

· 基础研究破解新型冠状病毒谜题 ·

新冠病毒鼠适应株及其感染模型研究进展与展望

陈奇 周超 秦成峰*

军事科学院军事医学研究院微生物流行病学研究所/病原微生物生物安全国家重点实验室,北京 100071

[摘要] 新型冠状病毒(以下简称“新冠病毒”)肺炎疫情(以下简称“疫情”)暴发以来在全球范围内持续传播,截至目前全球已经有超过4.5亿人感染,并已造成超过600万人死亡。小动物感染模型是疫苗、药物研发及致病机制研究不可或缺的工具。然而,疫情早期的新冠病毒分离株无法感染标准实验小鼠,因而无法直接利用新冠病毒自然分离株建立基于标准实验小鼠的感染模型。为突破这一瓶颈,我们采用在小鼠体内强制连续传代的策略对新冠病毒进行适应驯化,最终获得了对标准实验小鼠具有不同感染和致病能力的鼠适应株,并以此系统性地建立了可模拟新冠肺炎轻度至重度症状的小鼠感染模型。我们通过深度测序、亲和能力及蛋白晶体结构解析等方法进一步探究了新冠病毒鼠适应分子机制。新冠病毒鼠适应株及感染模型的建立有效助力了多种新冠疫苗、药物的研发及新冠病毒致病机制研究,为新冠疫情防控做出了重要贡献。本文从新冠病毒适应株的驯化、鼠适应性的结构与生物学基础、感染模型的建立及应用等方面系统回顾研究成果并对新冠病毒鼠适应株相关研究进展作一简要综述。

[关键词] 新冠病毒;小鼠;适应株;感染模型;氨基酸突变位点

1 建立新冠病毒小鼠感染模型的挑战及供需矛盾

新型冠状病毒(以下简称“新冠病毒”)是冠状病毒科 β 病毒属成员,为单股正链有囊膜病毒。由该病原引起的新冠肺炎疫情于2019年底暴发并迅速传遍全球,于2020年1月30日被世界卫生组织定义为国际突发公共卫生事件。截至2022年3月11日,全球已累计感染4.52亿人,死亡人数超过600万。研究发现该病毒主要通过飞沫、气溶胶、接触等方式经呼吸道传播,其可通过病毒表面刺突蛋白上的受体结合区(Receptor Binding Domain, RBD)与人细胞表面的血管紧张素转化酶II(ACE2)这一受体结合,从而介导病毒进入细胞起始感染。但几乎同时,人们发现该病毒不能有效感染鼠源细胞及标准实验小鼠,这主要是因为新冠病毒与鼠ACE2亲和能力较弱,无法有效介导病毒进入细胞^[1]。也因此,研究人员无法直接利用标准实验小鼠



秦成峰 军事科学院军事医学研究院研究员,国家杰出青年科学基金获得者。主要从事新发病毒的致病机制与疫苗研究,以通讯作者(含共同通讯)在 *Science*、*Cell* 和 *Nature* 等期刊发表论文150余篇,累计被引超过12000次,2020年起连续多年入选科睿唯安“全球高被引科学家”和爱思唯尔“中国高被引科学家”。曾获中国青年科技奖、求是杰出青年奖(实用工程奖)、谈家桢生命科学创新奖和药明康德生命化学杰出成就奖,领衔获北京市自然科学一等奖和军队科技进步一等奖各1项,获批临床试验批件和军特药批件多项。



陈奇 军事科学院军事医学研究院助理研究员。主要从事黄病毒、冠状病毒等病原生物学研究及溶瘤病毒开发工作。以第一或共同第一作者在 *Science*、*Cell Host & Microbes*、*National Science Review*、*Nature Communications* 等杂志发表论文10余篇。

建立新冠病毒感染小鼠模型。小鼠感染模型是疫苗药物研发过程中临床前体内有效性评价及病毒致病

收稿日期:2022-03-15;修回日期:2022-04-07

* 通信作者,Email:chengfeng_qin@126.com

本文受到国家自然科学基金项目(32130005,81925025)的资助。

机制研究最为常用模型之一,因而缺乏小鼠感染模型一度成为制约新冠科研攻关的重要瓶颈。为突破此瓶颈,包括我们实验室在内的多家科研单位首先从小鼠着手,通过基因编辑技术构建人 ACE2 转基因小鼠,并以此为基础成功建立了转基因小鼠感染模型^[2-3]。该类模型在一定程度上缓解了当时无新冠病毒感染小鼠模型的困境。但是,转基因小鼠的培育及繁殖周期较长且价格相对昂贵,而在疫情初期新冠科研攻关任务又空前增加,因此在该类模型问世后的很长一段时间内,新冠病毒感染小鼠模型依然不能满足相关需求。

2 新冠病毒鼠适应株感染动物模型的建立

为解决缺乏适宜的新冠病毒感染小鼠模型这一问题,我们进一步从病毒角度着手,尝试利用新冠病毒在小鼠体内强制连续传代适应的方法,以期能够获得有效感染标准实验小鼠的新冠病毒适应株,并

以此在标准实验小鼠上建立感染模型^[4]。如图 1 所示,我们首先选择高滴度原始新冠病毒株 IME-BJ05 对老龄雌性 BALB/c 小鼠进行滴鼻感染,在感染后第三天解剖小鼠取肺组织制备成组织研磨液,并以此研磨液作为毒种对下小鼠进行下一轮滴鼻感染,以此方式连续传代。对每代被感染小鼠肺组织研磨液进行病毒载量检测发现,当初次用大剂量病毒感染小鼠后,鼠肺组织中病毒载量较低,但将其肺组织研磨液继续滴鼻感染下一轮小鼠时,肺组织病毒载量快速持续上升,至第四代即达到高峰并保持稳定。以第六代肺组织研磨液作为毒种滴鼻感染标准实验小鼠 BALB/c 可观察到病毒可在以气管和肺为代表的多组织中(心、肝、脾、脑)高效复制并引起间质性肺炎等病理损伤。以上研究表明,第六代肺组织研磨液中新冠病毒已经获得较好的鼠适应性,且可在标准实验小鼠上成功建立感染模型,我们将此代肺组织研磨液所制备毒种命名为 MASCp6。

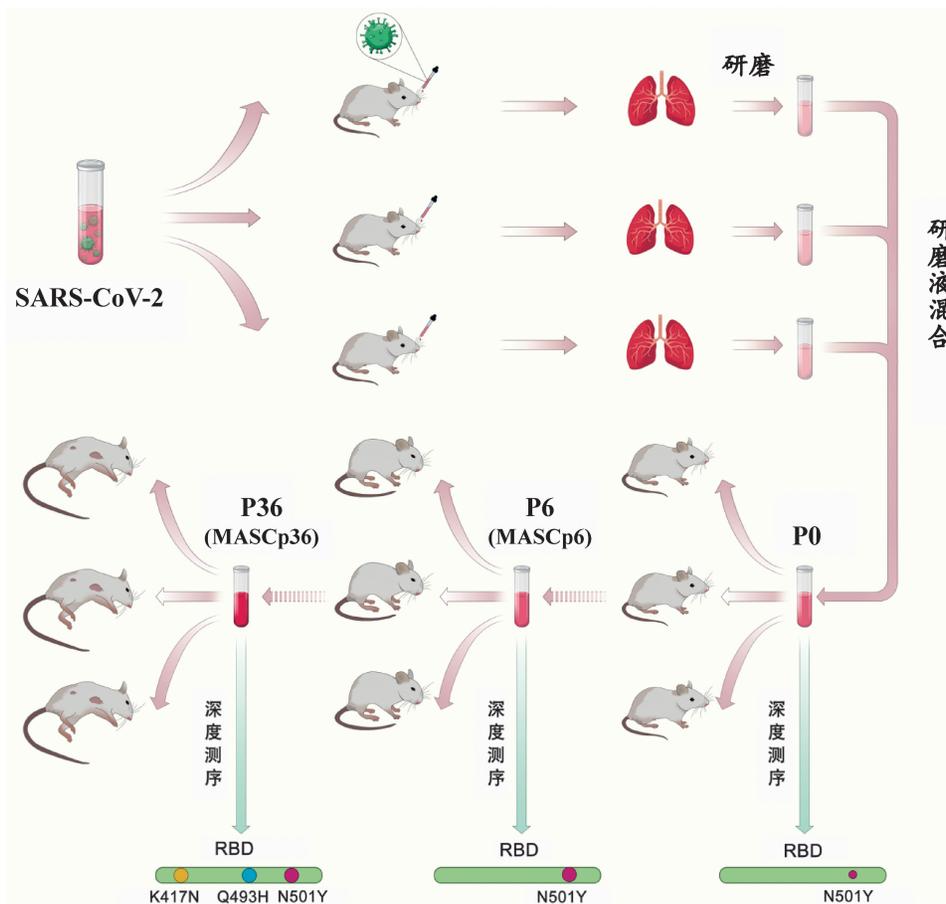


图 1 新冠病毒鼠适应株的建立及关键适应性突变位点鉴定^[2,3]

MASCP6 感染虽然可以诱导小鼠肺炎发生但其引起的临床症状及病理反应可自行恢复且不致死。因此,以 MASCP6 建立的小鼠感染模型尚未能模拟新冠肺炎重症特征。为此,我们在 MASCP6 基础上按照上述方法进一步传代适应,并在传代至 36 代时发现小鼠表现出更加显著的症状,包括呼吸急促,体重迅速下降等^[5]。以 36 代肺组织研磨液作为毒种(命名为 MASCP36)对老龄 BALB/c 小鼠进行滴鼻攻毒时发现可以 100%致死。进一步病理检查显示,MASCP36 感染后能够诱发坏死性肺炎与广泛弥散性肺泡损伤,且肺病理切片中能观察到上皮细胞脱落、多核细胞、透明膜及包涵体等典型病变,甚至包括肺动脉壁中胶原蛋白的沉积、肺泡壁增厚等病症导致纤维化,以上病理变化与临床尸检病理相似性较高。此外,进一步研究发现,MASCP36 对雌性老龄小鼠致死剂量显著高于雄性老龄小鼠,且对雌、雄年轻小鼠(8 周龄)均不致死,MASCP36 对雄性、老龄小鼠感染致病能力更强这一特征与临床流行病学调查所发现的老龄与男性人群新冠病毒感染率与重症率要高于年轻或女性群体非常一致。以上结果表明,我们通过进一步的传代适应,获得一株对小鼠致病作用更强的新冠病毒鼠适应株,且以此成功建立了与新冠肺炎临床特征更加一致的新冠重症小鼠模型。

3 新冠病毒鼠适应性的结构与生物学基础

为探究新冠病毒鼠适应性的分子机制,我们首先对各代病毒进行了深度测序。结果发现与原始毒株相比,第一代肺组织研磨液中新冠病毒刺突蛋白(Spike Protein,S 蛋白)基因的 RBD 就已经出现了 A23063T(N501Y)突变,虽然此时该位点突变比例仅约 10%,但其在随后几代快速持续上升,并在第五代达到绝对优势并保持稳定。结构模拟发现,RBD 上的 N501Y 位点突变可有效提高其与鼠 ACE2 的亲合能力,提示该位点可能在鼠适应过程中发挥关键作用。之后,在第 25 代和 36 代时 RBD 上分别又出现了 Q493H 和 K417N 突变。进一步亲和力分析显示,原始病毒的 RBD 与鼠 ACE2 亲和力极弱($K_D > 1 \text{ mM}$),而获得了 N501Y 位点突变的 MASCP6 的 RBD 与鼠源 ACE2 亲和力得到显著提升($K_D = 353.4 \mu\text{M}$),且与 N501Y 单点突变的 RBD 相比, N501Y/Q493H 双突变及 N501Y/Q493H/K417N

三突变的 RBD 与鼠源 ACE2 的亲和力得到了约 30 和 180 倍的提升。通过冷冻电镜解析鼠适应株 RBD 与鼠 ACE2 复合物高分辨结构发现,MASCP36 的 RBD 与鼠源 ACE2 可形成稳定结合的致密结构,其中 N501Y 突变可与鼠 ACE2 的 H352/Y41 位点形成疏水区域,Q493H 与鼠 ACE2 的 N31/E35 形成疏水的盐桥及氢键结合,K417N 突变可与鼠 ACE2 的 N30/Q34 形成新的氢键结合,这三个位点共同作用使其与鼠 ACE2 亲和力大为增强。以上研究结果表明,新冠病毒鼠适应性的生物学基础主要在于 RBD 上关键氨基酸位点突变使其与相应受体亲和能力得到加强,从而更有效介导病毒进入宿主细胞。

4 新冠病毒鼠适应株模型助力疫苗与药物研发

如上所述,在新冠疫情暴发之后很长一段时间内,我国新冠病毒小鼠感染模型供需矛盾依然突出。基于本研究快速建立的鼠适应株感染小鼠模型因其特有优势被广泛用于疫苗及药物评价,及时有效缓解了以上突出问题。首先,新冠病毒鼠适应株毒种易于快速大量制备,最短可在六天内制备出足量毒种并滴定出其滴度,有效弥补了转基因小鼠繁殖期长,扩大种群速度慢的不足。另外,在疫情初期人 ACE2 转基因小鼠每只可达数万元,即便现在价格依然稳定在数千元。而鼠适应株感染模型是基于标准实验小鼠建立而成,价格不超过转基因小鼠模型的十分之一。因此,利用该模型可为相关研究有效节省成本,可及性更高。除此之外,我们利用不同鼠适应株及不同年龄、性别小鼠系统性的建立了由轻症到重症且病理反应与临床表现一致性更高的小鼠感染模型评价体系,为相关疫苗及药物评价提供了更多且更加适宜的选择。基于以上模型,我们成功完成了超过一百种疫苗或药物候选的临床前动物体内有效性评价。其中我国第一个获批 I 期临床试验的新冠 mRNA 疫苗^[6],人源化抗体 HB27^[7],全人源抗体 CA521^{FALA}^[8]、HLX70^[9]等均基于以上模型评价结果顺利进入临床试验。总之,我们基于鼠适应株所建立的小鼠感染模型在疫苗及药物评价方面具备多重优势且已得到长期实践检验并为国家权威部门认可,有效助力了我国疫苗及药物快速研发并将继续发挥重要作用。

5 新冠病毒鼠适应株模型推动致病机制研究

新冠患者临床症状及感染后果存在显著差异,从无症状感染到发热、疲劳、干咳等轻微症状,再到呼吸不畅、肺炎、急性肺损伤,乃至发生呼吸窘迫综合征,甚至死亡不等^[10-13]。而且疾病严重程度表现出与年龄、性别以及糖尿病等基础病紧密相关的流行病学特征^[14-16]。因此,建立临床表现严重程度不同且可体现流行病学特征的小动物模型对于新冠病毒致病机制研究至关重要。如前所述,我们利用 MASCp6 和 MASCp36 感染不同年龄、性别小鼠系统性的建立了由轻症到重症表现的小鼠感染模型平台,且基于 MASCp36 建立的小鼠感染模型明确体现出了年龄、性别相关的流行病学特征,以及肺组织纤维化、血糖异常升高等与临床表现较为一致的特殊病理反应,而这也是目前报道的唯一可诱导肺纤维化或血糖异常升高的小鼠模型^[5,17]。事实上,正是基于此模型我们已经初步解析出了新冠病毒感染引起血糖异常升高机制所在^[17]。因此,我们通过鼠适应株所建立的小鼠感染模型不仅为新冠疫苗及药物的评价提供了重要工具,还为新冠病毒致病机制提供了更加适宜的系统性研究平台,有力推动了新冠病毒致病机制研究。

6 未来机遇与挑战

在我们率先获得鼠适应株之后,国内外其他多个实验室也相继获得了鼠适应株并以此建立了小鼠感染模型。在策略上主要分为三类,一类是根据前期预测的可能增强 RBD 与鼠 ACE2 结合能力的氨基酸位点突变,直接通过反向遗传学技术构建相应位点突变病毒,之后再利用小鼠进行感染验证^[18];二是以上述反向遗传学技术构建的突变株在小鼠体内进一步传代适应,以获得对小鼠适应性及致病作用更强的适应株^[19,20];三是如本研究所采用的方法,即直接用大剂量新冠病毒在小鼠体内强制传代适应^[21-24]。其中,以第三类策略居多。虽然不同研究团队在传代适应时所选用的病毒分离株、小鼠品系、小鼠年龄有所不同,但是在结果上各团队基于各自的体系通过不同代次传代均获得了可有效感染小鼠的鼠适应株。此外,对鼠适应性分子机制研究表明,鼠适应株 RBD 上氨基酸位点突变是决定鼠适应性的关键因素。图 2 展示了所有新冠病毒鼠适应株

S 蛋白上氨基酸位点突变^[2,3,18-24],综合分析发现不同研究团队独立获得的新冠病毒鼠适应株 RBD 上的氨基酸位点突变存在较高的一致性,例如所有 7 个直接在小鼠体内传代获得的鼠适应株的 RBD 上,5 个均出现了 Q498H 氨基酸位点突变,且被证明在鼠适应性中发挥关键作用。这表明通过体内传代适应建立新冠病毒鼠适应株是一种具有一定进化趋势的可靠方法,该方法可为其他缺乏有效感染模型的新发病毒的模型建立提供一定的借鉴。进一步综合对比鼠适应株与主要变异株 S 蛋白氨基酸序列发现两者氨基酸位点突变存在较高一致性,尤其是在 RBD 区。如 Alpha 突变株 RBD 上的突变(N501Y)与鼠适应株 MASCp6 完全一致,Beta 突变株与 MASCp36 适应株 RBD 上三个氨基酸位点突变中两个完全一致(K417N/501Y),甚至所有鼠适应株 S 基因上发现的 6 个氨基酸突变位点均出现在了新冠病毒变异株 Omicron 上相应位置,其中 3 个突变完全一致(图 2)。我们也因此进一步提出了新冠病毒在人群与小鼠体内可能存在趋同进化这一理论猜想^[25]。因此,利用新冠病毒在小鼠体内传代适应,有可能被发展为新冠病毒加速进化研究平台,通过实验室加速进化提前发现关键进化位点,为未来新冠病毒在人群中可能进化出的突变位点进行超前发现,从而提前对相关位点是否会使毒力、传播能力增强或加剧免疫逃逸等进行评估,使疫情防控及疫苗或抗体研发变被动为主动。而反向思考,当新的新冠病毒变异株出现时,可以根据其 RBD 上是否含有与鼠适应株一致性突变,而对该突变株跨种感染小鼠的能力及风险进行初步预判。事实上,我们正是基于 Beta 变异株与 MASCp36 鼠适应株 RBD 上存在 N501Y/K417N 一致性突变这一发现,首次确证并报道了 Beta 变异株已经在自然进化过程中获得了跨种感染小鼠的能力及跨种传播风险,为疫情防控提出了新的预警^[26]。综上,新冠病毒鼠适应株及相应感染模型体系未来不仅能够对疫苗、药物评价及致病机制研究中发挥更加重要的作用,而且在新冠病毒适应进化预测及跨种感染传播风险预警方面具备较大潜力。

新冠病毒鼠适应株虽然具有上述诸多优势及重要作用,但同时也存在一些亟待回答的问题或不足。首先是新冠病毒快速鼠适应机制依然没有明确。多个研究结果显示,新冠病毒甚至在小鼠体内经过一代适应就可发生关键适应性氨基酸位点突变,并可使

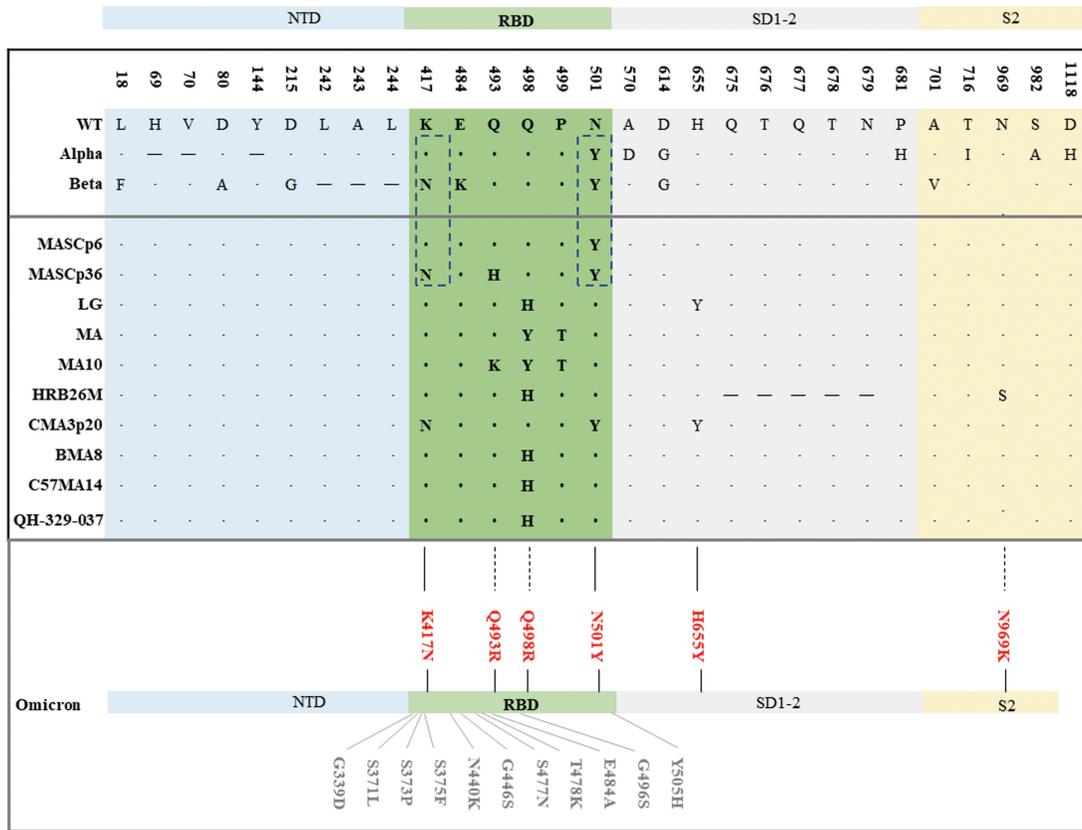


图 2 鼠适应株 S 基因氨基酸位点突变及其与变异株一致性分析^[2,3,18-24]

RBD 构象发生改变从而显著增加与鼠 ACE2 受体的亲和能力。为何新冠病毒能够如此之快的适应进化以及这一快速进化特征是否会使得新冠病毒在自然进化过程中具有不断扩大宿主范围的风险,值得深入研究。其次,鼠适应株致病机制依然有待进一步探究。虽然在上述各研究中,研究人员通过深度测序、结构解析等手段对 RBD 上关键鼠适应突变位点进行了鉴定,但是综合以上研究结果可以发现,RBD 上氨基酸位点突变并不能完全决定适应株的致病作用,如 RBD 上均出现 Q498H 突变的鼠适应株对小鼠致病作用存在显著差异^[21-24]。此外,新冠病毒鼠适应进化规律及相关影响因素依然模糊。如上所述,不同鼠适应株之间关键鼠适应性突变位点具有一定的一致性,但也存在差异。高玉伟等用同一新冠病毒分离株在不同小鼠品系(BALB/c 和 C57BL/6N)传代获得了两株在 RBD 上突变一致,但在 E、NSP5 及 NSP9 基因上又存在突变差异的鼠适应株;而 Naoko Iwata-Yoshikawa 等用两株不同新冠病毒分离株在同一种小鼠上进行传代时发现只有其中一株传代适应成功^[22]。以上研究提示新冠病毒鼠适应进化可能受原始病毒毒株、小鼠品

系等多重因素影响,但是目前新冠病毒鼠适应株报道有限,且建立体系差异因素较多,因此尚无法具体总结出适应进化规律或影响因素及其作用。最后,鼠适应株感染模型在模拟新冠患者临床病理损伤特征方面仍有提升空间。例如,部分新冠患者临床上出现肺纤维化等病理反应特征,而在鼠适应株感染小鼠模型中仅 MASCp36 能够诱导这一病理反应,其他鼠适应株感染模型均未见此报道。虽然新冠病毒感染小鼠模型表现出常见肺炎病理反应已经能够满足疫苗药物等评价需求,但是在满足一些特定靶点或作用机制药物的评价(如肺纤维化的治疗药物)及特定病理损伤机制研究的需求方面仍须进一步完善。

参 考 文 献

- [1] Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 2020, 579(7798): 270-273.
- [2] Sun SH, Chen Q, Gu HJ, et al. A mouse model of SARS-CoV-2 infection and pathogenesis. *Cell Host & Microbe*, 2020, 28(1): 124-133. e4.

- [3] Bao LL, Deng W, Huang BY, et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice. *Nature*, 2020, 583(7818): 830—833.
- [4] Gu HJ, Chen Q, Yang G, et al. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. *Science*, 2020, 369(6511): 1603—1607.
- [5] Sun SH, Gu HJ, Cao L, et al. Characterization and structural basis of a lethal mouse-adapted SARS-CoV-2. *Nature Communications*, 2021, 12: 5654.
- [6] Zhang NN, Li XF, Deng YQ, et al. A thermostable mRNA vaccine against COVID-19. *Cell*, 2020, 182(5): 1271—1283. e16.
- [7] Zhu L, Deng YQ, Zhang RR, et al. Double lock of a potent human therapeutic monoclonal antibody against SARS-CoV-2. *National Science Review*, 2020, 8(3): nwa297.
- [8] Song DY, Wang WB, Dong CC, et al. Structure and function analysis of a potent human neutralizing antibody CA521FALA against SARS-CoV-2. *Communications Biology*, 2021, 4: 500.
- [9] Liu JL, Chen Q, Yang SM, et al. hACE2 Fc-neutralization antibody cocktail provides synergistic protection against SARS-CoV-2 and its spike RBD variants. *Cell Discovery*, 2021, 7: 54.
- [10] Hu B, Guo H, Zhou P, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(3): 141—154.
- [11] Dini G, Montecucco A, Rahmani A, et al. Clinical and epidemiological characteristics of COVID-19 during the early phase of the SARS-CoV-2 pandemic: a cross-sectional study among medical school physicians and residents employed in a regional reference teaching hospital in Northern Italy. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 2021, 34(2): 189—201.
- [12] Alsharrah D, Alhaddad F, Alyaseen M, et al. Clinical characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Kuwait. *Journal of Medical Virology*, 2021, 93(5): 3246—3250.
- [13] Tabata S, Imai K, Kawano S, et al. Clinical characteristics of COVID-19 in 104 people with SARS-CoV-2 infection on the Diamond Princess cruise ship: a retrospective analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 2020, 20(9): 1043—1050.
- [14] Ullgren H, Camuto A, Rosas S, et al. Clinical characteristics and factors associated with COVID-19-related death and morbidity among hospitalized patients with cancer: a Swedish cohort study. *Acta Oncologica (Stockholm, Sweden)*, 2021, 60(11): 1459—1465.
- [15] Rastad H, Ejtahed HS, Shafiee G, et al. The risk factors associated with COVID-19-Related death among patients with end-stage renal disease. *BMC Nephrology*, 2021, 22(1): 33.
- [16] Montefusco L, Ben Nasr M, D'Addio F, et al. Acute and long-term disruption of glycometabolic control after SARS-CoV-2 infection. *Nature Metabolism*, 2021, 3(6): 774—785.
- [17] Wan LM, Gao Q, Deng YQ, et al. GP73 is a glucogenic hormone contributing to SARS-CoV-2-induced hyperglycemia. *Nature Metabolism*, 2022, 4(1): 29—43.
- [18] Dinnon KH, Leist SR, Schäfer A, et al. A mouse-adapted model of SARS-CoV-2 to test COVID-19 countermeasures. *Nature*, 2020, 586(7830): 560—566.
- [19] Leist SR, Dinnon KH 3rd, Schäfer A, et al. A mouse-adapted SARS-CoV-2 induces acute lung injury and mortality in standard laboratory mice. *Cell*, 2020, 183(4): 1070—1085. e12.
- [20] Muruato A, Vu MN, Johnson BA, et al. Mouse-adapted SARS-CoV-2 protects animals from lethal SARS-CoV challenge. *PLoS Biology*, 2021, 19(11): e3001284.
- [21] Yan FH, Li ET, Wang TC, et al. Characterization of two heterogeneous lethal mouse-adapted SARS-CoV-2 variants recapitulating representative aspects of human COVID-19. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 821664.
- [22] Iwata-Yoshikawa N, Shiwa N, Sekizuka T, et al. A lethal mouse model for evaluating vaccine-associated enhanced respiratory disease during SARS-CoV-2 infection. *Science Advances*, 2022, 8(1): eabh3827.
- [23] Zhang YF, Huang K, Wang T, et al. SARS-CoV-2 rapidly adapts in aged BALB/c mice and induces typical pneumonia. *Journal of Virology*, 2021, 95(11): e02477—e02420.
- [24] Wang JL, Shuai L, Wang C, et al. Mouse-adapted SARS-CoV-2 replicates efficiently in the upper and lower respiratory tract of BALB/c and C57BL/6J mice. *Protein & Cell*, 2020, 11(10): 776—782.
- [25] Zhou HY, Ji CY, Fan H, et al. Convergent evolution of SARS-CoV-2 in human and animals. *Protein & Cell*, 2021, 12(11): 832—835.
- [26] Chen Q, Huang XY, Sun MX, et al. Transient acquisition of cross-species infectivity during the evolution of SARS-CoV-2. *National Science Review*, 2021, 8(11): nwab167.

Progress and Perspective of SARS-CoV-2 Mouse-adapted Strains and the Mouse Models

Qi Chen Chao Zhou Chengfeng Qin*

*State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity/Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology,
Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071*

Abstract Since the outbreak of COVID-19, its causative agent, SARS-CoV-2, continues to transmit, which has caused more than 450 million cases and 6 million deaths. In order to prevent the spread of COVID-19, a variety of vaccines and drugs are being developed and the pathogenesis is also being studied. Small animal models are indispensable tools for these research work. However, SARS-CoV-2 clinical isolates in early stage of the pandemic cannot effectively infect standard laboratory mice, thus the infection models cannot be directly established with them. To overcome this barrier, we adopted the strategy of serially passaging SARS-CoV-2 in mice, and finally obtained mouse-adapted SARS-CoV-2 strains with different infectivity and pathogenicity to standard laboratory mice, and successfully established mouse infection models that can simulate mild to severe clinical characteristics of COVID-19. Furthermore, we explored the molecular mechanism of mouse adaptation of SARS-CoV-2 by deep sequencing, affinity and protein crystal structure analysis. The mouse-adapted strains and models we built provide an effective research platform for the evaluation of agents and the exploration of SARS-CoV-2 pathogenesis. In this paper, we reviewed the development of mouse-adapted SARS-CoV-2 and the structural and biological basis of mouse adaptation, as well as the establishment and application of mouse-adapted SARS-CoV-2 infection models.

Keywords SARS-CoV-2; mice; adapted strains; infection models; amino acid mutations

(责任编辑 吴征天 姜钧译)

* Corresponding Author, Email: chengfeng_qin@126.com