

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-148-155

УДК 616.98:578.834.1

А.В. Шиповалов, Г.А. Кудров, А.А. Томилов, С.А. Боднев, Н.Д. Болдырев, А.С. Овчинникова,
А.В. Зайковская, О.С. Таранов, О.В. Пьянков, Р.А. Максютлов

ИЗУЧЕНИЕ ВОСПРИИМЧИВОСТИ ЛИНИЙ МЫШЕЙ К ВЫЗЫВАЮЩИМ ОБЕСПОКОЕННОСТЬ ВАРИАНТАМ ВИРУСА SARS-CoV-2

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Российская Федерация

Целью работы явилось изучение восприимчивости мышей разных линий к вновь возникающим вариантам вируса SARS-CoV-2. **Материалы и методы.** В работе использовали штаммы вируса SARS-CoV-2, относящиеся к вызывающим обеспокоенность (VOC) вариантам, циркулирующим на территории РФ. Эксперименты проводили на трех инбредных линиях мышей (BALB/c, CBA и C57Bl/6z) и аутбредных мышках CD1, полученных из питомника ГНЦ ВБ «Вектор». Инфекционный титр коронавируса в образцах тканей, полученных от лабораторных животных, определяли на культуре клеток Vero E6. Дополнительным параметром контроля вирусной нагрузки в пробах считали пороговое значение Ct в ОТ-ПЦР. Тяжесть поражения тканей легких оценивали по гистологическим препаратам. **Результаты и обсуждение.** Изучена восприимчивость различных линий мышей к генетическому варианту бета вируса SARS-CoV-2. При интраназальном заражении мышей инбредных линий и аутбредных мышей штаммами вариантов VOC в дозе $2 \cdot 10^3$ ЦПД₅₀ показано размножение вируса в легких с максимальными значениями концентраций через 72 часа после заражения. Исследована патогенность генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 для мышей линии BALB/c, определена 50 % инфицирующая доза при интраназальном заражении (ИД₅₀), гистологический анализ показал специфические для COVID-19 поражения тканей легкого инфицированных животных. Наше исследование подтверждает, что мыши линии BALB/c могут использоваться в качестве модельного животного в скрининговых исследованиях при оценке эффективности терапевтических препаратов и вакцин, изучении патогенеза, вызванного вариантами вируса SARS-CoV-2: альфа (B.1.1.7), бета (B.1.351), гамма (P.1), омикрон (B.1.1.529) и им подобными.

Ключевые слова: COVID-19, вирус SARS-CoV-2, вызывающие обеспокоенность варианты (VOC), 50 % инфицирующая доза, интраназальное заражение, модельное животное, мыши BALB/c.

Корреспондирующий автор: Шиповалов Андрей Владимирович, e-mail: shipovalov_av@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Томилов А.А., Боднев С.А., Болдырев Н.Д., Овчинникова А.С., Зайковская А.В., Таранов О.С., Пьянков О.В., Максютлов Р.А. Изучение восприимчивости линий мышей к вызывающим обеспокоенность вариантам вируса SARS-CoV-2. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 1:148–155. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-148-155

Поступила 02.02.2022. Принята к публ. 14.03.2022.

A.V. Shipovalov, G.A. Kudrov, A.A. Tomilov, S.A. Bodnev, N.D. Boldyrev, A.S. Ovchinnikova,
A.V. Zaikovskaya, O.S. Taranov, O.V. P'yankov, R.A. Maksyutov

Susceptibility to SARS-CoV-2 Virus Variants of Concern in Mouse Models

State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation

Abstract. The aim of the research was to assess the susceptibility of mice of different lines to newly emerging variants of SARS-CoV-2. **Materials and methods.** The SARS-CoV-2 virus strains belonging to variants of concern (VOC) circulating in the territory of the Russian Federation were used in the study. Experiments involved three inbred mouse lines (BALB/c, CBA and C57Bl/6z) and CD1 outbred mice taken from the nursery of the SSC VB "Vector" of the Rospotrebnadzor. The infectious titer of coronavirus in tissue samples obtained from the laboratory animals was determined on a Vero E6 cell culture. The (Ct) threshold value in RT-PCR was considered an additional parameter for monitoring the viral load in the samples. The severity of lung tissue damage was assessed using histological preparations. **Results and discussion.** The susceptibility of various mouse lines to the genetic variant Beta of the SARS-CoV-2 virus has been investigated. During intranasal infection of the inbred and outbred mice with strains of VOC at a dose of $2 \cdot 10^3$ TCID₅₀, the virus replicated in the lungs with maximum concentrations 72 hours after infection. The pathogenicity of genetic variants of the SARS-CoV-2 virus for BALB/c mice has been assessed, a 50 % infectious dose for intranasal infection (ID₅₀) determined. Histological analysis showed COVID-19-specific lung tissue lesions in infected animals. Our study proves that BALB/c mice can be used as a model animal in screening studies when evaluating the effectiveness of therapeutic, vaccine preparations and studying the pathogenesis caused by VOC of the SARS-CoV-2 virus: Alpha (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gamma (P.1), Omicron (B.1.1.529) and the like.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, variants of concern (VOC), 50 % infectious dose, intranasal infection, model animal, BALB/c mice.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Andrey V. Shipovalov, e-mail: shipovalov_av@vector.nsc.ru.

Citation: Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Tomilov A.A., Bodnev S.A., Boldyrev N.D., Ovchinnikova A.S., Zaikovskaya A.V., Taranov O.S., P'yankov O.V., Maksyutov R.A. Susceptibility to SARS-CoV-2 Virus Variants of Concern in Mouse Models. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:148–155. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-148-155

Received 02.02.2022. Accepted 14.03.2022.

Shipovalov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1201-8307>
Kudrov G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8251-7040>
Tomilov A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5311-9783>
Bodnev S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0599-3817>
Boldyrev N.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8854-0287>

Ovchinnikova A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1745-7643>
Zaikovskaya A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0450-5212>
Taranov O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6746-8092>
P'yankov O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3340-8750>
Maksyutov R.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2577-0434>

С момента выявления первых случаев инфицирования человеческим коронавирусом в г. Ухань (Китай) в 2019 г. (hCoV-19) [1] Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) контролирует у вновь выявляемых вариантов изменения в геноме, способные привести к появлению новых нежелательных для здравоохранения свойств [2].

С конца 2020 г. стали поступать сообщения о появлении новых эпидемически значимых вариантов вируса SARS-CoV-2 в различных точках мира [3]. Представляющие опасность для всех возрастных групп, отличающиеся повышенной трансмиссивностью и вызывающие тяжелые формы заболевания генетические линии коронавируса получили название вариантов, вызывающих обеспокоенность (variant of concern, VOC). В октябре 2020 г. впервые идентифицированы варианты В.1.1.7 (альфа) в Великобритании и В.1.351 (бета) в Южной Африке, в январе 2021 г. в Бразилии выявлен вариант P.1 (гамма) [4] и в апреле 2021 г. в Индии – вариант В.1.617.2 (дельта) [5]. В данных генетических вариантах выявлены множественные изменения (делеции и замены) в S-белке по сравнению с референс-вариантом.

Наибольшую значимость имеют аминокислотные замены в рецептор-связывающем домене (RBD) S-белка. В вариантах альфа, бета и гамма выявлены мутации E484K, N501Y и D614G, увеличивающие сродство RBD к клеточному рецептору, которым является ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2) [6], что подтверждает увеличение трансмиссивности указанных генетических вариантов вируса SARS-CoV-2. В связи с данными аминокислотными заменами в RBD возникла вероятность снижения связывающей активности нейтрализующих антител, приобретенных как после заболевания, вызванного более ранним вариантом SARS-CoV-2, так и после вакцинации [7]. В то же время отсутствие значимых мутаций в положении E484K и N501Y, даже при наличии D614G в генетическом варианте дельта, приводит к снижению инфекционности [5].

Мышиная лабораторная модель является основной для скрининговых исследований эффективности терапевтических средств и вакцинных препаратов против большого числа вирусных инфекций. Первый зарегистрированный вариант В вируса SARS-CoV-2 не инфицирует линии мышей дикого типа и инбредных мышей из-за отсутствия аффинности S-белка и мышиного ACE2 [8]. Учитывая повышение патогенности новых вариантов, несущих аминокислотные замены E484K, N501Y и D614G, а также появление схожей мутации N501Y при длительном пассировании вируса SARS-CoV-2 на мышах [9, 10], не исключена вероятность естественного перехода вируса на мышей. В связи с этим существует необходимость

исследования патогенности новых генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 с мутациями E484K, N501Y и D614G на мышах.

Появление и быстрое распространение генетического варианта вируса SARS-CoV-2 В.1.1.529 (омикрон), имеющего более 30 мутаций в S-белке, вызвало предположения о возможной смене и/или вовлечении в эпидемический процесс нового хозяина [11]. Данные математического моделирования показали возможность S-белка более активно связываться с мышиным ангиотензинпревращающим рецептором (mACE2) [12]. Наличие аминокислотных замен E484A, N501Y и D614G в RBD S-белка нового варианта подтверждает ранее выдвинутую гипотезу об усилении восприимчивости мышей к новым вариантам вируса SARS-CoV-2 с этими мутациями [13].

В данной работе мы провели исследование восприимчивости инбредных линий (BALB/c, CBA и C57Bl/6z) и аутбредных CD1 мышей к вирусу SARS-CoV-2 на примере VOC бета, имеющего набор значимых аминокислотных замен поверхностного антигена, изучили патогенность различных генетических вариантов для мышей BALB/c как наиболее чувствительных к коронавирусу.

Материалы и методы

Вирусы. В работе использовали штаммы вируса SARS-CoV-2, относящиеся к вызывающим обеспокоенность вариантам, циркулирующим на территории РФ. Данные штаммы получены из Государственной коллекции микроорганизмов ГНЦ ВБ «Вектор». В качестве референсного использовали штамм hCoV-19/Australia/VIC01/2020 генетического варианта В вируса SARS-CoV-2, полученный из Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory (Мельбурн, Австралия). В табл. 1 приведены данные по принадлежности использованных в исследовании штаммов коронавируса к генетическим линиям и вариантам, вызывающим обеспокоенность, ID их нуклеотидных последовательностей в базе данных GISAID (<https://www.gisaid.org>), указаны мутации в RBD S-белка, ответственные за увеличение патогенности.

Использованные в работе генетические варианты SARS-CoV-2 выделены в культуре клеток Vero E6, аликвоты вируса из одной наработки (стока) были заморожены и хранились при температуре минус 70 °С. Титр стока составлял не менее 10⁶ ЦПД₅₀/мл. В каждом эксперименте использовали новую аликвоту из одного стока.

Культуры клеток. В работе использовали линию клеток Vero E6, полученную из коллекции культур клеток ГНЦ ВБ «Вектор». Выращивание монокультур клеток Vero E6 осуществляли в среде DMEM

Перечень используемых в экспериментах штаммов вируса SARS-CoV-2

List of SARS-CoV-2 virus strains used in the experiments

Штамм Strain	GISAID	Lineage	VOC	Мутации Mutations
hCoV-19/Australia/VIC01/2020	EPI_ISL_406844	B	Wuhan	Референс Reference
hCoV-19/Russia/MOS-2512/2020	EPI_ISL_6565012	B.1.1.7	Alpha	N501Y D614G
hCoV-19/Russia/MOS-SAB-1502/2021	EPI_ISL_6492245	B.1.351	Beta	E484K N501Y D614G
hCoV-19/Russia/SA-17620-080521/2021	EPI_ISL_6565014	P.1	Gamma	E484K N501Y D614G
hCoV-19/Russia/MOS-2406/2021	EPI_ISL_7338789	B.1.617.2	Delta	D614G
hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021	EPI_ISL_8920444	B.1.1.529	Omicron	E484A N501Y D614G

(Gibco, США) с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (HyClone, США) и комплексного антибиотика (Gibco, США). В качестве поддерживающей среды при культивировании вируса использовали ту же среду, но с 2 % эмбриональной сыворотки.

Животные. В экспериментах использовали мышей инбредных линий (BALB/c, CBA и C57Bl/6z) и аутбредных мышей CD1. В работе использовали самцов и самок с массой тела 18–20 г.

Мыши всех линий получены из Питомника лабораторных животных ГНЦ ВБ «Вектор». Акклиматизация к условиям эксперимента проведена в течение семи дней. После заражения мышей содержали в садках с HEPA-фильтром системы индивидуального содержания. Во время экспериментов температура в клетке поддерживалась от 22 до 24 °С, а относительная влажность воздуха – 40–55 %. Животные получали стандартный рацион с достаточным количеством воды.

Все эксперименты на животных были одобрены Биоэтическим комитетом Центра и проводились в соответствии с национальными и международными руководящими принципами по уходу и гуманному использованию животных.

Исследование восприимчивости линий мышей к SARS-CoV-2. Использовали шесть групп животных, по 12 мышей линий C57Bl/6z, BALB/c, CBA и CD1 в каждой. Заражение производили интраназальной инокуляцией вируса в объеме 20 мкл, дозой 3,3 lg ТЦПД₅₀, под инъекционным внутримышечным наркозом Zoletil 100 (Virbac, Франция) из расчета 40 мг/кг. После инокуляции животные рассаживались по четыре особи одной линии в садки с системой индивидуальной вентиляции. Через 72, 120 и 168 часов после заражения (часов ПЗ) по четыре особи каждой линии подвергали эвтаназии методом трансцервикальной дислокации, производили вскрытие с забором тканей носовых ходов и легких

для определения содержания РНК методом ОТ-ПЦР и концентрации инфекционного вируса методом титрования на культуре клеток Vero E6. Из тканей носовых ходов и легких подготавливали 10 % гомогенаты на 1 мл среды DMEM, после производили отбор аликвот от каждого образца для ПЦР-анализа и титрования живого вируса на культуре клеток. Затем гомогенаты подвергали немедленной заморозке и хранению при температуре минус 70 °С.

Определение патогенности по ИД₅₀ генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 на мышах линии BALB/c. Животные линии BALB/c были разделены на четыре группы по 12 голов из расчета одна группа на одно 10-кратное разведение вируса. Заражение производили интраназальной инокуляцией вируса в объеме 20 мкл, серийными 10-кратными разведениями рабочих стоков вирусов, под внутримышечным наркозом Zoletil 100 (Virbac, Франция) из расчета 40 мг/кг. Группы по шесть животных на каждую дозу заражения помещались в садки с системой индивидуальной вентиляции. Через 72 часа ПЗ все животные подвергались эвтаназии методом трансцервикальной дислокации. Забор органов для определения вирусной нагрузки в тканях носовой полости и легких и гистологической оценки патологических изменений проводили в соответствии с правилами асептики.

Для определения титров вируса в легких 50 мг легочной ткани сначала гомогенизировали с помощью шариковой мельницы (Analytical Jena, Германия), затем осветляли путем центрифугирования при 10000 об/мин с использованием ротора SW28 (Beckman Coulter, High Wycombe, Великобритания), готовили последовательные 10-кратные разведения и титр вируса определяли по методу Рида – Менча в ЦПД₅₀/мл [14].

Определение РНК вируса SARS-CoV-2 в биологических образцах методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Для выделения РНК использовали набор «РИБО-преп» («АмплиСенс», Россия). Синтез

кДНК из выделенной РНК проводили реагентами для реакции обратной транскрипции «Реверта-L» (ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Набор реагентов «Вектор-ПЦРРВ-COVID19-RG» (ГНЦ ВБ «Вектор», Россия) использовали для амплификации фрагментов кДНК вируса SARS-CoV-2. Результаты исследования интерпретировали в соответствии с инструкцией производителя.

Определение инфекционного титра вируса SARS-CoV-2 в биологических образцах на перевиваемой культуре клеток Vero E6. Клетки Vero E6 высевали за 24 часа до заражения в 96-луночные планшеты с посевной дозой $1,5 \cdot 10^4$ клетки/луночка. В день эксперимента были сделаны последовательные 10-кратные разведения вируса в среде DMEM (Gibco, США) с добавлением 2 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (HyClone, США) и комплексного антибиотика (Gibco, США), в общей сложности от шести до восьми лунок были заражены каждым разведением вируса. После 72-часовой инкубации клетки фиксировали 4 % раствором забуференного формалина с последующим окрашиванием 0,1 % кристаллическим фиолетовым. Специфическое поражение монослоя культуры клеток в лунке учитывали как цитопатическое действие (ЦПД). Расчет титра вируса проводили по формуле Рида – Менча и выражали в \lg ЦПД₅₀/мл.

Гистологические исследования. Забор органов от инфицированных животных осуществляли через 120 часов ПЗ. Образцы фиксировали в 10 % растворе забуференного формалина («Биовитрум», Россия) для гистологических исследований в течение 48 часов. Обработку материала проводили по общепринятой методике: последовательное обезживание в этиловом спирте возрастающей концентрации, пропитывание в смеси ксилол+парафин и заливка в парафиновые блоки. Парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм готовили с помощью автоматического ротационного микротомы HM-360 (Германия). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Светооптическое исследование и микрофотосъемку проводили на микроскопе AxioImager Z1 (Zeiss, Германия) с использованием программного пакета AxioVision 4.8.2 этого же производителя. Оценку

распространенности и степени выраженности патологических проявлений инфекции проводили при анализе сканов серийных срезов, полученных на цифровом сканере микропрепаратов Olympus SlideView VS200 (Olympus, Германия; программный пакет VS200ASW 3.2).

Статистическую обработку результатов проводили программой Statistica v13.0.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследована восприимчивость мышинных линий C57Bl/6z, BALB/c, CBA и CD1 к варианту SARS-CoV-2, изучена способность вируса вызывать патологические изменения в тканях верхних и нижних дыхательных путей мыши, схожие с таковыми у человека. Для заражения использован VOC бета, как имеющий обе аминокислотные замены E484K и N501Y в RBD S-белка, которые, по прогностической оценке, усиливали рецепторную специфичность вируса к мышинному рецептору ACE2.

Восприимчивость исследуемых линий мышей к варианту бета оценивали по наличию инфекционного вируса в тканях носовой полости и/или легких инфицированных мышей. Полученные результаты приведены в графическом виде на рис. 1.

Анализ полученных результатов (рис. 1) показывает, что все используемые в исследовании линии мышей восприимчивы к инфекции, вызываемой вариантом бета вируса SARS-CoV-2, содержащим аминокислотные замены E484K и N501Y. Наибольшие значения вирусной нагрузки в тканях носовой полости и легких мышей всех линий зафиксированы через 72 часа ПЗ. При сравнении инфекционного титра среди разных линий можно отметить, что у мышей линии BALB/c зарегистрированы наибольшие значения $3,0 \lg$ ЦПД₅₀/мл и $3,5 \lg$ ЦПД₅₀/мл для носовой полости и легких инфицированных мышей соответственно. У других трех линий мышей инфекционный титр имеет примерно одинаковые значения в тканях носовой полости и легких. Через 120 часов ПЗ инфекционный титр гомогенатов органов мышей линий C57Bl/6z и CD1 был на уровне предела обнаружения ($\leq 0,5 \lg$ ЦПД₅₀/мл). В этот же период наблюдения

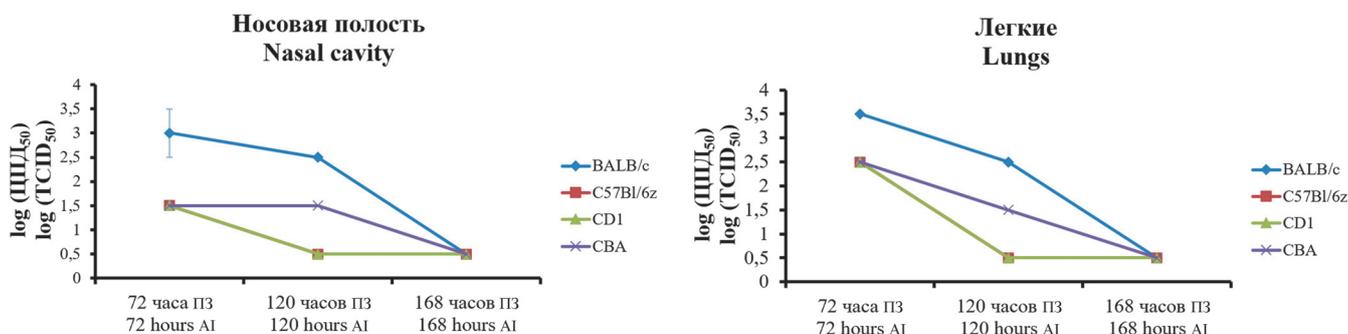


Рис. 1. Вирусная нагрузка в гомогенатах тканей носовой полости и легких по результатам титрования на культуре клеток Vero E6 в разные периоды наблюдения после заражения вариантом бета вируса SARS-CoV-2 (ПЗ – после заражения)

Fig. 1. Viral load in the homogenates of nasal cavity and lung tissues according to the results of titration on Vero E6 cell culture at different stages of observation after infection with Beta variant of the SARS-CoV-2 virus (AI – after infection)

вирусная нагрузка для мышей BALB/c и CBA имела средние значения 2,5 lg ЦПД₅₀/мл и 1,5 lg ЦПД₅₀/мл для носовой полости и 2,5 lg ЦПД₅₀/мл и 1,5 lg ЦПД₅₀/мл для легких мышей соответственно. Через 168 часов ПЗ инфекционный вирус не обнаруживался в тканях носовой полости и легких мышей.

Из четырех исследованных линий на восприимчивость к вирусу SARS-CoV-2 при интраназальном заражении наибольшая вирусная нагрузка в тканях носовой полости и легких была определена для мышей BALB/c, что указывает на их чувствительность к VOC бета. Поэтому для изучения патогенности нескольких генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 были использованы мыши этой линии.

Основной характеристикой патогенности возбудителя является значение 50 % инфицирующей дозы. Для определения параметра ИД₅₀ при интраназальном способе заражения мышей линии BALB/c использовали референс-штамм и пять генетических вариантов, имеющих значимые аминокислотные замены в S-белке. Результаты изучения патогенности различных инфицирующих доз для пяти VOC вируса SARS-CoV при интраназальном заражении представлены в табл. 2.

В табл. 3 приведены значения 50 % инфицирующих доз (ИД₅₀) вариантов VOC SARS-CoV-2 для интраназально зараженных мышей линии BALB/c, определенные по наличию вируса в тканях носовой

полости и/или легких мышей (варианты дельта и референс-штамм hCoV-19/Australia/VIC01/2020 (Ухань) не патогенны для мышей при интраназальном заражении).

Другим показателем патогенности вируса SARS-CoV-2 является тяжесть поражения тканей легкого инфицированного животного. Для изучения патоморфологических изменений использовали мышей линии BALB/c, зараженных серией десятикратных разведений вируса SARS-CoV-2 варианта VOC бета, с последующей гистологической оценкой препаратов. В результате исследования выявили ряд патологических изменений: дистелектаз, диффузные кровоизлияния, единичные лимфоцитарные инфильтраты.

При анализе гистологических препаратов наблюдалась прямая зависимость площади кровоизлияний от вирусной нагрузки, что подтверждает взаимосвязь данных изменений с патологическим действием генетического варианта бета на легкие мышей линии BALB/c. Степень распространенности геморрагического синдрома коррелировала с инфицирующей дозой вируса. Снижение площади дистелектаза обусловлено увеличением площади геморрагий.

Такой признак воспаления, как клеточная инфильтрация, был слабо выражен. Клеточная инфильтрация бронха и стенок сосудов находилась в прямой

Таблица 2 / Table 2

Патогенность генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 для мышей линии BALB/c при интраназальном заражении различными дозами вариантов вируса SARS-CoV-2

Pathogenicity of genetic variants of the SARS-CoV-2 virus for BALB/c mice in case of intranasal infection with different doses of SARS-CoV-2 virus variants

Генетические варианты Genetic variants		Ухань Wuhan		Альфа Alpha		Бета Beta		Гамма Gamma		Дельта Delta		Омикрон Omicron	
Титр стока (ЦПД ₅₀ /мл) Titer of a virus stock (TCID ₅₀ /ml)		5,6 lg		5,9 lg		5,6 lg		5,4 lg		3,8 lg		3,95 lg	
Разведение Dilution	Параметр Parameter	носовые ходы nasal passages											
		легкие lungs	легкие lungs										
-4	Ct*	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0
	Тинф** Tinf	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5
-3	Ct	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0
	Тинф Tinf	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5
-2	Ct	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	30,18±11,5	26,90±9,7	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0
	Тинф Tinf	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	1,5±0,0	2,5±0,0	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5
-1	Ct	40,00±0	40,00±0	31,88±6,6	31,41±1,2	22,99±3,3	22,38±1,4	22,23±2,7	30,73±7,4	40,00±0	40,00±0	32,97±2,69	39,67±0,8
	Тинф Tinf	≤0,5	≤0,5	1,5±0,0	1,5±0,0	3,0±0,5	3,0±0,5	3,0±0,5	1,5±0,0	≤0,5	≤0,5	1,5±0,0	≤0,5

Примечания: *Ct – cycle threshold. При значении Ct>40,00 РНК в пробе отсутствует. **Тинф – инфекционный титр (lg ЦПД₅₀/мл). Предел обнаружения инфекционного вируса в пробах путем титрования на культуре клеток Vero E6 ≤0,5 lg ЦПД₅₀/мл.

Note: *Ct – cycle threshold. If Ct>40,00, there is no RNA in the sample. **Tinf – Infectious titer (lg TCID₅₀/ml). The limit of detection of an infectious virus in samples by titration on Vero E6 cell culture ≤0,5 lg TCID₅₀/ml.

Таблица 3 / Table 3

50 % инфицирующая доза (ИД₅₀) вариантов вируса SARS-CoV-2, определенная для интраназально зараженных мышей линии BALB/c
 50 % infectious dose (ID₅₀) of SARS-CoV-2 virus variants determined for intranasally infected BALB/c mice

Штамм/вариант вируса SARS-CoV-2 Strain/variant of SARS-CoV-2 virus	Альфа Alpha	Бета Beta	Гамма Gamma	Омикрон Omicron
50 % инфицирующая доза (ИД ₅₀), ЦПД ₅₀ , p≤0,05 50 % infectious dose (ID ₅₀), TCID ₅₀ , p≤0,05	1529±2	199±1,6	47,5±1,8	14,1±1,6

зависимости с дозой заражения. Инфильтрация стенки альвеол имела место, но без видимой взаимосвязи с инфицирующей дозой. В виде единичных находок также определялись сладж эритроцитов в сосудах и периваскулярный отек. На рис. 2 представлены примеры патологических изменений, выявленных в тканях легкого мышей линии BALB/c, зараженных вариантом бета вируса SARS-CoV-2, в зависимости от инфицирующей дозы.

Основным морфологическим проявлением COVID-19 в легких человека является диффузное альвеолярное повреждение тканей легких в сочетании с вовлечением в патологический процесс сосудистого русла и альвеолярно-геморрагическим синдромом [15]. Выявление подобных признаков протекания заболевания у мышей, зараженных вирусом SARS-CoV-2, говорит об адекватности выбранной животной модели для изучения возбудителя новой коронавирусной инфекции. Среди патологических изменений в легких мышей преобладал при-

знак геморрагии, что нетипично для других животных моделей (хомяк и приматы), применяемых при моделировании заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, где преимущественно выявлялся признак лимфоцитарной инфильтрации.

В нашем исследовании четыре VOC вируса SARS-CoV-2 показали патогенность для мышей. Кроме того, отмечено, что для линии BALB/c исследованные генетические варианты наиболее патогенны. Межвидовой переход без предварительной адаптации новых генетических вариантов, по всей видимости, может быть обусловлен заменами E484K и/или N501Y в RBD S-белка, которые присутствуют в исследованных нами вариантах альфа, бета, гамма и омикрон. Отсутствие этих замен в референтштамме линии B и варианте дельта обуславливает невосприимчивость мышей всех изученных в данной работе линий.

Следует отметить, что математическое моделирование [12], предполагавшее увеличение сродства

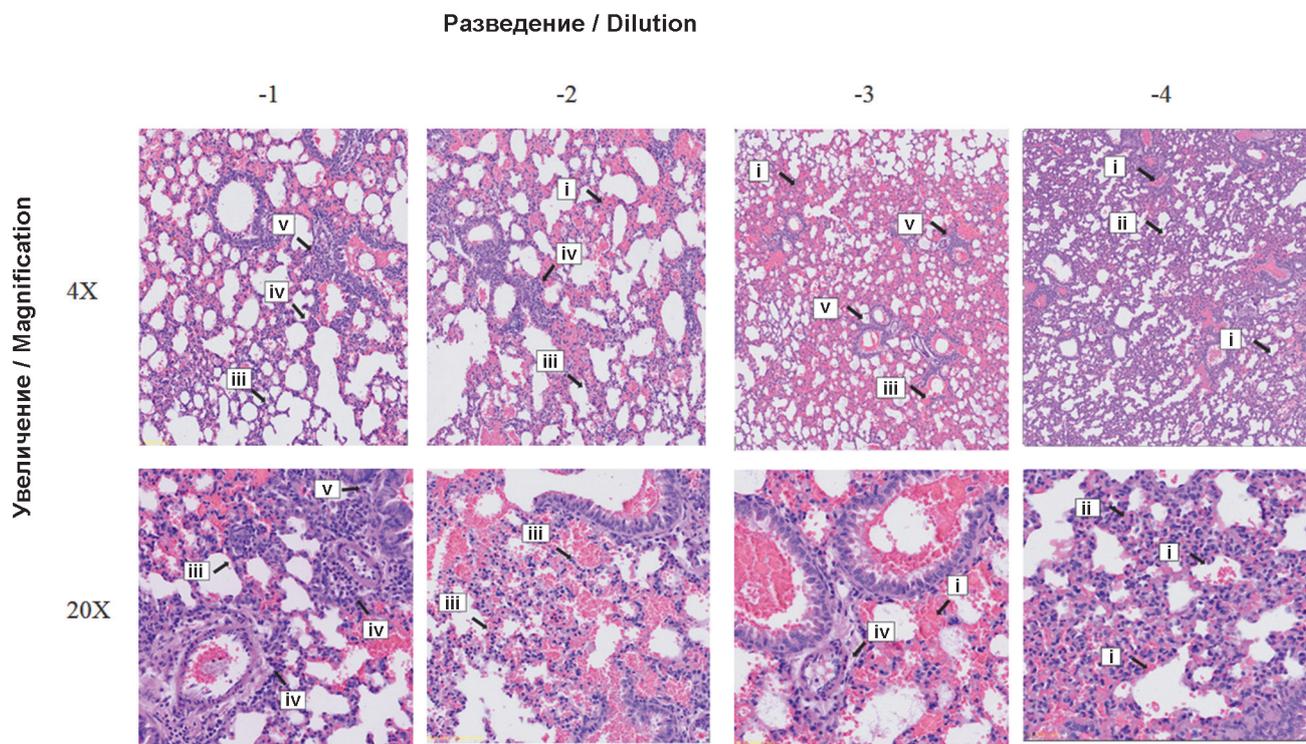


Рис. 2. Гистологические срезы легких мышей BALB/c, зараженных вирусом SARS-CoV-2 (вариант бета). Окраска – гематоксилин и эозин. Стрелки указывают: (i) кровоизлияние, (ii) дистелектаз, (iii) инфильтрация стенки альвеол, (iv) инфильтрация стенки сосудов, (v) инфильтрация стенки бронхов. Горизонтальная ось: 10-кратное разведение при заражении. Вертикальная ось: кратность увеличения

Fig. 2. Histological sections of the lungs of BALB/c mice infected with SARS-CoV-2 virus (variant Beta). Staining – hematoxylin and eosin. Arrows indicate: (i) hemorrhage, (ii) distelectasis, (iii) infiltration of the alveolar wall, (iv) infiltration of the vascular wall, (v) infiltration of the bronchial wall. Horizontal axis: 10x dilution during infection. Vertical axis: magnification multiplicity

RBD S-белка варианта омикрон к мышному рецептору ACE2, подтверждается полученным нами значением $ID_{50}=(14,1\pm 1,6)$ ЦПД₅₀ для мышей инбредной линии BALB/c.

Полученные результаты свидетельствуют, что мыши линии BALB/c могут использоваться в качестве модельного животного в скрининговых исследованиях при оценке эффективности терапевтических, вакцинных препаратов и изучении патогенеза инфекции, вызванной вариантами VOC вируса SARS-CoV-2: альфа (B.1.1.7), бета (B.1.351), гамма (P.1), омикрон (B.1.1.529) и им подобными.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы

1. Wu D., Wu T., Liu Q., Yang Z. The SARS-CoV-2 outbreak: what we know. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 94:44–8. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.03.004.
2. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ). [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/ru> (дата обращения 06.03.2022).
3. Фактологический бюллетень – SARS-CoV-2, вариант, вызывающий обеспокоенность (VOC). [Электронный ресурс]. URL: <https://www.euro.who.int/ru/health-topics/health-emergencies/coronavirus-covid-19/publications-and-technical-guidance/2021/factsheet-sars-cov-2-variant-of-concern-voc,-february-2021-produced-by-who/europe> (дата обращения 06.03.2022).
4. Zhou D., Dejnirattisai W., Supasa P., Liu C., Mentzer A.J., Ginn H.M., Zhao Y., Duyvesteyn H.M.E., Tuekprakhon A., Nutalai R., Wang B., Paesen G.C., Lopez-Camacho C., Slon-Campos J., Hallis B., Coombes N., Bewley K.R., Charlton S., Walter T.S., Skelly D., Lumley S.F., Dold C., Levin R., Dong T., Pollard A.J., Knight J.C., Crook D., Lambe T., Clutterbuck E., Bibi S., Flaxman A., Bittaye M., Belij-Rammerstorfer S., Gilbert S., James W., Carroll M.W., Klennerman P., Barnes E., Dunachie S.J., Fry E.E., Mongkolsapaya J., Ren J., Stuart D.I., Srean G.R. Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B.1.351 from natural and vaccine-induced sera. *Cell*. 2021; 184(9):2348–61. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.037.
5. Investigation of SARS-CoV-2 variants of concern: technical briefings. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.gov.uk/government/publications/investigation-of-novel-sars-cov-2-variant-variant-of-concern-20201201> (дата обращения 06.03.2022).
6. Supasa P., Zhou D., Dejnirattisai W., Liu C., Mentzer A.J., Ginn H.M., Zhao Y., Duyvesteyn H.M.E., Nutalai R., Tuekprakhon A., Wang B., Paesen G.C., Lopez-Camacho C., Slon-Campos J., Hallis B., Coombes N., Bewley K.R., Charlton S., Walter T.S., Barnes E., Dunachie S.J., Skelly D., Lumley S.F., Baker N., Shaik I., Humphries H.E., Godwin K., Gent N., Sienkiewicz A., Dold C., Levin R., Dong T., Pollard A.J., Knight J.C., Klennerman P., Crook D., Lambe T., Clutterbuck E., Bibi S., Flaxman A., Bittaye M., Belij-Rammerstorfer S., Gilbert S., Hall D.R., Williams M.A., Paterson N.G., James W., Carroll M.W., Fry E.E., Mongkolsapaya J., Ren J., Stuart D.I., Srean G.R. Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B.1.1.7 variant by convalescent and vaccine sera. *Cell*. 2021; 184(8):2201–11.e7. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.033.
7. Li Q., Nie J., Wu J., Zhang L., Ding R., Wang H., Zhang Y., Li T., Liu S., Zhang M., Zhao C., Liu H., Nie L., Qin H., Wang M., Lu Q., Li X., Liu J., Liang H., Shi Y., Shen Y., Xie L., Zhang L., Qu X., Xu W., Huang W., Wang Y. SARS-CoV-2 501Y.V2 variants lack higher infectivity but do have immune escape. *Cell*. 2021; 184(9):2362–71.e9. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.042.
8. Boudewijns R., Thibaut H.J., Kaptein S.J.F., Li R., Vergote V., Seldeslachts L., De Keyser C., Bervoets L., Sharma S., Van Weyenberg J., Liesenborghs L., Ma J., Jansen S., Van Looveren D., Verduyse T., Jochmans D., Wang X., Martens E., Roose K., De Vlioger D., Schepens B., Van Buyten T., Jacobs S., Liu Y., Marti-Carreras J., Vanmechelen B., Wawina-Bokalanga T., Delang L., Rocha-Pereira J., Coelmont L., Chiu W., Leyssen P., Heylen E., Schols D., Wang L., Close L., Matthijssens J., Van Ranst M., Compennolle V., Schramm G., Van Laere K., Saelens X., Callewaert N., Opdenakker G., Maes P., Weynand B., Cawthorne C., Velde G.V., Wang Z., Neyts J., Dallmeier K. STAT2 signaling as double-edged sword restricting viral dissemination but driving severe pneumonia in SARS-CoV-2 infected hamsters. *bioRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.04.23.056838.
9. Gu H., Chen Q., Yang G., He L., Fan H., Deng Y.Q., Wang Y., Teng Y., Zhao Z., Cui Y., Li Y., Li X.F., Li J., Zhang N.N., Yang X.,

Chen S., Guo Y., Zhao G., Wang X., Luo D.Y., Wang H., Yang X., Li Y., Han G., He Y., Zhou X., Geng S., Sheng X., Jiang S., Sun S., Qin C.F., Zhou Y. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. *Science*. 2020; 369(6511):1603–7. DOI: 10.1126/science.abc4730.

10. Rathnasinghe R., Jangra S., Cupic A., Martínez-Romero C., Mulder L.C.F., Kehrler T., Yildiz S., Choi A., Mena I., De Vriese J., Aslam S., Stadlbauer D., Meekins D.A., McDowell C.D., Balaraman V., Richt J.A., De Geest B.G., Miorin L., Krammer F., Simon V., Garcia-Sastre A., Schotsaert M. The N501Y mutation in SARS-CoV-2 spike leads to morbidity in obese and aged mice and is neutralized by convalescent and post-vaccination human sera. *medRxiv*. 2021; 2021.01.19.21249592. DOI: 10.1101/2021.01.19.21249592.

11. Diamond M., Halfmann P., Maemura T., Iwatsuki-Horimoto K., Iida S., Kiso M., Scheaffer S., Darling T., Joshi A., Loeber S., Foster S., Ying B., Whitener B., Floyd K., Ujie M., Nakajima N., Ito M., Wright R., Uraki R., Li R., Sakai Y., Liu Y., Larson D., Osorio J., Hernandez-Ortiz J., Ciudodis K., Florek K., Patel M., Bateman A., Odle A., Wong L.Y., Wang Z., Edara V.V., Chong Z., Thackray L., Ueki H., Yamayoshi S., Imai M., Perlman S., Webby R., Seder R., Suthar M., Garcia-Sastre A., Schotsaert M., Suzuki T., Boon A., Kawaoka Y., Douek D., Molliva J., Sullivan N., Gagne M., Ransier A., Case J., Jeevan T., Franks J., Fabrizio T., DeBeauchamp J., Kercher L., Seiler P., Singh G., Warang P., Gonzalez-Reiche A.S., Sordillo E., van Bakel H., Simon V. The SARS-CoV-2 B.1.1.529 Omicron virus causes attenuated infection and disease in mice and hamsters. *Res Sq*. 2021; rs.3.rs-1211792. DOI: 10.21203/rs.3.rs-1211792/v1.

12. Wei C., Shan K.J., Wang W., Zhang S., Huan Q., Qian W. Evidence for a mouse origin of the SARS-CoV-2 Omicron variant. *J. Genet. Genomics*. 2021; 48(12):1111–21. DOI: 10.1016/j.jgg.2021.12.003.

13. Li Q., Nie J., Wu J., Zhang L., Ding R., Wang H., Zhang Y., Li T., Liu S., Zhang M., Zhao C., Liu H., Nie L., Qin H., Wang M., Lu Q., Li X., Liu J., Liang H., Shi Y., Shen Y., Xie L., Zhang L., Qu X., Xu W., Huang W., Wang Y. SARS-CoV-2 501Y.V2 variants lack higher infectivity but do have immune escape. *Cell*. 2021; 184(9):2362–71.e9. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.042.

14. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am. J. Hyg.* 1938; 27(3):493–7. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408.

15. Зайратьянц О.В., редактор. Патологическая анатомия COVID-19. Атлас. М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ»; 2020. 140 с.

References

1. Wu D., Wu T., Liu Q., Yang Z. The SARS-CoV-2 outbreak: what we know. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 94:44–8. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.03.004.
2. World Health Organization (WHO). (Cited 06 Mar 2022). [Internet]. Available from: <https://www.who.int/ru>.
3. Fact sheet – SARS-CoV-2, variant of concern (VOC). (Cited 06 Mar 2022). [Internet]. Available from: <https://www.euro.who.int/ru/health-topics/health-emergencies/coronavirus-covid-19/publications-and-technical-guidance/2021/factsheet-sars-cov-2-variant-of-concern-voc,-february-2021-produced-by-who/europe>.
4. Zhou D., Dejnirattisai W., Supasa P., Liu C., Mentzer A.J., Ginn H.M., Zhao Y., Duyvesteyn H.M.E., Tuekprakhon A., Nutalai R., Wang B., Paesen G.C., Lopez-Camacho C., Slon-Campos J., Hallis B., Coombes N., Bewley K.R., Charlton S., Walter T.S., Skelly D., Lumley S.F., Dold C., Levin R., Dong T., Pollard A.J., Knight J.C., Crook D., Lambe T., Clutterbuck E., Bibi S., Flaxman A., Bittaye M., Belij-Rammerstorfer S., Gilbert S., James W., Carroll M.W., Klennerman P., Barnes E., Dunachie S.J., Fry E.E., Mongkolsapaya J., Ren J., Stuart D.I., Srean G.R. Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B.1.351 from natural and vaccine-induced sera. *Cell*. 2021; 184(9):2348–61. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.037.
5. Investigation of SARS-CoV-2 variants of concern: technical briefings. (Cited 06 Mar 2022). [Internet]. Available from: <https://www.gov.uk/government/publications/investigation-of-novel-sars-cov-2-variant-variant-of-concern-20201201>.
6. Supasa P., Zhou D., Dejnirattisai W., Liu C., Mentzer A.J., Ginn H.M., Zhao Y., Duyvesteyn H.M.E., Nutalai R., Tuekprakhon A., Wang B., Paesen G.C., Slon-Campos J., Lopez-Camacho C., Hallis B., Coombes N., Bewley K.R., Charlton S., Walter T.S., Barnes E., Dunachie S.J., Skelly D., Lumley S.F., Baker N., Shaik I., Humphries H.E., Godwin K., Gent N., Sienkiewicz A., Dold C., Levin R., Dong T., Pollard A.J., Knight J.C., Klennerman P., Crook D., Lambe T., Clutterbuck E., Bibi S., Flaxman A., Bittaye M., Belij-Rammerstorfer S., Gilbert S., Hall D.R., Williams M.A., Paterson N.G., James W., Carroll M.W., Fry E.E., Mongkolsapaya J., Ren J., Stuart D.I., Srean G.R. Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B.1.1.7 variant by convalescent and vaccine sera. *Cell*. 2021; 184(8):2201–11.e7. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.033.
7. Li Q., Nie J., Wu J., Zhang L., Ding R., Wang H., Zhang Y., Li T., Liu S., Zhang M., Zhao C., Liu H., Nie L., Qin H., Wang M., Lu Q., Li X., Liu J., Liang H., Shi Y., Shen Y., Xie L., Zhang L., Qu X., Xu W., Huang W., Wang Y. SARS-CoV-2 501Y.V2 variants lack higher infectivity but do have immune escape. *Cell*. 2021; 184(9):2362–71.e9. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.042.
8. Boudewijns R., Thibaut H.J., Kaptein S.J.F., Li R., Vergote V., Seldeslachts L., De Keyser C., Bervoets L., Sharma S., Van Weyenberg J., Liesenborghs L., Ma J., Jansen S., Van Looveren D., Verduyse T., Jochmans D., Wang X., Martens E., Roose K., De Vlioger D., Schepens B., Van Buyten T., Jacobs S., Liu Y., Marti-Carreras J., Vanmechelen B., Wawina-Bokalanga T., Delang L., Rocha-Pereira J., Coelmont L., Chiu W., Leyssen P., Heylen E., Schols D., Wang L., Close L., Matthijssens J., Van Ranst M., Compennolle V., Schramm G., Van Laere K., Saelens X., Callewaert N., Opdenakker G., Maes P., Weynand B., Cawthorne C., Velde G.V., Wang Z., Neyts J., Dallmeier K. STAT2 signaling as double-edged sword restricting viral dissemination but driving severe pneumonia in SARS-CoV-2 infected hamsters. *bioRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.04.23.056838.
9. Gu H., Chen Q., Yang G., He L., Fan H., Deng Y.Q., Wang Y., Teng Y., Zhao Z., Cui Y., Li Y., Li X.F., Li J., Zhang N.N., Yang X.,

ants lack higher infectivity but do have immune escape. *Cell*. 2021; 184(9):2362–71. e9. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.042.

8. Boudewijns R., Thibaut H.J., Kaptein S.J.F., Li R., Vergote V., Seldeslachts L., De Keyser C., Bervoets L., Sharma S., Van Weyenbergh J., Liesenborghs L., Ma J., Jansen S., Van Looveren D., Vercruyse T., Jochmans D., Wang X., Martens E., Roose K., De Vlioger D., Schepens B., Van Buyten T., Jacobs S., Liu Y., Marti-Carreras J., Vanmechelen B., Wawina-Bokalanga T., Delang L., Rocha-Pereira J., Coelmont L., Chiu W., Leyssen P., Heylen E., Schols D., Wang L., Close L., Matthijssens J., Van Ranst M., Compennolle V., Schramm G., Van Laere K., Saelens X., Callewaert N., Opendakker G., Maes P., Weynand B., Cawthorne C., Velde G.V., Wang Z., Neyts J., Dallmeier K. STAT2 signaling as double-edged sword restricting viral dissemination but driving severe pneumonia in SARS-CoV-2 infected hamsters. *bioRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.04.23.056838.

9. Gu H., Chen Q., Yang G., He L., Fan H., Deng Y.Q., Wang Y., Teng Y., Zhao Z., Cui Y., Li Y., Li X.F., Li J., Zhang N.N., Yang X., Chen S., Guo Y., Zhao G., Wang X., Luo D.Y., Wang H., Yang X., Li Y., Han G., He Y., Zhou X., Geng S., Sheng X., Jiang S., Sun S., Qin C.F., Zhou Y. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. *Science*. 2020; 369(6511):1603–7. DOI: 10.1126/science.abc4730.

10. Rathnasinghe R., Janra S., Cupic A., Martínez-Romero C., Mulder L.C.F., Kehrer T., Yildiz S., Choi A., Mena I., De Vrieze J., Aslam S., Stadlbauer D., Meekins D.A., McDowell C.D., Balaraman V., Richt J.A., De Geest B.G., Miorin L., Krammer F., Simon V., Garcia-Sastre A., Schotsaert M. The N501Y mutation in SARS-CoV-2 spike leads to morbidity in obese and aged mice and is neutralized by convalescent and post-vaccination human sera. *medRxiv*. 2021; 2021.01.19.21249592. DOI: 10.1101/2021.01.19.21249592.

11. Diamond M., Halfmann P., Maemura T., Iwatsuki-Horimoto K., Iida S., Kiso M., Scheaffer S., Darling T., Joshi A., Loeber S., Foster S., Ying B., Whitener B., Floyd K., Ujie M., Nakajima N., Ito M., Wright R., Uraki R., Li R., Sakai Y., Liu Y., Larson D., Osorio J., Hernandez-Ortiz J., Ciuoderis K., Florek K., Patel M., Bateman A., Odle A., Wong L.Y., Wang Z., Edara V.V., Chong Z., Thackray L., Ueki H., Yamayoshi S., Imai M., Perlman S., Webby R., Seder

R., Suthar M., Garcia-Sastre A., Schotsaert M., Suzuki T., Boon A., Kawaoka Y., Douek D., Moliva J., Sullivan N., Gagne M., Ransier A., Case J., Jeevan T., Franks J., Fabrizio T., DeBeauchamp J., Kercher L., Seiler P., Singh G., Warang P., Gonzalez-Reiche A.S., Sordillo E., van Bakel H., Simon V. The SARS-CoV-2 B.1.1.529 Omicron virus causes attenuated infection and disease in mice and hamsters. *Res Sq*. 2021; rs.3.rs-1211792. DOI: 10.21203/rs.3.rs-1211792/v1.

12. Wei C., Shan K. J., Wang W., Zhang S., Huan Q., Qian W. Evidence for a mouse origin of the SARS-CoV-2 Omicron variant. *J. Genet. Genomics*. 2021; 48(12):1111–21. DOI: 10.1016/j.jgg.2021.12.003.

13. Li Q., Nie J., Wu J., Zhang L., Ding R., Wang H., Zhang Y., Li T., Liu S., Zhang M., Zhao C., Liu H., Nie L., Qin H., Wang M., Lu Q., Li X., Liu J., Liang H., Shi Y., Shen Y., Xie L., Zhang L., Qu X., Xu W., Huang W., Wang Y. SARS-CoV-2 501Y.V2 variants lack higher infectivity but do have immune escape. *Cell*. 2021; 184(9):2362–71. e9. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.042.

14. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am. J. Hyg.* 1938; 27(3):493–7. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408.

15. Zayrat'yants O.V., editor. [Pathological Anatomy of COVID-19. Atlas]. Moscow; 2020. 140 p.

Authors:

Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Tomilov A.A., Bodnev S.A., Boldyrev N.D., Ovchinnikova A.S., Zaikovskaya A.V., Taranov O.S., Pyankov O.V., Maksyutov R.A. State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Об авторах:

Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Томилов А.А., Боднев С.А., Болдырев Н.Д., Овчинникова А.С., Зайковская А.В., Таранов О.С., Пьянков О.В., Максютлов Р.А. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.