x>
- [24] Daly, J.L., Simonetti, B., Klein, K., *et al.* (2020) Neuropilin-1 Is a Host Factor for SARS-CoV-2 Infection. *Science*, **370**, 861-865. <https://doi.org/10.1126/science.abd3072>
- [25] Cantuti-Castelvetri, L., Ojha, R., Pedro, L.D., *et al.* (2020) Neuropilin-1 Facilitates SARS-CoV-2 Cell Entry and Infectivity. *Science*, **370**, 856-860. <https://doi.org/10.1126/science.abd2985>
- [26] Davanzo, G.G., Codo, A.C., Brunetti, N.S., *et al.* (2020) SARS-CoV-2 Uses CD4 to Infect T Helper Lymphocytes.
- [27] Wang, S., Qiu, Z., Hou, Y., *et al.* (2021) AXL Is a Candidate Receptor for SARS-CoV-2 That Promotes Infection of Pulmonary and Bronchial Epithelial Cells. *Cell Research*, **31**, 126-140. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-00460-y>
- [28] Wang, K., Chen, W., Zhang, Z., *et al.* (2020) CD147-Spike Protein Is a Novel Route for SARS-CoV-2 Infection to Host Cells. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **5**, 283. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00426-x>
- [29] Gu, Y., Cao, J., Zhang, X., *et al.* (2022) Receptome Profiling Identifies KREMEN1 and ASGR1 as Alternative Functional Receptors of SARS-CoV-2. *Cell Research*, **32**, 24-37. <https://doi.org/10.1038/s41422-021-00595-6>
- [30] Hänel, K. and Willbold, D. (2007) SARS-CoV Accessory Protein 7a Directly Interacts with Human LFA-1. *Biological Chemistry*, **388**, 1325-1332. <https://doi.org/10.1515/BC.2007.157>
- [31] Shen, X.R., Geng, R., Li, Q., *et al.* (2022) ACE2-Independent Infection of T Lymphocytes by SARS-CoV-2. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **7**, 83. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00919-x>
- [32] Matsuyama, S. and Taguchi, F. (2009) Two-Step Conformational Changes in a Coronavirus Envelope Glycoprotein Mediated by Receptor Binding and Proteolysis. *Journal of Virology*, **83**, 11133-11141. <https://doi.org/10.1128/JVI.00959-09>
- [33] Kim, Y., Jang, G., Lee, D., *et al.* (2022) Trypsin Enhances SARS-CoV-2 Infection by Facilitating Viral Entry. *Archives of Virology*, **167**, 441-458. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05343-0>
- [34] Ji, H.L., Zhao, R., Matalon, S., *et al.* (2020) Elevated Plasmin(ogen) as a Common Risk Factor for COVID-19 Susceptibility. *Physiological Reviews*, **100**, 1065-1075. <https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2020>
- [35] Cohen, F.S. and Melikyan, G.B. (2004) The Energetics of Membrane Fusion from Binding, through Hemifusion, Pore Formation, and Pore Enlargement. *The Journal of Membrane Biology*, **199**, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s00232-004-0669-8>
- [36] Zhang, J., Cai, Y., Xiao, T., *et al.* (2021) Structural Impact on SARS-CoV-2 Spike Protein by D614G Substitution. *Science*, **372**, 525-530. <https://doi.org/10.1126/science.abf2303>
- [37] Bestle, D., Heindl, M.R., Limburg, H., *et al.* (2020) TMPRSS2 and Furin Are both Essential for Proteolytic Activation of SARS-CoV-2 in Human Airway Cells. *Life Science Alliance*, **3**, e202000786.

- <https://doi.org/10.1101/2020.04.15.042085>
- [38] Koch, J., Uckelely, Z.M., Doldan, P., *et al.* (2021) TMPRSS2 Expression Dictates the Entry Route Used by SARS-CoV-2 to Infect Host Cells. *The EMBO Journal*, **40**, e107821. <https://doi.org/10.15252/embj.2021107821>
- [39] Wang, P., Lau, S.Y., Deng, S., *et al.* (2021) Characterization of an Attenuated SARS-CoV-2 Variant with a Deletion at the S1/S2 Junction of the Spike Protein. *Nature Communications*, **12**, 2790. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23166-0>
- [40] Johnson, B.A., Xie, X., Bailey, A.L., *et al.* (2021) Loss of Furin Cleavage Site Attenuates SARS-CoV-2 Pathogenesis. *Nature*, **591**, 293-299. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03237-4>
- [41] Sasaki, M., Toba, S., Itakura, Y., *et al.* (2021) SARS-CoV-2 Bearing a Mutation at the S1/S2 Cleavage Site Exhibits Attenuated Virulence and Confers Protective Immunity. *mBio*, **12**, e0141521. <https://doi.org/10.1128/mBio.01415-21>
- [42] Peacock, T.P., Goldhill, D.H., Zhou, J., *et al.* (2021) The Furin Cleavage Site in the SARS-CoV-2 Spike Protein Is Required for Transmission in Ferrets. *Nature Microbiology*, **6**, 899-909. <https://doi.org/10.1038/s41564-021-00908-w>
- [43] Sasaki, M., Uemura, K., Sato, A., *et al.* (2021) SARS-CoV-2 Variants with Mutations at the S1/S2 Cleavage Site Are Generated *in Vitro* during Propagation in TMPRSS2-Deficient Cells. *PLOS Pathogens*, **17**, e1009233. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009233>
- [44] Liu, T., Luo, S., Libby, P., *et al.* (2020) Cathepsin L-Selective Inhibitors: A Potentially Promising Treatment for COVID-19 Patients. *Pharmacology & Therapeutics*, **213**, Article ID: 107587. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107587>