



Аттенуированный Omicron-подобный штамм SARS-CoV-2

Файзулов Е.Б.^{1,2✉}, Грачева А.В.¹, Корчевая Е.Р.¹, Хохлова Д.М.¹, Масленникова А.С.¹, Трифонова Т.С.³, Кордюкова Л.В.³, Моисеенко А.В.³, Свитич О.А.^{1,4}, Зверев В.В.^{1,4}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия;

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Россия;

³ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия;

⁴ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Аннотация

Введение. Тяжёлые последствия пандемии COVID-19 свидетельствуют о недостаточной готовности национальных систем здравоохранения к противодействию подобным биологическим угрозам. В связи с этим проблема разработки средств специфической профилактики COVID-19 и других коронавирусных заболеваний остаётся актуальной.

Цель исследования — получение аттенуированного Omicron-подобного штамма SARS-CoV-2 для создания профилактической живой аттенуированной вакцины против COVID-19.

Материалы и методы. Моделирование SARS-CoV-2-инфекции *in vitro* и накопление вируса проводили в культуре клеток Vero CCL-81 с использованием лабораторных штаммов SARS-CoV-2 Dubrovka (Ухань-подобный) и FEB2 (Omicron BA.5.2). Аттенуацию штамма FEB2 проводили путём культивирования на протяжении 24 пассажей в клетках Vero CCL-81 при постепенно понижаемой до 24°C температуре с последующим трёхкратным клонированием. Моделирование COVID-19 проводили на золотистых сирийских хомячках. Вирусную нагрузку оценивали путём титрования вируса по конечной точке ЦПД и количественного определения РНК SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени. Первичную структуру генома SARS-CoV-2 определяли методом нанопорового секвенирования. Антитела к SARS-CoV-2 в сыворотках хомячков определяли методом иммуноферментного анализа.

Результаты. Получен непатогенный для сирийских хомячков температурочувствительный (*ts*) мутант Omicron-подобного штамма SARS-CoV-2, обладающий такими маркерами аттенуации, как *ts*-фенотип и сниженная иммуногенность. Мутантный штамм F-F3 при инфицировании сирийских хомячков, в отличие от родительского штамма, не поражал лёгкие, но сохранял жизнеспособность в носовых ходах и иммуногенность. Однократная интраназальная иммунизация хомячков *ts*-штаммом F-F3 вызывала у них сероконверсию с выработкой вируснейтрализующих антител. Важной характеристикой штамма F-F3 является низкая контагиозность и стабильность аттенуационного фенотипа при культивировании при 33°C.

Заключение. Совокупность выявленных характеристик аттенуированного штамма SARS-CoV-2 F-F3 свидетельствует о целесообразности дальнейшего исследования его безопасности и протективной активности на животной модели COVID-19.

Ключевые слова: аттенуация SARS-CoV-2; живая аттенуированная вакцина; золотистые сирийские хомячки; иммуногенность

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом НИИВС им. И.И. Мечникова (протокол № 2 от 24.05.2021).

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовом обеспечении Министерства науки и высшего образования РФ (тема НИР FGFS-2025-0001). Электронно-микроскопическое исследование вирусных препаратов выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Файзулов Е.Б., Грачева А.В., Корчевая Е.Р., Хохлова Д.М., Масленникова А.С., Трифонова Т.С., Кордюкова Л.В., Моисеенко А.В., Свитич О.А., Зверев В.В. Аттенуированный Omicron-подобный штамм SARS-CoV-2. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2026;103(2):205–215.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-765>

EDN: <https://www.elibrary.ru/LEWMTY>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-765>

Attenuated Omicron-like SARS-CoV-2 strain

Evgeny B. Faizuloev^{1,2*}, Anastasiia V. Gracheva¹, Ekaterina R. Korchevaya¹,
Daria M. Khokhlova¹, Asya S. Maslennikova¹, Tatiana S. Trifonova³,
Larisa V. Kordyukova³, Andrey V. Moiseenko³, Oxana A. Svitich^{1,4}, Vitaly V. Zverev^{1,4}

¹I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia;

³Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;

⁴I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract

Introduction. The severe consequences of the COVID-19 pandemic highlight the lack of preparedness of national health systems to counter such biological threats. In this regard, the development of preventive means for specific prophylaxis of COVID-19 and other coronavirus diseases remains urgent.

The aim of the study was to obtain an attenuated Omicron-like SARS-CoV-2 strain to create a preventive live attenuated COVID-19 vaccine.

Materials and methods. For SARS-CoV-2 infection modeling *in vitro* and virus propagation, Vero CCL-81 cell culture as well as laboratory strains SARS-CoV-2 Dubrovka (Wuhan-like) and FEB2 (Omicron BA.5.2) were used. Attenuation of the FEB2 strain was carried out by cultivation for 24 passages in Vero CCL-81 cells at a temperature gradually lowered to 24°C, followed by triple cloning. COVID-19 modeling *in vivo* was performed on golden Syrian hamsters. Viral load was assessed by virus titration by the CPE endpoint and SARS-CoV-2 RNA quantitation in real-time RT-PCR. The primary structure of the SARS-CoV-2 genome was determined by nanopore sequencing. Antibodies to SARS-CoV-2 in hamster sera were detected by ELISA.

Results. A non-pathogenic for Syrian hamsters temperature-sensitive (*ts*) mutant of the omicron-like SARS-CoV-2 F-F3 strain, which possesses attenuation markers such as *ts* phenotype and reduced immunogenicity, was obtained. The mutant F-F3 strain did not affect the lungs in infected Syrian hamsters, unlike the parental strain, but retained viability in the nasal passages and immunogenicity. A single intranasal immunization of hamsters with the F-F3 *ts* strain caused seroconversion in them with the production of neutralizing antibodies. An important characteristic of F-F3 strain is low transmissibility and the stability of attenuation phenotype when cultured at 33°C.

Conclusions. The combination of the identified characteristics of the attenuated SARS-CoV-2 F-F3 strain indicates the rationality of further investigation of its safety and efficacy in an animal model of COVID-19.

Keywords: SARS-CoV-2 attenuation; live attenuated vaccine; Syrian golden hamster; immunogenicity

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23 July, 2010). The research protocol was approved by the Local Ethics Committee of the I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (protocol No. 2, May 24, 2021).

Funding source. The study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (research topic FGFS-2025-0001). The electron microscopic study of the viral preparations was conducted as part of a state assignment to Lomonosov Moscow State University.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Faizuloev E.B., Gracheva A.V., Korchevaya E.R., Khokhlova D.M., Maslennikova A.S., Trifonova T.S., Kordyukova L.V., Moiseenko A.V., Svitich O.A., Zverev V.V. Attenuated Omicron-like SARS-CoV-2 strain. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2026;103(2):205–215.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-765>

EDN: <https://www.elibrary.ru/LEWMTY>

Введение

В последние десятилетия мир столкнулся с такими угрозами, как риск глобального распространения коронавирусов SARS-CoV (2003 г.) и MERS-CoV (с 2012 г. по настоящее время) и пережил пандемию COVID-19 (2020–2023 гг.), вызван-

ную коронавирусом SARS-CoV-2. От COVID-19 и его последствий погибло более 7 млн человек во всём мире, что свидетельствует о недостаточной готовности национальных систем здравоохранения к появлению пандемических штаммов вирусов. Несмотря на сформировавшийся высокий уровень

популяционного иммунитета против новой коронавирусной инфекции, сохраняется риск появления новых эпидемически значимых вариантов SARS-CoV-2, способных привести к подъёму заболеваемости COVID-19. Появление и широкое распространение варианта Omicron и его сублиний снизило эффективность вакцинопрофилактики COVID-19. В результате эволюции SARS-CoV-2 появились мутанты вируса, ускользающие от естественного и поствакцинального иммунитета, что привело к быстрому снижению эффективности лицензированных вакцин [1, 2]. В то же время сохраняется вероятность передачи от животных человеку других коронавирусов и возникновения новых эпидемий. В связи с этим проблема совершенствования средств специфической профилактики COVID-19 и других коронавирусных заболеваний остаётся актуальной.

Одной из современных тенденций в развитии методов специфической профилактики COVID-19 и других респираторных инфекций является разработка мукозальных вакцин [3]. Существенным преимуществом мукозальных вакцин с интраназальным способом введения является способность вызывать формирование противовирусного иммунитета на слизистых оболочках, т. е. непосредственно во входных воротах инфекции. Мукозальные вакцины не только защищают иммунизированного человека от заболевания, но и снижают эффективность трансмиссии вируса, что в конечном итоге обеспечивает снижение заболеваемости [3–5]. Мукозальные вакцины против COVID-19 создаются на основе различных технологических платформ, но наибольший интерес разработчиков вызывают векторные вакцины, основанные на репликационных некомпетентных или аттенуированных вирусах человека и животных (аденовирусы, вирус гриппа А, вирус болезни Ньюкасла, респираторно-синциальный вирус, вирус парагриппа 5 и др.), многие из которых находятся на разных стадиях клинических испытаний [6–10]. К числу ограничений мукозальных векторных вакцин относится слабый системный иммунный ответ, предсуществующий иммунитет к вирусному вектору, негативно влияющий на их иммуногенность, а также использование в качестве иммуногена преимущественно одного гена S-белка SARS-CoV-2 [3]. Альтернативным подходом является разработка мукозальной живой аттенуированной вакцины, способной вызывать полноценный и стойкий иммунный ответ как к структурным, так и неструктурным вирусным белкам и активировать не только гуморальное, но и клеточное звено иммунитета [11, 12]. Важно отметить, что применение живых вирусных вакцин обосновано не только их высокой иммунологической эффективностью, но и экономической целесообразностью, поскольку они отличаются низкой себестоимостью производства.

Ранее в НИИВС им. И.И. Мечникова от пациентов с лабораторно подтверждённым COVID-19 в культуре клеток почки обезьяны Vero CCL-81 в разные периоды пандемии получены штаммы SARS-CoV-2 Dubrovka (Ухань-подобный, GenBank ID MW514307.1, июнь 2020 г.) и FEB2 (Omicron BA.5.2, GenBank ID OP920753.1, октябрь 2022 г.). Видовая и субвидовая таксономическая принадлежность штаммов была установлена методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) и подтверждена путём полногеномного секвенирования с последующим филогенетическим анализом. Путём длительного пассирования Ухань-подобного штамма Dubrovka в клетках почки обезьян Vero CCL-81 при температуре, постепенно понижаемой до 23°C, получен холодадаптированный (*ca*) мутант D-D2, проявляющий температурочувствительный (*ts*) фенотип в культуре клеток и аттенуационный (*att*) фенотип для золотистых сирийских хомячков (далее — хомячки) [13]. При однократной интраназальной иммунизации хомячков штамм D-D2 вызывал сероконверсию у всех иммунизированных животных и обеспечивал высокоэффективную защиту хомячков от развития продуктивной инфекции и пневмонии при заражении как родительским штаммом Dubrovka, так и генетологическими штаммами, относящимися к вариантам Delta (AY.122) и Omicron (сублинии BA.1.1 и BA.5.2) [13, 14]. Вместе с тем *ts*-мутант D-D2 сохранил остаточную вирулентность для хомячков, проявляющуюся в ограниченной репродукции вируса в лёгких и слабовыраженной очаговой интерстициальной пневмонии, что не позволяет охарактеризовать его как полностью безопасный. Остаточная вирулентность мутанта D-D2 определяется, вероятно, тем, что он утратил способность к размножению при 39°C, но при этом размножался при 37°C, сохранив таким образом способность заражать лёгкие [13]. В связи с этим нам представилось целесообразным получить *ts*-мутант Omicron-подобного штамма SARS-CoV-2 FEB2, относящегося к сублинии BA.5.2, и исследовать его вирулентность и иммуногенность для чувствительных животных. Выбор для аттенуации штамма FEB2 определяется тем, что он характеризуется более низкой вирулентностью по сравнению с Ухань-подобным штаммом Dubrovka [15], а также схожестью антигенных свойств по отношению к актуальным циркулирующим штаммам SARS-CoV-2.

Материалы и методы

Вирус

В исследовании использованы лабораторный штамм SARS-CoV-2 FEB2 (Omicron BA.5.2, GenBank ID OP920753.1), изолированный от пациента с COVID-19 в октябре 2022 г., и его *ts*-мутан-

ты F-F1, F-F3, F-D3, F-D12, F-C5 и F-C9 (GenBank ID PX401966-PX401971), а также Ухань-подобный штамм SARS-CoV-2 Dubrovka (GenBank ID MW514307.1).

Культивирование клеток и вируса

SARS-CoV-2 культивировали на клетках эпителия почек африканской зелёной мартышки Vero CCL-81 (ATCC), как описано ранее [16]. Монослой клеток Vero CCL-81 инфицировали SARS-CoV-2 при низкой множественности заражения ($MOI \leq 0,001$) и инкубировали при 37°C (штаммы FEB2 и Dubrovka) или 24°C (*sa*-мутанты штамма FEB2) в течение 3–10 дней в атмосфере 5% CO₂ до появления выраженного цитопатического действия (ЦПД). Вирусосодержащую культуральную среду осветляли центрифугированием, титровали и хранили при –80°C до использования.

Титрование вируса

Титр SARS-CoV-2 определяли по конечной точке проявления ЦПД в культуре клеток Vero CCL-81, как описано ранее [16]. Штаммы FEB2 и Dubrovka титровали при 37°C, *sa*-мутанты штамма FEB2 — при 30°C. Титр вируса рассчитывали методом М.А. Ramakrishnan [17] и выражали в lg ТЦД₅₀/мл.

Оценка *ts*-фенотипа *sa*-мутантов SARS-CoV-2

Клетки Vero заражали родительским штаммом FEB2 и *sa*-мутантами при MOI 0,001 и инкубировали при 37°C и 39°C в течение 4 сут в атмосфере 5% CO₂. В конце инкубации отбирали образец культуральной жидкости и определяли титр вируса и концентрацию вирусной РНК. Снижение титра вируса или концентрации вирусной РНК по сравнению с заражением штаммом FEB2 на 4,0 lg и более свидетельствовала о наличии у *sa*-мутанта *ts*-фенотипа.

Количественное определение РНК SARS-CoV-2

Количественное определение РНК SARS-CoV-2 проводили методом ОТ-ПЦР-РВ, как описано ранее [18]. Вирусную РНК выделяли из образцов с использованием набора реагентов «MagnoPrime UNI» («NextBio»). Для обнаружения вирусной РНК использовали праймеры и зонд, направленные к гену нуклеокапсида N SARS-CoV-2: CoVN-F GCGTCTTTCGGAATGTCG, COVN-R TTGGATCTTTGTCAATCAATTTG, COVN-P FAM-AACGTGGTTGACCTACACAGGT-BHQ1 [19].

Секвенирование генома SARS-CoV-2

Нанопоровое секвенирование генома SARS-CoV-2 проводили в секвенаторе MinION в проточной ячейке Flow Cell R9.4 с использованием программного обеспечения «MinKNOW» и наборов реагентов производства «Oxford Nanopore

Technologies», как описано ранее [13]. Сборку генома осуществляли в программе «Minimap2 v. 2.24».

Определение антител к SARS-CoV-2

Антитела к SARS-CoV-2 в сыворотках крови хомячков определяли методом твёрдофазного иммуноферментного анализа (ИФА), как описано ранее [18]. В качестве иммуносорбента при постановке ИФА в 96-луночные планшеты сорбировали препарат SARS-CoV-2 (штамм Dubrovka), инактивированного ультрафиолетовым излучением. Титр нейтрализующих антител определяли в культуре клеток Vero CCL-81, как описано ранее [16].

Просвечивающая электронная микроскопия

Осветлённую центрифугированием (4000 об/мин в течение 10 мин при 4°C) вирусосодержащую культуральную жидкость с известным титром инактивировали в чашке Петри под штатной бактерицидной ультрафиолетовой лампой бокса микробиологической безопасности ($\lambda = 253,7$ нм) в течение 6 мин с периодическим покачиванием. Вирус концентрировали пропусканием через фильтры «Amicon Ultra 100» («Merck») в течение 10 мин при 4500 об/мин и ресуспендировали в 1 мл стерильного фосфатного солевого буфера (ФСБ) (рН 7,2). Аликвоты вируса хранили при –80°C до микроскопического исследования. Для получения иммунных комплексов к исследуемому образцу вируса в объёме 50 мкл добавляли 3 мкл сыворотки кроликов, гипериммунизированных штаммом FEB2, перемешивали, инкубировали 1 ч при 37°C и наносили на сетку. Для негативного контрастирования 7 мкл образца наносили на медную сетку, покрытую формваром с углеродным напылением («TedPella»), выдерживали в течение 1 мин; избыток жидкости оттягивали фильтровальной бумагой. Далее наносили 7 мкл 2% водного раствора фосфорно-вольфрамовой кислоты (рН 7,0), выдерживали в течение 30 с, избыток раствора удаляли. ПЭМ проводили на микроскопе «JEM-2100» («Jeol»).

Животные

Четырёхнедельные самки золотистых сирийских хомячков (*Mesocricetus auratus*) массой 40–50 г были получены из питомника лабораторных животных Филиала ИБХ РАН в г. Пущино (Московская обл.). Животных заражали вирусом SARS-CoV-2 интраназально в объёме 100 мкл на обе ноздри под лёгким эфирным наркозом. За животными велось ежедневное наблюдение в течение всего срока проведения эксперимента. Животные содержались в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [20] и правилами по устройству, оборудованию и содержанию эксперименталь-

но-биологических клиник (вивариев) (ГОСТ 33215-2014). Все процедуры, проводимые с животными, были одобрены Локальным этическим комитетом НИИВС им. И.И. Мечникова до начала исследований (протокол № 2 от 24.05.2021). При проведении исследования на животных авторы соблюдали институциональные и национальные стандарты по использованию лабораторных животных.

Оценка вирулентности SARS-CoV-2

Хомячки были случайным образом распределены по 3 группам ($n = 6$). Животных 1-й и 2-й групп заражали интраназально штаммами FEB2 и F-F3 соответственно в дозе $5,0 \text{ lg TЦД}_{50}$ /животное. Хомячкам 3-й группы интраназально вводили ФСБ. Ежедневно оценивали состояние животных и проводили контроль веса. Через 4 сут после заражения животных гуманно умерщвляли, лёгкие, носовые ходы и мозг извлекали, гомогенизировали в среде DMEM с гентамицином (40 мкг/мл) с использованием гомогенизатора «Tissue Lyser LT» («Qiagen»), осветляли центрифугированием (4000 об/мин в течение 10 мин при 4°C) и хранили при -80°C до исследования. В осветлённых гомогенатах органов определяли титр вируса и концентрацию вирусной РНК. Достоверно более низкие значения титра вируса и концентрации РНК мутантного штамма в лёгких и носовых ходах по сравнению с заражением диким штаммом свидетельствовали о наличии у вируса *att*-фенотипа.

Требования к безопасности работ

Все работы с вирусом SARS-CoV-2 проводили в условиях, отвечающих требованиям безопасности работ с ПБА II группы патогенности.

Статистический анализ

Статистическую обработку проводили с использованием программного обеспечения «GraphPad Prism v. 5.03». Данные на графиках представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение (SD) или \pm стандартная ошибка (SE). Для сравнения показателей использован U-критерий Манна–Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Для получения *ts*-мутантов был выбран Omicron-подобный штамм SARS-CoV-2 FEB2, обладающий высокой репродуктивной активностью в культуре клеток Vero CCL-81. В результате проведения 24 пассажей штамма FEB2 в клетках Vero CCL-81 при постепенно понижаемой температуре (пассажи 1–4 — 37°C , пассаж 5 — 35°C , далее снижение температуры на 1°C на каждом пассажном уровне до 24°C) получен его *sa*-мутант (FEB2_сa), способный размножаться при 24°C . На основе FEB2_сa путём трёхкратного клонирования мето-

дом предельных разведений было получено 6 клонов вируса (F-F1, F-F3, F-D3, F-D12, F-C5 и F-C9), способных к размножению при 24°C (рис. 1, а). Клоны-мутанты F-F1, F-F3, F-D3, F-D12 обладали выраженным *ts*-фенотипом, т. е. утратили способность размножаться при 37°C и 39°C (рис. 1, б, в).

Температурная чувствительность клонов-мутантов F-F1, F-F3, F-D3, F-D12, определённая по концентрации вирусной РНК на 4-е сутки после

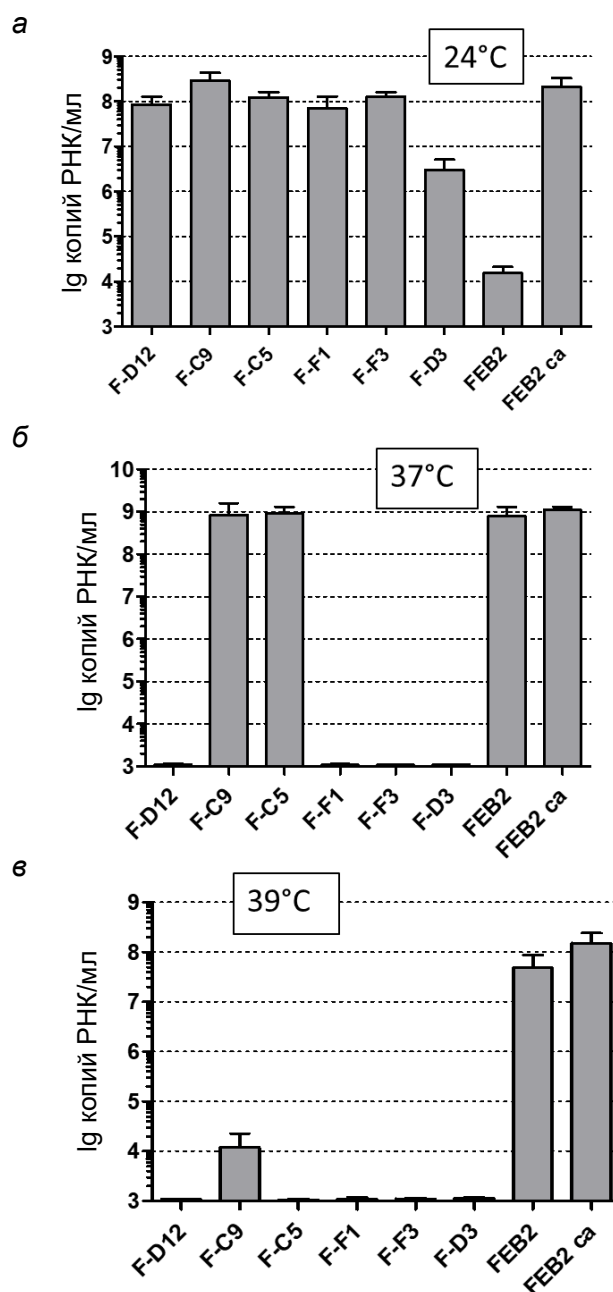


Рис. 1. Выявление *ts*-фенотипа разных вариантов штамма FEB2 в культуре клеток Vero CCL-81.

Концентрация вирусной РНК: а — через 9 сут после инфицирования при 24°C ; б — через 4 сут после инфицирования при 37°C ; в — через 4 сут после инфицирования при 39°C . Представлены средние значения двух независимых экспериментов. Отрезки показывают разницу между двумя значениями.

инфицирования, была подтверждена определением инфекционного титра вируса — при культивировании в условиях 37°C и 39°C они не проявляли инфекционной активности, тогда как титр родительского штамма FEB2, выращенного в этих условиях, превышал 7,0 lg ТЦД₅₀/мл.

Электронно-микроскопическое исследование препаратов родительского штамма FEB2 и клон-мутанта F-F3 не выявило различий в морфологии вирусных частиц между вариантами вируса (рис. 2, а, в). Популяция вируса включала сферические или овальные частицы диаметром 90–150 нм, окружённые по контуру «шипами» S-белка. И родительский штамм, и *ts*-мутант после инкубации с иммунной сывороткой кролика, гипериммунизированного штаммом FEB2, образовывали иммунные комплексы (рис. 2, б, г), содержащие от 2 до нескольких десятков вирионов.

В результате полногеномного секвенирования в геномах клонов-мутантов F-F1, F-F3, F-D3, F-D12, F-C5 и F-C9 (GenBank ID PX401966-PX401971) обнаружены 21–24 нуклеотидные замены, преимущественно несинонимичные. Из числа полученных *ts*-мутантов для оценки вирулентности для хомячков выбран клон F-F3 (далее — штамм F-F3), чувствительный к температуре 37°C и выше. Сравнительный анализ геномов штамма F-F3 (GenBank ID PX401966) и его родительского штамма FEB2 (GenBank ID OP920753.1) показал, что в результате адаптации к росту в культуре клеток Vero CCL-81 при 24°C он приобрёл 23 нуклеотидные замены (C3154T, C10175T, C10801T, C11422T, C13132T, T15353C, G17535A, G17915T, C19515T, C19863T, T22772G, G23754T, A24339T, C24348A, C24349G, G26316A, G26488A, C26501T, A26668G, G28507T, C28626A, C29070A, C29312T), из которых 20 приводили к аминокислотным заменам в белках NSP3 (P971L), NSP5 (T3520I, A3727V), NSP6 (T4297I), NSP12 (S5038P), NSP13 (C5765Y, G5892C), NSP14 (S6425L, A6541V), S (N414K, D742Y, T937S, P940S), E (R38Q), M (D3N, T7I, T63A), N (R95L, P132T, Q280K).

Интраназальная иммунизация хомячков штаммом F-F3 в дозе 5,0 lg ТЦД₅₀/животное не вызывала у них патологических изменений в лёгких, задержки прироста массы тела и изменений в поведении. Репродукция штамма F-F3 на 4-й день после инфицирования была обнаружена только в носовых ходах, тогда как в гомогенатах лёгких и мозга инфекционная активность вируса не была выявлена (рис. 3, а), что хорошо согласовалось с содержанием в этих органах вирусной РНК (рис. 3, б). Титр вируса в носовых ходах хомячков на 4-й день после инфицирования был на 1,3 lg ТЦД₅₀/мл, а концентрация вирусной РНК — на 1,6 lg копий РНК/мл ниже, чем при заражении диким вирусом в аналогичной дозе ($p < 0,01$).

Для оценки иммуногенности штамма F-F3 хомячков интраназально иммунизировали штаммом

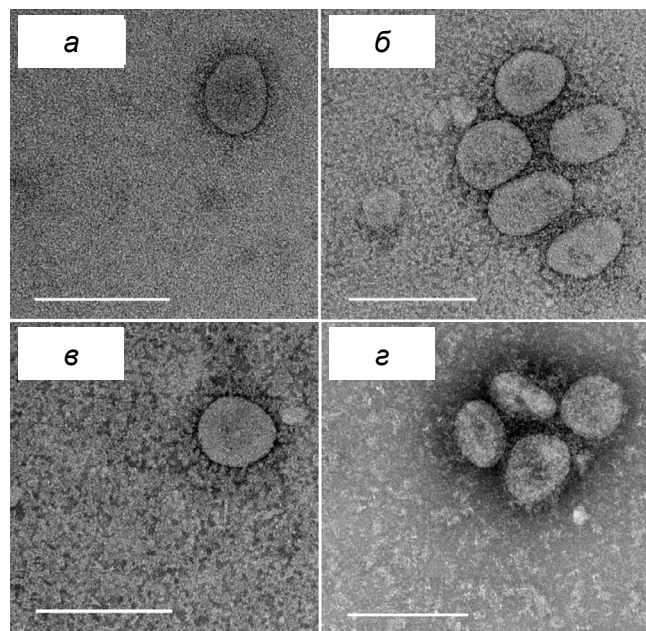


Рис. 2. Просвечивающая электронная микроскопия негативно контрастированных вирионов штаммов (а) FEB2 и F-F3 (в) и иммунных комплексов, полученных при инкубации с иммунной сывороткой вирионов штаммов (б) FEB2 и F-F3 (г). Масштабный отрезок — 200 нм.

F-F3 ($n = 12$) в дозе 5,0 lg ТЦД₅₀/животное. Контрольную группу животных заражали штаммом FEB2 ($n = 6$) в аналогичной дозе. В качестве отрицательного контроля выступали неиммунизированные животные ($n = 6$). Через 21 сут после иммунизации у всех иммунизированных животных методом ИФА выявлена сероконверсия, при этом титр IgG к SARS-CoV-2 при иммунизации F-F3 был в среднем в 3,5 раза ниже (3050 ± 2702), чем при иммунизации родительским штаммом FEB2 (10667 ± 3350 ; $p < 0,05$). В сыворотках всех иммунизированных F-F3 хомячков обнаружены вируснейтрализующие антитела к штамму FEB2 в титре 80–640 (в среднем 333 ± 207). В сыворотках неиммунизированных животных антитела к вирусу не обнаружены.

Следующий этап заключался в оценке стабильности *ts*-фенотипа штамма F-F3. Для этого адаптированный к температуре 24°C штамм F-F3 на протяжении 6 пассажей выращивали в культуре клеток Vero CCL-81 при 33°C и 37°C. При 37°C инфекция F-F3 носила абортный характер (вирус не размножался, не вызывал ЦПД, проявляя *ts*-фенотип). При 33°C на всех пассажных уровнях F-F3 размножался, вызывая выраженное ЦПД, что сопровождалось накоплением в культуральной жидкости вирусной РНК на уровне 8,0 lg копий РНК/мл и выше. Вирусное потомство, полученное после проведения 6 пассажей при 33°C (вариант F-F3-33), проверяли на чувствительность к температурам 37°C и 39°C (таблица). Если при 33°C родительский штамм FEB2 и вариант F-F3-33 размножались в клетках Vero CCL-81 с одинаковой эффективностью, то при

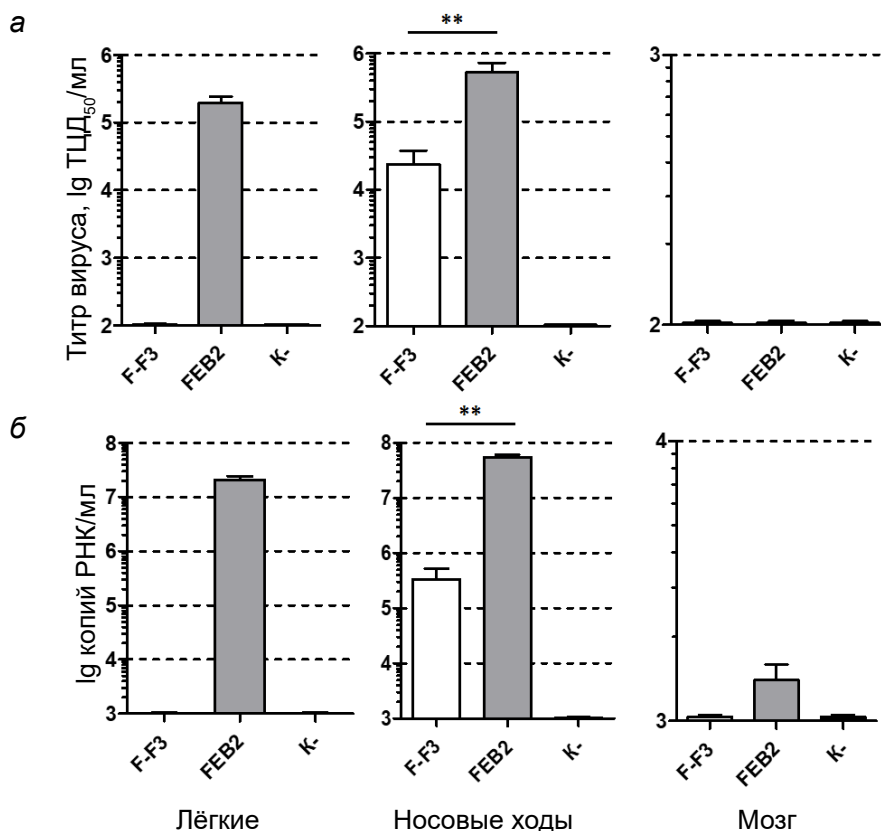


Рис. 3. Вирусная нагрузка в органах хомячков на 4-й день после инфицирования штаммами FEB2 и F-F3.

а — титр вируса; б — концентрация вирусной РНК, средние значения ± SE, ***p* < 0,01.

37°C и 39°C к размножению был способен только штамм FEB2, о чём свидетельствует прирост концентрации вирусной РНК и развитие ЦПД. Отсутствие признаков репродукции варианта F-F3-33 при 37°C и 39°C свидетельствует о стабильности *ts*-фенотипа штамма F-F3 в условиях культивирования *in vitro* при 33°C.

Важной характеристикой, определяющей безопасность вакцинного штамма, является его способность передаваться от иммунизированных лиц восприимчивым неиммунным. В связи с этим нам представилось целесообразным оценить контагиозность штамма F-F3. С этой целью к группе хомячков (*n* = 6), иммунизированных интраназально штам-

мом F-F3 в дозе 5,0 lg TCID₅₀/мл, сразу после иммунизации были подсажены 3 неиммунных хомячка, которые содержались вместе с иммунизированными животными на протяжении всего эксперимента. Через 21 сут после инфицирования у «подсаженных» хомячков антитела к SARS-CoV-2 не обнаружены. Отсутствие сероконверсии свидетельствует о том, что штамм F-F3 подсаженным животным не передается, несмотря на тесный контакт с иммунизированными животными. Через 28 дней после инфицирования иммунизированные хомячки были заражены вирулентным штаммом SARS-CoV-2 Dubrovka в дозе 4,0 lg TCID₅₀/мл, и через 21 сут после заражения в сыворотках крови всех трёх «подсаженных» хо-

Оценка чувствительности варианта F-F3-33 к температуре 37°C и 39°C в культуре клеток Vero CCL-81 (множественность инфекции 0,001)

Температура культивирования, °C	Вирус	Концентрация вирусной РНК на разные сроки после инфицирования, lg копий РНК/мл				ЦПД на 4-е сутки
		1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки	4-е сутки	
33	F-F3-33	5,2	8,4	9,0	8,7	Есть Yes
	FEB2	4,0	7,9	9,5	8,2	Есть Yes
37	F-F3-33	≤ 3,0	≤ 3,0	≤ 3,0	≤ 3,0	Нет No
	FEB2	4,5	8,3	9,7	10,0	Есть Yes
39	F-F3-33	≤ 3,0	≤ 3,0	≤ 3,0	≤ 3,0	Нет No
	FEB2	4,1	8,4	9,8	9,5	Есть Yes

мячков выявлены антитела к SARS-CoV-2 (средний титр антител $17\ 067 \pm 4267$). Выявленную сероконверсию можно трактовать как результат заражения «подсаженных» хомячков вирулентным штаммом Dubrovka, что подтверждалось тем, что вируснейтрализующая активность выявленных антител по отношению к Wuhan-подобному штамму Dubrovka (853 ± 213) была в среднем в 10 раз больше, чем по отношению к Omicron-подобному штамму FEB2 (87 ± 41 ; $p < 0,05$).

Обсуждение

Одним из традиционных подходов к созданию живых вакцин, доказавших свою эффективность, является холодовая адаптация вируса с получением *ts*-мутантов. Основанные на *ts*-мутантах сезонные живые гриппозные вакцины, принципы создания которых сформулированы более 50 лет назад [21, 22], сочетают перекрёстную протективную активность, простоту интраназального введения, формирование мукозального иммунитета во входных воротах инфекции. Вирус, адаптированный к росту в культуре клеток при пониженной температуре, утрачивает способность к размножению при физиологической температуре 37°C и выше (*ts*-фенотип). Следовательно, *ts*-мутант не способен поражать лёгкие и другие внутренние органы и вызывать в них патологические изменения. Такая избирательность *ts*-мутанта определяется тем, что температура в лёгких и в других жизненно важных внутренних органах условно здорового человека превышает 37°C , а в головном мозге составляет в среднем $38,5^\circ\text{C}$ [23]. В научной литературе описано получение аттенуированных *ts*-штаммов SARS-CoV-2, полученных на основе вариантов вируса, которые прекратили свою циркуляцию ещё в 2021–2022 гг. [13, 24–26], до появления варианта Omicron, ставшего причиной самого масштабного подъёма заболеваемости [27].

В настоящем исследовании возможность аттенуации SARS-CoV-2 путём холодовой адаптации, первоначально продемонстрированная нами на Wuhan-подобном штамме Dubrovka [13], была подтверждена с использованием более актуального Omicron-подобного штамма FEB2 (сублиния BA.5.2). При выборе штамма SARS-CoV-2 для получения *ts*-мутанта мы руководствовались тем, что он должен обладать схожими антигенными свойствами по отношению к актуальному диким штаммам и при этом изначально характеризоваться пониженной вирулентностью. В наибольшей степени этим требованиям отвечал Omicron-подобный штамм FEB2, способный вызывать у хомячков пневмонию, не поражая головной мозг [15]. В результате адаптации штамма FEB2 к росту в культуре клеток Vero CCL-81 при 24°C ряд клонов-мутантов приобрели

ts-фенотип, утратив способность размножаться в культуре клеток при 37°C . Выбранный нами для дальнейшего исследования *ts*-штамм F-F3 при интраназальном заражении хомячков, в отличие от родительского штамма, не поражал лёгкие, но сохранял жизнеспособность в носовых ходах, при этом интенсивность вирусной репродукции в носовых ходах была ниже, чем у родительского штамма. Способность к заражению верхних отделов респираторного тракта определила иммуногенность F-F3.

Штамм F-F3 в присутствии иммунной сыворотки формировал иммунные комплексы, что указывает на сохранение у поверхностных белков (в первую очередь S-белка) *ts*-мутанта, выращенного при нефизиологической температуре 24°C , антигенных свойств, несмотря на 4 аминокислотные замены в S-белке: *N414K*, *D742Y*, *T937S*, *P940S*. Такой вывод подтверждается способностью штамма F-F3 при интраназальной иммунизации вызывать у иммунизированных золотистых сирийских хомячков сероконверсию с выработкой вируснейтрализующих антител. Сероконверсия проявилась у всех иммунизированных штаммом F-F3 животных, при этом титр антител был значительно ниже, чем при иммунизации соответствующей дозой дикого вируса. Более низкую иммуногенность F-F3 по сравнению с родительским вирусом, характерную для вакцинных штаммов, можно рассматривать как дополнительный маркер аттенуации вируса.

Одной из ключевых характеристик, определяющих безопасность клинического применения живых аттенуированных вакцин, является стабильность *att*-фенотипа вакцинного штамма, что минимизирует вероятность реверсии вирулентности. Проблема нестабильности *att*-фенотипа вакцинных штаммов проявилась, например, в появлении циркулирующих вакцинородственных полиовирусов — ревертантов вакцинных штаммов оральной полиомиелитной вакцины. Вирулентность вакцинородственных полиовирусов может быть сопоставимой с вирулентностью диких штаммов полиовируса, поэтому в странах, избавившихся от циркуляции диких штаммов, переходят от применения оральной полиомиелитной вакцины к инактивированной [28]. Кроме того, Д.С. Не и соавт. обнаружили циркуляцию среди населения Индии рекомбинантных штаммов SARS-CoV-2, предположительно появившихся в результате клинических испытаний живой аттенуированной вакцины, и описали связанные с этим риски [29]. Важной характеристикой штамма F-F3 является стабильность его *ts*-фенотипа при культивировании при 33°C . При моделировании *in vitro* условий для культивирования *ts*-мутанта, при которых могла бы произойти реверсия, мы выбрали перmissive для вируса температуру 33°C , что примерно соответствует условиям верхних отделов дыхательных путей. Поскольку именно *ts*-фе-

нотип определяет аттенуацию вируса, полученные результаты указывают и на стабильность *att*-фенотипа штамма F-F3.

Иммунизированные штаммом F-F3 хомячки не заражали подсаженных в ту же клетку неиммунных хомячков, несмотря на тесный контакт между ними, что свидетельствует о низкой контагиозности F-F3. Факт заражения животных штаммом F-F3 определяли методом «парных сывороток», выявляя сероконверсию (достоверный, не менее чем 4-кратный, прирост антител к вирусу) через 21 сут после иммунизации. При этом исходили из того, что пик вирусной репродукции в носовых ходах хомячков приходится на 2–4-й день после иммунизации, и в этот период риск заразиться для контактных неиммунных животных максимален. Оставшихся 2,0–2,5 нед до момента взятия крови достаточно для того, чтобы в случае заражения проявилась сероконверсия. Те же неиммунные хомячки при заражении находящихся с ними в одной клетке иммунизированных хомячков вирулентным штаммом SARS-CoV-2 Dubrovka заразились от них. Заражение контактных животных штаммом Dubrovka свидетельствовало об их восприимчивости к SARS-CoV-2-инфекции и выявило высокую контагиозность неаттенуированного штамма Dubrovka. Если рассматривать штамм F-F3 в качестве кандидатного вакцинного штамма, то его низкая контагиозность снижает вероятность циркуляции вакцинного штамма среди населения в условиях массовой вакцинации и риск появления вирулентных вакцинородственных штаммов или рекомбинантов вакцинного и дикого вируса.

Полученные нами данные о стабильности *ts*-фенотипа в условиях *in vitro* и низкой контагиозности штамма F-F3 требуют подтверждения в дополнительных исследованиях на чувствительных животных.

Заключение

Получен непатогенный для золотистых сирийских хомячков Omicron-подобный *ts*-мутант SARS-CoV-2 — штамм F-F3. Будучи чувствительным к температуре 37°C и выше, штамм F-F3 утратил способность заражать лёгкие хомячков, но сохранил способность заражать носовые ходы, благодаря чему сохранил иммуногенность. Важной характеристикой штамма является низкая контагиозность. В условиях длительного культивирования *in vitro* при 33°C штамм F-F3 проявил стабильность *ts*-фенотипа, что свидетельствует о низком риске реверсии вирулентности в условиях клинического применения. Совокупность выявленных характеристик аттенуированного штамма F-F3 свидетельствует о целесообразности дальнейшего исследования его безопасности и протективной активности на животной модели COVID-19. Штамм F-F3 также представляет интерес для получения на его основе «донора

аттенуации», позволяющего создавать методами обратной генетики вакцинные штаммы, сочетающие аттенуационный фенотип *ts*-штамма и антигенные свойства циркулирующих штаммов SARS-CoV-2.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Bowen J.E., Addetia A., Dang H.V., et al. Omicron spike function and neutralizing activity elicited by a comprehensive panel of vaccines. *Science*. 2022;377(6608):890–4. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.abq0203>
2. Dejnirattisai W., Huo J., Zhou D., et al. SARS-CoV-2 Omicron-B.1.1.529 leads to widespread escape from neutralizing antibody responses. *Cell*. 2022;185(3):467–84.e15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.12.046>
3. Tscherne A., Sun W., Liu S., et al. Mucosal COVID-19 vaccines in clinical development. *Vaccine*. 2025;63:127602. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2025.127602>
4. Корчевая Е.Р., Грачева А.В., Дьяков И.Н. и др. Живые аттенуированные вакцины против COVID-19: подходы к разработке и перспективы клинического применения. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(3):225–36. Korchevaya E.R., Gracheva A.V., Dyakov I.N., et al. Live attenuated COVID-19 vaccines: approaches to development and prospects for clinical use. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2023;100(3):225–36. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-404>
5. Yeung J., Wang T., Shi P.Y. Improvement of mucosal immunity by a live-attenuated SARS-CoV-2 nasal vaccine. *Curr. Opin. Virol*. 2023;62:101347. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2023.101347>
6. Tutykhina I.L., Logunov D.Y., Shcherbinin D.N., et al. Development of adenoviral vector-based mucosal vaccine against influenza. *J. Mol. Med. (Berl.)*. 2011;89(4):331–41. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00109-010-0696-0>
7. Ponce-de-León S., Torres M., Soto-Ramírez L.E., et al. Interim safety and immunogenicity results from an NDV-based COVID-19 vaccine phase I trial in Mexico. *NPJ Vaccines*. 2023; 8(1):67. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41541-023-00662-6>
8. Stepanova E., Isakova-Sivak I., Matyushenko V., et al. Safety and immunogenicity study of a bivalent vaccine for combined prophylaxis of COVID-19 and influenza in non-human primates. *Vaccines*. 2024;12(10):1099. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines12101099>
9. Tioni M.F., Jordan R., Pena A.S., et al. Mucosal administration of a live attenuated recombinant COVID-19 vaccine protects nonhuman primates from SARS-CoV-2. *NPJ Vaccines*. 2022;7(1):85. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41541-022-00509-6>
10. Spearman P., Jin H., Xiao P., et al. Safety and immunogenicity of intranasal parainfluenza virus type 5 (PIV5)-vectored COVID-19 vaccine in adults and teens in an open-label phase I trial. *Sci. Adv*. 2025;11(27):eadw0896. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.adw0896>
11. Minor P.D. Live attenuated vaccines: Historical successes and current challenges. *Virology*. 2015;479-480:379–92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.viro.2015.03.032>
12. Pollard A.J., Bijker E.M. A guide to vaccinology: from basic principles to new developments. *Nat. Rev. Immunol*. 2021;21(2):83–100. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-020-00479-7>
13. Faizuloev E., Gracheva A., Korchevaya E., et al. Cold-adapted SARS-CoV-2 variants with different temperature sensitivity exhibit an attenuated phenotype and confer protective immunity. *Vaccine*. 2023;41(4):892–902. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2022.12.019>
14. Файзулов Е.Б., Грачева А.В., Корчевая Е.Р. и др. Однократная интраназальная иммунизация аттенуированным Ухань-

- подобным SARS-CoV-2 обеспечивает высокоэффективную перекрёстную защиту от заражения вариантами Delta и Omicron. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(1):36–51. Faizuloev E.B., Gracheva A.V., Korchevaya E.R., et al. Single intranasal immunization with attenuated Wuhan-like SARS-CoV-2 provides highly effective cross-protection against Delta and Omicron variants of concern. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2024;101(1):36–51. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-496>
15. Грачева А.В., Дроков А.О., Смирнова Д.С. и др. Вирулентность и тканевая специфичность разных эпидемически значимых вариантов SARS-CoV-2 для золотистых сирийских хомячков. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(4):470–82. Gracheva A.V., Drovkov A.O., Smirnova D.I., et al. Virulence and tissue tropism of different epidemiologically significant SARS-CoV-2 variants for golden Syrian hamsters. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2024;101(4):470–82. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-528> EDN: <https://elibrary.ru/jukmca>
 16. Грачева А.В., Корчевая Е.Р., Кудряшова А.М. и др. Адаптация МТТ-теста для определения нейтрализующих антител к вирусу SARS-CoV-2. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(3):253–65. Gracheva A.V., Korchevaya E.R., Kudryashova A.M., et al. Adaptation of the MTT assay for detection of neutralizing antibodies against the SARS-CoV-2 virus. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021;98(3):253–65. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-136> EDN: <https://elibrary.ru/jglovv>
 17. Ramakrishnan M. Determination of 50% endpoint titer using a simple formula. *World J. Virol.* 2016;5(2):85–6. DOI: <https://doi.org/10.5501/wjv.v5.i2.85>
 18. Gracheva A.V., Korchevaya E.R., Ammour Y.I., et al. Immunogenic properties of SARS-CoV-2 inactivated by ultraviolet light. *Arch. Virol.* 2022;167(11):2181–91. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05530-7>
 19. Chan J.F.W., Yip C.C.Y., To K.K.W., et al. Improved molecular diagnosis of COVID-19 by the novel, highly sensitive and specific COVID-19-RdRp/HeI real-time reverse transcription-PCR assay validated *in vitro* and with clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.* 2020;58(5):e00310–20. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00310-20>
 20. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123). Strasbourg;1986.
 21. Maassab H.F., DeBorde D.C. Development and characterization of cold-adapted viruses for use as live virus vaccines. *Vaccine*. 1985;3(5):355–69. DOI: [https://doi.org/10.1016/0264-410x\(85\)90124-0](https://doi.org/10.1016/0264-410x(85)90124-0)
 22. Smorodintsev A.A., Alexandrova G.I., Boychuck L.M., et al. Live vaccines against influenza, adenoviruses, measles, and mumps. *Arch. Environ. Health*. 1969;18(1):105–14. DOI: <https://doi.org/10.1080/00039896.1969.10665376>
 23. Rzechorzek N.M., Thrippleton M.J., Chappell F.M., et al. A daily temperature rhythm in the human brain predicts survival after brain injury. *Brain*. 2022;145(6):2031–48. DOI: <https://doi.org/10.1093/brain/awab466>
 24. Yoshida A., Okamura S., Torii S., et al. Versatile live-attenuated SARS-CoV-2 vaccine platform applicable to variants induces protective immunity. *iScience*. 2022;25(11):105412. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105412>
 25. Xu J., Liu M., Niu X., et al. The cold-adapted, temperature-sensitive SARS-CoV-2 strain TS11 is attenuated in Syrian hamsters and a candidate attenuated vaccine. *Viruses*. 2022;15(1):95. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15010095>
 26. Seo S.H., Jang Y. Cold-adapted live attenuated SARS-CoV-2 vaccine completely protects human ACE2 transgenic mice from SARS-Cov-2 infection. *Vaccines*. 2020;8(4):584. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines8040584>
 27. Акимкин В.Г., Попова А.Ю., Хафизов К.Ф. и др. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение II: динамика циркуляции геновариантов вируса SARS-CoV-2. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(4):381–96. Akimkin V.G., Popova A.Y., Khafizov K.F., et al. COVID-19: evolution of the pandemic in Russia. Report II: dynamics of the circulation of SARS-CoV-2 genetic variants. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2022;99(4):381–96. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-276> EDN: <https://elibrary.ru/zxgtdf>
 28. Ишмухаметов А.А., Синюгина А.А., Чумаков К.М. Разработка вакцинных препаратов для профилактики полиомиелита: современное состояние проблемы (обзор). *Современные технологии в медицине*. 2019;11(4):200–15. Ishmuhametov A.A., Sinyugina A.A., Chumakov K.M. The development of polio vaccines: the current update (review). *Modern Technologies in Medicine*. 2019;11(4):200–15. DOI: <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.4.22> EDN: <https://elibrary.ru/hbsplx>
 29. He D.C., He C.Q. Discovery of vaccine-like recombinant SARS-CoV-2 circulating in human. *Virol. J.* 2022;19(1):209. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01945-5>

Информация об авторах

Фаизулов Евгений Бахтиерович[✉] — д-р биол. наук, зав. лаб. прикладной вирусологии НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; старший преподаватель кафедры вирусологии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, Москва, Россия, faizuloev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7385-5083>

Грачева Анастасия Вячеславовна — н. с. лаб. прикладной вирусологии НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, anastasiia.gracheva.95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8428-4482>

Корчевая Екатерина Романовна — м. н. с. лаб. прикладной вирусологии НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, c.korchevaya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6417-3301>

Хохлова Дарья Михайловна — м. н. с. лаб. прикладной вирусологии НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, dasharose1995@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0003-5745-7589>

Масленникова Ася Сергеевна — м. н. с. лаб. прикладной вирусологии НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, asya.masletso@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0008-5123-4946>

Information about the authors

Evgeny B. Faizuloev[✉] — Dr. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of applied virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; senior lecturer, Department of virology, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia, faizuloev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7385-5083>

Anastasiia V. Gracheva — researcher, Laboratory of applied virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, anastasiia.gracheva.95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8428-4482>

Ekaterina R. Korchevaya — junior researcher, Laboratory of applied virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, c.korchevaya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6417-3301>

Daria M. Khokhlova — junior researcher, Laboratory of applied virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, dasharose1995@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0003-5745-7589>

Asya S. Maslennikova — junior researcher, Laboratory of applied virology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Mos-

Трифонова Татьяна Сергеевна — лаборант каф. биоинженерии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, trf.trifonova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2042-5244>

Кордюкова Лариса Валентиновна — д-р биол. наук, в. н. с. отдела хроматографического анализа НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, kord@belozersky.msu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6089-1103>

Моисеенко Андрей Владимирович — н. с. каф. биоинженерии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, postmoiseenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1112-2356>

Свитич Оксана Анатольевна — д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; профессор каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии Медико-профилактического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, svitichoa@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Зверев Виталий Васильевич — д-р биол. наук, профессор, академик РАН, научный руководитель НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Медико-профилактического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, vitalyzverev@outlook.com, <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>

Вклад авторов: *Файзулов Е.Б., Грачева А.В., Корчевая Е.Р.* — дизайн исследования, выполнение экспериментальной части, написание статьи; *Хохлова Д.М., Масленникова А.С.* — выполнение экспериментальной части; *Трифонова Т.С., Кордюкова Л.В., Моисеенко А.В.* — электронно-микроскопическое исследование вирусных препаратов; *Свитич О.А., Зверев В.В.* — концепция, редактирование статьи. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования, подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Статья поступила в редакцию 15.10.2025;
принята к публикации 23.12.2025;
опубликована online-first 05.03.2026

cow, Russia, asya.masletso@mail.ru, https://orcid.org/0009-0008-5123-4946

Tatiana S. Trifonova — laboratory assistant, Department of bioengineering, Faculty of biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, trf.trifonova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2042-5244>

Larisa V. Kordyukova — Dr. Sci. (Biol.), leading researcher, Department of chromatographical analysis, A.N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, kord@belozersky.msu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6089-1103>

Andrey V. Moiseenko — researcher, Department of bioengineering, Faculty of biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, postmoiseenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1112-2356>

Oxana A. Svitich — Dr. Sci. (Med.), Professor, Academician of the RAS, Head, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; Professor, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, svitichoa@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Vitaly V. Zverev — Dr. Sci. (Biol.), Professor, Academician of the RAS, Scientific Adviser, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; Head, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, vitalyzverev@outlook.com, <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>

Authors' contribution: *Fayzulov E.B., Gracheva A.V., Korchevaya E.R.* — study design, experimental part, article writing; *Khokhlova D.M., Maslennikova A.S.* — experimental part execution; *Trifonova T.S., Kordyukova L.V., Moiseenko A.V.* — electron microscopic study of viral preparations; *Svitich O.A., Zverev V.V.* — article concept and editing. All authors made a significant contribution to the study, article preparation, read and approved the final version before publication. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a final approval of the version to be published.

The article was submitted 15.10.2025;
accepted for publication 23.12.2025;
published online-first 05.03.2026