

Генетическая характеристика производственных штаммов вирусов кори, краснухи и паротита методом высокопроизводительного секвенирования

А.И. Желтухина¹ , А.Б. Комиссаров^{1,✉} , А.В. Фадеев¹ , Н.Д. Ёлшин¹ ,
М.М. Писарева¹ , В.А. Едер¹ , М. Коржанова¹ , А.Д. Ксенафонов¹ ,
А.А. Передерий¹ , О.В. Охлопкова¹ , Л.А. Саушкина² , Е.В. Шведова² ,
Е.А. Гришина² , Д.А. Лиознов¹ 

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Профессора Попова, д. 15/17, Санкт-Петербург, 197376, Российская Федерация

² Акционерное общество «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген», 2-й Волконский переулок, д. 10, Москва, 127473, Российская Федерация

✉ Комиссаров Андрей Борисович; andrey.komissarov@influenza.spb.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Спонтанные мутации часто возникают и накапливаются в геноме РНК-содержащих вирусов, таких как вирусы кори, краснухи и паротита. Современные требования к производству вакцинных препаратов, содержащих живые вакцинные штаммы вирусов, предполагают контроль генетической стабильности производственных штаммов. Метод высокопроизводительного секвенирования позволяет выявить все мутации, возникшие в вирусной популяции, и оценить генетическую стабильность производственных штаммов. **ЦЕЛЬ.** Анализ нуклеотидных последовательностей геномов посевных и производственных штаммов вирусов кори (Ленинград-16), краснухи (RA-27/3) и паротита (Ленинград-3) в сравнении с референсными нуклеотидными последовательностями геномов вакцинных штаммов, депонированных ранее в базу данных GenBank.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В работе использовали посевные вирусы и производственные штаммы вакцин: коревая культуральная живая, паротитная культуральная живая и вакцина против краснухи культуральная живая. Проведено полногеномное секвенирование с использованием генетических анализаторов MGI DNBSEQ G-400 и Illumina NextSeq2000. Для обработки и анализа данных секвенирования использовали программы и инструменты FastQC v.0.12.1, FastP v.0.23.4, BWA-MEM2 v.2.2.1, VizCoV.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Анализ распространения однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) внутри вирусной популяции в исследованных образцах выявил ряд минорных вариантов, способных при дальнейшем накоплении привести к изменению консенсусных последовательностей белков вакцинных штаммов. В образцах вируса кори не выявлено полиморфизмов в белке Н, при этом обнаружен несинонимичный полиморфизм в белке F, встречающийся в 30,0–40,9% вирусных геномов. В капсидном белке С и в поверхностном гликопротеине Е2 вируса краснухи выявлены полиморфизмы, встречающиеся в вирусной популяции с частотой до 30%. В поверхностных антигенах — гемагглютинин-нейраминидаза HN и белок слияния F вируса паротита обнаружены полиморфизмы, встречающиеся в геномах менее чем в 20% вирусной популяции. Мутации в геномах производственных штаммов, которые могли бы оказывать влияние на иммуногенность вакцин против кори, краснухи и паротита, не найдены.

ВЫВОДЫ. Выявленный набор минорных вариантов с частотой встречаемости в популяции более 10%, которые при дальнейшем накоплении могут привести к изменению консенсусных последовательностей вакцинных штаммов, актуализирует задачу контроля стабильности вакцинных штаммов методом высокопроизводительного секвенирования.

Ключевые слова: корь; краснуха; паротит; вакцинный штамм; высокопроизводительное полногеномное секвенирование; SNP; NGS; геном вирусов; однонуклеотидный полиморфизм

Для цитирования: Желтухина А.И., Комиссаров А.Б., Фадеев А.В., Ёлшин Н.Д., Писарева М.М., Едер В.А., Коржанова М., Ксенафонтов А.Д., Передерий А.А., Охлопкова О.В., Саушкина Л.А., Шведова Е.В., Гришина Е.А., Лioзнов Д.А. Генетическая характеристика производственных штаммов вирусов кори, краснухи и паротита методом высокопроизводительного секвенирования. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2026;26(3):336–348. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-750>

Финансирование. Работа выполнена в рамках договора № 916/24 на выполнение научно-исследовательской работы между АО «НПО «Микроген» и ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России.

Потенциальный конфликт интересов. Научно-исследовательская работа была выполнена по заказу АО «НПО «Микроген». Л.А. Саушкина, Е.В. Шведова, Е.А. Гришина являются сотрудниками АО «НПО «Микроген». Однако при написании рукописи авторы руководствовались соображениями научной ценности полученного материала и заявляют о беспристрастности оценки полученных данных. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Genetic characterization of production strains of measles, rubella, and mumps viruses by high-throughput sequencing

Alyona I. Zheltukhina¹ , Andrey B. Komissarov¹ , Artem V. Fadeev¹ ,
Nikita D. Yolshin¹ , Maria M. Pisareva¹ , Veronika A. Eder¹ ,
Margarita Korzhanova¹ , Andrey D. Ksenafontov¹ , Alexander A. Perederiy¹ ,
Olesia V. Ohlopkova¹ , Lyudmila A. Saushkina² , Evgenia V. Shvedova² ,
Elena A. Grishina² , Dmitry A. Lioznov¹ 

¹ A.A. Smorodintsev Research Institute of Influenza, 15/17 Professor Popov St., St. Petersburg 197376, Russian Federation

² Scientific and Production Association Microgen, 10 2nd Volkonsky Lane, Moscow 127473, Russian Federation

✉ Andrey B. Komissarov; andrey.komissarov@influenza.spb.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. Spontaneous mutations often arise and accumulate in the genome of RNA-containing viruses, for example measles, rubella and mumps. Modern requirements for the production of vaccine products containing live vaccine viruses suggest control of the genetic stability of production strains. The method of high throughput sequencing allows to determine all mutations arisen in viral population, and to assess genetic stability of production strains.

AIM. Analysis of nucleotide sequence of the genomes of seed and production strains of measles (Leningrad-16), rubella (RA27/3) and mumps (Leningrad-3) viruses, in comparison with the reference nucleotide sequences of vaccine strains genomes (submitted in the GenBank database).

MATERIALS AND METHODS. Production strains of vaccines (measles culture live, rubella culture live and mumps culture live) were used in this study. Whole genome sequencing was performed using the MGI DNBSEQ G-400 and Illumina NextSeq2000 genetic analyzers. When processing and analyzing the sequencing data, the following programs and tools were used: FastQC v.0.12.1, FastP v.0.23.4, BWA-MEM2 v.2.2.1, VizCoV tool.

RESULTS. Analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) within the viral population in the studied samples revealed a number of minor variants that, and after further accumulation, may lead to changes in the consensus sequences of the vaccine strains proteins. For the studied measles virus samples, no SNPs were found in the main measles virus antigen H protein, however, a nonsynonymous polymorphism was detected in the F protein, occurring in 30.0–40.9% of the viral genomes. SNPs were found in the capsid protein C and in the surface glycoprotein E2 rubella virus, occurring in the viral population with a frequency of up to 30%. SNPs were found in surface antigens hemagglutinin neuraminidase HN and fusion protein F of mumps virus, occurring in the genomes of less than 20% of viral population. Mutations in the genomes of production strains that could affect the immunogenicity of measles, rubella, and mumps vaccines were not detected.

CONCLUSIONS. The identified set of minor variants with a frequency of occurrence in viral population of more than 10%, which, with further accumulation, can lead to changes in the consensus sequences of vaccine strains, makes the monitoring of vaccine strains stability using high-throughput sequencing relevant.

Keywords: measles; rubella; mumps; vaccine strain; whole genome sequencing; high-throughput sequencing; SNP; NGS; virus genome; single nucleotide polymorphism

For citation: Zheltukhina A.I., Komissarov A.B., Fadeev A.V., Yolshin N.D., Pisareva M.M., Eder V.A., Korzhanova M., Ksenafontov A.D., Perederiy A.A., Ohlopko O.V., Saushkina L.A., Shvedova E.V., Grishina E.A., Lioznov D.A. Genetic characterization of production strains of measles, rubella, and mumps viruses by high-throughput sequencing. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2026;26(3):336–348. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-750>

Funding. The study reported in this publication was supported by the JSC Scientific and Production Association for Medical Immunobiological Products Microgen (contract No. 916/24).

Disclosure. The research work was carried out by order of JSC Scientific and Production Association for Medical Immunobiological Products Microgen. L.A. Saushkina, E.V. Shvedova, E.A. Grishina are employees of JSC Scientific and Production Association for Medical Immunobiological Products Microgen. However, when writing the manuscript, the authors were guided by considerations of the scientific value of the obtained material and declare the impartiality of the assessment of the obtained data. Other authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Одними из самых распространенных высококонтагиозных вирусных заболеваний являются корь, краснуха и эпидемический паротит¹. Многолетний опыт эпидемиологического надзора за корью, краснухой и паротитом подтверждает высокую эффективность применяемой тактики вакцинопрофилактики данных инфекций². Известно, что в геноме РНК-содержащих вирусов, в том числе вирусов кори, краснухи и паротита, часто возникают и накапливаются спонтанные мутации [1]. Процесс производства вакцин также нередко сопровождается возникновением и накоплением мутаций в вакцинных штаммах, некоторые из которых способны привести к изменениям антигенных свойств вируса. Помимо вакцинных штаммов кори [2], краснухи [3] и паротита [4], это установлено и для других РНК-содержащих вирусов, против которых разработаны вакцины, например

для вакцинного штамма 17-D вируса желтой лихорадки [5], что, как следствие, может оказать отрицательное влияние на защитные функции препарата, а также привести к частичному восстановлению вирулентности вируса.

В настоящее время одним из требований к производству вакцинных препаратов, содержащих живые вакцинные штаммы вирусов, является контроль генетической стабильности производственных штаммов, рекомендованный руководством ICH³ и Государственной фармакопеей Российской Федерации (ГФ РФ) XIV изд.⁴ Для РНК-вирусов, в том числе для вирусов эпидемического паротита, кори и краснухи, характерно накопление мутаций при репликации, в результате которого препарат вируса представляет собой гетерогенную смесь молекул геномной РНК с отличающимися нуклеотидными последовательностями (квазивиды) [1, 6]. В зависимости от условий рост вируса как *in vitro*,

¹ Measles, mumps, rubella (MMR) vaccine safety. <https://www.cdc.gov/vaccine-safety/vaccines/mmr.html>

² МУ 3.1.2.1177–02 Эпидемиологический надзор за корью, краснухой и эпидемическим паротитом. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России; 2003.

³ ICH Q5D Derivation and characterization of cell substrates used for production of biotechnological/biological products. EMA; 1998.

⁴ ФС.3.3.1.0024.15 Вакцина против краснухи культуральная живая, лиофилизат для приготовления раствора для подкожного введения. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. 2018.

так и *in vivo* приводит к отбору различных субпопуляций, что может влиять на свойства вируса, включая вирулентность. Для некоторых вакцинных штаммов вируса эпидемического паротита (в частности, Urabe AM9) было показано возникновение вакцино-ассоциированных осложнений в результате частичного восстановления вирулентности, однако клинические случаи протекали легко и не приводили к неблагоприятным исходам [7, 8]. Поскольку вакцинные штаммы подвержены генетической изменчивости, которая может повлиять на их профиль безопасности, выяснение молекулярного механизма ослабления живых вакцин и путей их реверсии к вирулентности может помочь в разработке методов молекулярного контроля качества, что особенно важно в случае живой вакцины против эпидемического паротита [9].

Хотя в ряде исследований для вакцинных штаммов вирусов кори и краснухи была продемонстрирована высокая степень генетической стабильности в процессе длительного пассирования, в их геномах могут накапливаться минорные мутации, которые при дальнейшем накоплении могут привести к изменению консенсусных аминокислотных последовательностей вакцинных штаммов, что делает актуальной задачу периодического контроля стабильности вакцинных штаммов [4, 10–13]. В настоящее время стандартной практикой для решения этой задачи стало применение методов высокопроизводительного секвенирования (методов секвенирования нового поколения, далее NGS-секвенирование), которые обладают высокой чувствительностью и дают возможность определить даже минорные мутации, возникшие в вирусной популяции [11, 12, 14–16].

Высокопроизводительное полногеномное секвенирование позволяет не только осуществлять эпидемиологический надзор за социально значимыми инфекциями, но и проводить контроль качества при производстве вакцин с целью долгосрочного мониторинга стабильности, поскольку он обеспечивает высокую точность и раннее выявление новых вариантов, что подтверждают ранее проведенные исследования для вирусов кори и паротита [2, 17]. В отношении вакцинных штаммов краснухи отсутствуют исследования, в которых проводилось NGS-секвенирование данных штаммов, в том числе RA27/3 (исследования молекулярно-генетической характеристики данного штамма ограничены секвенированием по Сэнгеру). В то же время для некоторых вакцинных штаммов кори и паротита имеются данные об NGS-секвенировании и секвенировании по Сэнгеру [18, 19].

Для отечественных вакцинных штаммов кори (Ленинград-16) и паротита (Ленинград-3), которые входят в состав живых аттенуированных вакцин, применяемых на территории России, в настоящее время также доступны в GenBank только полные геномы, полученные методом капиллярного секвенирования по Сэнгеру. Таким образом, генетическая характеристика с оценкой генетической стабильности полногеномных последовательностей данных штаммов методами высокопроизводительного секвенирования, имеет важное практическое значение.

Цель работы – анализ нуклеотидных последовательностей геномов посевных и производственных штаммов вирусов кори (Ленинград-16), краснухи (RA-27/3) и паротита (Ленинград-3), в сравнении с референсными нуклеотидными последовательностями геномов вакцинных штаммов, ранее депонированных в базу данных GenBank.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнялось на базе лаборатории молекулярной вирусологии ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России в январе 2025 г.

Материалы

Исследуемые образцы. В работе использованы производственные штаммы трех культуральных живых вакцин против кори, краснухи и паротита. Производственные штаммы предоставлены АО «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген». В *таблице 1* представлена характеристика образцов, используемых в работе.

Методы

Выделение РНК исследованных образцов проводили с применением набора RNeasy Mini Kit (QIAGEN, Германия) согласно инструкции производителя, от каждого образца на выделение было взято 140 мкл. Предварительно лиофилизаты образцов CS1154, CS1159 и CS1160 были разведены в 1 мл питательной среды 199. Лиофилизат образца CS1157 был разведен в 1 мл питательной среды F-12/MEM.

Получение кДНК осуществляли методом обратной транскрипции с использованием M-MLV-ревертазы (набор Magnus Reverse transcriptase, «Евроген», Россия) согласно инструкции производителя. Амплификацию продуктов обратной транскрипции для последующего секвенирования осуществляли с использованием

Таблица 1. Используемые в исследовании производственные штаммы и посевные вирусы
Table 1. Production strains and seed viruses used in the study

Тип материала <i>Material type</i>	Штамм <i>Strain</i>	Серия <i>Series</i>	Дата изготовления <i>Production date</i>	№ <i>No.</i>	Пассажная история <i>Passage history</i>
Производственный штамм вакцины коревой* <i>Production strain of measles vaccine*</i>	Ленинград-16 <i>Leningrad-16</i>	10	05.1993 ГПМ/ <i>MSL</i>	CS1154	21 ПМС/ <i>ГПК</i> 4 ФЭП/ <i>QEF</i>
Посевной вирус для вакцины коревой* <i>Seed virus for measles vaccine*</i>	Ленинград-16 <i>Leningrad-16</i>	199	13.02.2003 РПМ/ <i>WSL</i>	CS1155	21 ПМС/ <i>ГПК</i> 6 ФЭП/ <i>QEF</i>
Посевной вирус для вакцины коревой* <i>Seed virus for measles vaccine*</i>	Ленинград-16 <i>Leningrad-16</i>	201	22.03.2006 РПМ/ <i>WSL</i>	CS1156	21 ПМС/ <i>ГПК</i> 6 ФЭП/ <i>QEF</i>
Производственный штамм вакцины против краснухи* <i>Production strain of rubella vaccine*</i>	RA-27/3	2	03.2008 ГПМ/ <i>MSL</i>	CS1157	26 WI-38 3 MRC-5**
Посевной вирус для вакцины против краснухи* <i>Seed virus for rubella vaccine*</i>	RA-27/3	4	26.10.2012 РПМ/ <i>WSL</i>	CS1158	26 WI-38 4 MRC-5**
Производственный штамм вакцины паротитной* <i>Production strain of mumps vaccine*</i>	Ленинград-3 <i>Leningrad-3</i>	6	08.1980 ГПМ/ <i>MSL</i>	CS1159	15 ПМС/ <i>ГПК</i> 4 ФЭП/ <i>QEF</i>
Производственный штамм вакцины паротитной* <i>Production strain of mumps vaccine*</i>	Ленинград-3 <i>Leningrad-3</i>	8	11.2006 ГПМ/ <i>MSL</i>	CS1160	15 ПМС/ <i>ГПК</i> 6 ФЭП/ <i>QEF</i>
Посевной вирус для вакцины паротитной* <i>Seed virus for mumps vaccine*</i>	Ленинград-3 <i>Leningrad-3</i>	76	04.2006 РПМ/ <i>WSL</i>	CS1161	15 ПМС/ <i>ГПК</i> 6 ФЭП/ <i>QEF</i>
Посевной вирус для вакцины паротитной* <i>Seed virus for mumps vaccine*</i>	Ленинград-3 <i>Leningrad-3</i>	69	11.2000 РПМ/ <i>WSL</i>	CS1162	15 ПМС/ <i>ГПК</i> 6 ФЭП/ <i>QEF</i>

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. ГПМ — главный посевной материал; РПМ — рабочий посевной материал; ПМС — почки морских свинок; ФЭП — фибробласты эмбрионов японского перепела.

* вакцина культуральная живая.

** диплоидные линии фибробластов легких человека WI-38 и MRC-5.

Note. MSL, master seed lot; WSL — working seed lot; GPK — guinea pig kidneys; QEF — Japanese quail embryo fibroblasts.

* live culture vaccine.

** diploid human lung fibroblast lines WI-38 and MRC-5.

набора «БиоМастер LR HS-ПЦР (2X)» (ООО «Биолабмикс», Россия) согласно инструкции производителя. Накопление кДНК для последующего секвенирования проводили с использованием методов SMART и SISPA, демонстрирующих высокую специфичность при тестировании как на клинических образцах, так и на изолятах возбудителей [20, 21]. Для образца кори CS1156 дополнительно проводилась независимая амплификация полного генома с применением специфичной праймерной панели для вируса кори для сравнения полученных консенсусных последовательностей и подтверждения воспроизводимости данных NGS-секвенирования.

После амплификации продуктов обратной транскрипции и их очистки для последующего секвенирования проводили оценку концентрации очищенных продуктов перед приготовлением библиотек. Объем каждого образца ДНК на вход в реакцию подбирали таким образом, чтобы концентрация ДНК всех образцов находилась в диапазоне от 50 до 80 нг/образец. Концентрации полученных ДНК-библиотек составили от 70,0 до 87,8 нг/мкл.

Подготовка библиотек и NGS-секвенирование.

Подготовка ДНК-библиотек проведена с использованием набора реагентов DNBSEQ VANTS Universal Plus DNA Library Prep Kit for MGI (Vazyme, КНР). Протокол включает предварительную очистку ДНК, ферментативную фрагментацию, лигирование адаптеров и амплификацию. Предварительную очистку продуктов амплификации методом SMART и SISPA проводили на магнитных частицах. Качество полученных ДНК-библиотек оценивали с использованием флуориметра Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США) и набора Equalbit dsDNA HS Assay Kit (Vazyme, КНР) для анализа двухцепочечной ДНК.

Далее ДНК-библиотеки пулировали по массе в равном соотношении. Готовые пулы проходили этап циркуляризации с использованием набора MGIEasy Circularization Kit (MGI, КНР). Приготовление ДНК-наночастиц из циркуляризованных библиотек и последующее секвенирование было выполнено с использованием набора реагентов для одноконцового прочтения и проточной ячейки DNBSEQ-G400RS

High-throughput Sequencing Set FCL SE100 (MGI, KHP) на секвенаторе MGI DNBSEQ G-400.

Для приготовления ДНК-библиотеки для NGS-секвенирования на платформе Illumina использовали набор реагентов Illumina DNA Prep и набор индексирующих олигонуклеотидов Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation. Секвенирование проводили на приборе Illumina NextSeq 2000 с использованием набора реагентов NextSeq 1000/2000 P2 Reagent Cartridge (100 Cycles).

Сборка и обработка данных секвенирования. Для оценки качества первичных данных секвенирования использовали программное обеспечение FastQC v.0.12.1 (лицензия GPL v3)⁵. Для фильтрации низкокачественных данных и адаптерных последовательностей применяли программное обеспечение FastP v.0.23.4 (лицензия MIT)⁶ [22]. Прочтения были картированы на эталонные последовательности вакцинных штаммов с использованием BWA-MEM2 v.2.2.1 (лицензия MIT) [23]. Для получения черновых консенсусных последовательностей по правилу наибольшей представленности использовали утилиту iVar v.1.4.3 (лицензия GPL v3)⁷ [24]. Глубина покрытия рассчитывалась с использованием samtools depth, с последующим построением графиков распределения покрытия с помощью библиотеки python matplotlib. Визуализацию графиков покрытий проводили с помощью инструмента VizCoV⁸.

Биоинформатический анализ полученных последовательностей. Проведено сравнение консенсусных последовательностей исследованных образцов с референсными последовательностями вакцинных штаммов из базы данных GenBank для кори (Ленинград-16, GenBank Acc. No. JF727649.1), краснухи (RA 27/3, GenBank Acc. No. JF727653.2) и паротита (Ленинград-3, GenBank Acc. No. JF727651.1). Данные референсные последовательности были ранее депонированы в GenBank компанией АО «НПО «Микроген» [25, 26].

Дополнительно проводился поиск однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) с использованием lofreq (лицензия MIT)⁹ [27]. Выявленные полиморфизмы с аллельной частотой более 50% далее применялись к черновой консенсусной последовательности с помощью bcftools consensus (лицензия GPL v3)¹⁰ [28] для получения финальной

сборки в формате fasta. Выявленные полиморфизмы с частотой встречаемости 10–50% в позициях с глубиной покрытия 20× и более использовались для анализа гетерогенности вирусной популяции в исследованных образцах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании было проведено секвенирование 9 образцов производственных штаммов и посевных вирусов для культуральных живых вакцин коревой и паротитной, а также вакцины против краснухи (табл. 1). Качество полученных сырых данных секвенирования для всех образцов было оценено как удовлетворительное, прочтения были картированы на эталонные последовательности вакцинных штаммов. В качестве целевой минимальной глубины покрытия было принято значение 20× [29, 30]. Позиции с глубиной прочтения ниже 20× рассматривались как неопределенные. Для всех образцов были получены консенсусные последовательности геномов. Данные по глубине покрытия геномов секвенированных образцов приведены в таблице 2. На рисунках 1–3 представлены графики покрытий.

Для всех образцов, кроме образцов вакцины против краснухи и производственного штамма коревой вакцины, удалось достичь медианного покрытия более 10000×, что соответствует ультраглубокому секвенированию [31]. Глубокое и ультраглубокое секвенирование позволяет проводить не только сравнение консенсусных последовательностей, но также и анализ минорных вариантов вируса в исследуемых образцах [32].

Для всех исследованных последовательностей не было выявлено нуклеотидных и аминокислотных различий между консенсусными последовательностями геномов главного и рабочего посевных материалов, что свидетельствует о генетической стабильности штаммов на данном этапе производства.

На рисунке 4 представлено распределение выявленных замен в геномах исследованных образцов главного посевного материала (ГПМ) и рабочего посевного материала (РПМ) вирусов кори, краснухи и паротита. Интересно отметить, что существуют как более консервативные блок-кодирующие участки геномов, в которых не были выявлены мутации и однонуклеотидные

⁵ <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>

⁶ <https://github.com/OpenGene/fastp>

⁷ <https://github.com/andersen-lab/ivar>

⁸ <https://github.com/LMV-NIC-St-Petersburg/VizCoV>

⁹ <https://github.com/CSB5/lofreq>

¹⁰ <https://github.com/samtools/bcftools>

Таблица 2 Данные по покрытию секвенированных образцов
Table 2. Sequenced sample coverage data

№ образца <i>Sample No.</i>	Штамм <i>Strain</i>	Количество прочтений на образец <i>Number of reads per sample</i>	Медианное покрытие <i>Median coverage</i>
CS1154	Вирус кори Ленинград-16 <i>Measles virus Leningrad-16</i>	1212956	8350×
CS1155		2912753	20700×
CS1156		2327286	16600×
CS1157	Вирус краснухи RA27/3 <i>Rubella virus RA27/3</i>	6168	64×
CS1158		8007	82×
CS1159	Вирус паротита Ленинград-3 <i>Mumps virus Leningrad-3 strain</i>	5206884	38100×
CS1160		4147086	31000×
CS1161		1977249	14100×
CS1162		4654467	35100×

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

полиморфизмы (SNP), так и наиболее вариабельные участки генома. Для исследованных образцов вируса кори (CS1154–CS1156) продемонстрировано, что наиболее консервативными участками генома оказались участки, кодирующие N-белок и H-белок, а для исследованных образцов вируса паротита (CS1159–CS1162) – участки, кодирующие Р-белок и М-белок. При этом для исследованных образцов вирусов краснухи (CS1157–CS1158) не выявлено генов, в которых не были бы выявлены нуклеотидные замены.

Сравнение консенсусных последовательностей из идентичных образцов вируса кори, амплифицированных разными методами. С целью

подтверждения выявленных замен было проведено сравнение консенсусных последовательностей генома вируса кори из образца CS1156, который был амплифицирован методом универсальной амплификации вирусных геномов SISPA и с использованием специфичной праймерной панели для вируса кори. Не выявлены отличия между консенсусными последовательностями исследованных образцов, амплифицированных разными методами (табл. 3).

Сравнение консенсусных последовательностей с референсными последовательностями, депонированными ранее в GenBank. В таблице 4 приведены нуклеотидные замены в белок-кодирующих

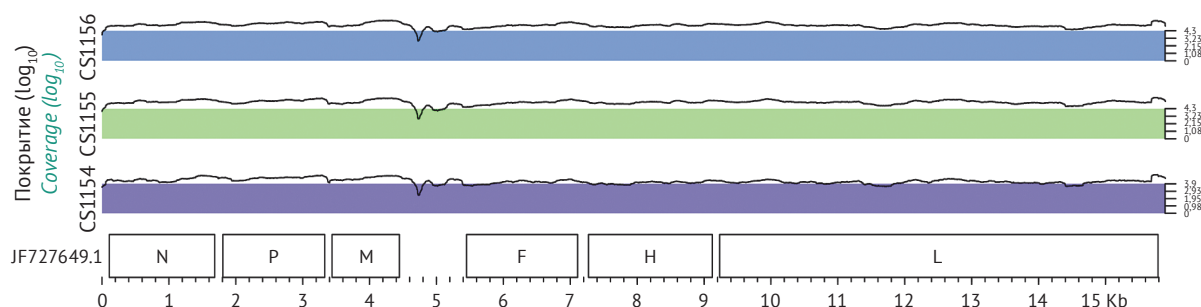


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Графики покрытия для исследованных образцов вируса кори (CS1154–CS1156).

Fig. 1. Coverage plots for the tested measles virus samples (CS1154–CS1156).

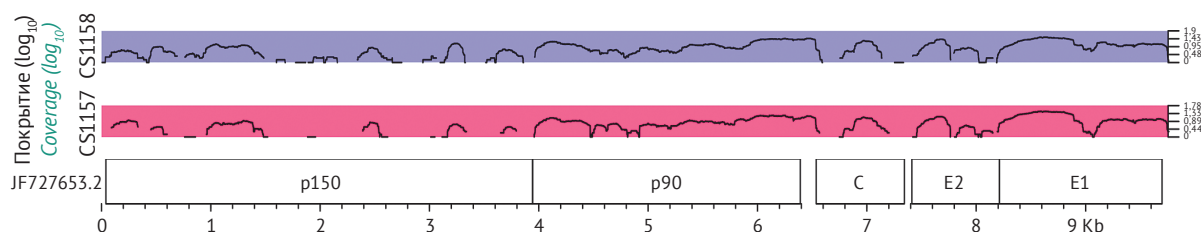


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 2. Графики покрытия для исследованных образцов вируса краснухи (CS1157–CS1158).

Fig. 2. Coverage plots for the tested rubella virus samples (CS1157–CS1158).

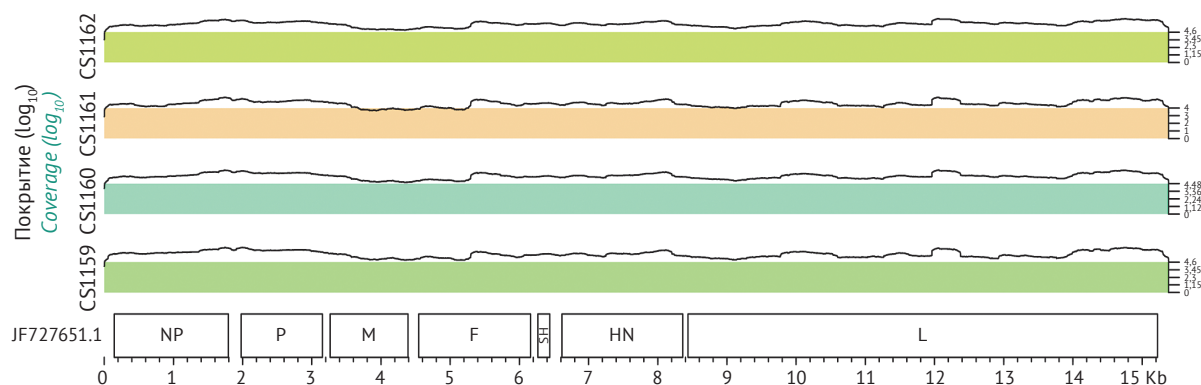


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 3. Графики покрытия для исследованных образцов вируса паротита (CS1159–CS1162).

Fig. 3. Coverage plots for the tested mumps virus samples (CS1159–CS1162).

участках генома вирусов кори, краснухи и паротита в исследованных образцах относительно референсных последовательностей вакцинных штаммов АО «НПО «Микроген» из базы данных GenBank. Аннотирование образцов проводилось на референсные последовательности кори (вакцинный штамм Ленинград-16, GenBank Acc. No., JF727649.1), краснухи (вакцинный штамм RA 27/3, GenBank, Acc. No. JF727653.2) и паротита (вакцинный штамм Ленинград-3, GenBank, Acc. No. JF727651.1).

Для исследованных образцов вируса кори (CS1154–CS1156) при сравнении с референсной последовательностью не выявлено аминокислотных замен, оказывающих влияние на антигенные свойства и иммуногенность, в том числе в Н-белке [33]. Также было выявлено 9 нуклеотидных замен в межгенных участках генома.

Из-за высокого содержания GC% в составе генома вируса краснухи, обусловленного

природой вируса, не удалось достигнуть достаточной 20× глубины покрытия в некоторых областях генома, что не позволило достоверно определить нуклеотидные полиморфизмы в позициях генома штаммов вируса краснухи 2018–2349, 2724–3003, 3799–3889, 6607–6709. Однако по данным литературы установлено, что такие области кодируют NS-белок и часть белка С и не затрагивают участки, кодирующие поверхностные гликопротеины вируса краснухи, определяющие его антигенные свойства [34, 35]. Анализ исследованных образцов вируса краснухи показал наличие миссенс-мутации С140W в аминокислотной последовательности NS-белка, не влияющей на антигенные свойства вакцинного вируса. Мутаций в межгенных участках генома не выявлено.

Анализ исследованных образцов вируса паротита (CS1159–CS1162) в сравнении с референсной последовательностью показал наличие миссенс-мутации в белке F (T239I),

Таблица 3. Сравнение мутаций и замен в белок-кодирующих участках генома вируса кори (образец CS1156), выявленных разными методами, относительно вакцинных штаммов

Table 3. Mutations and substitutions in protein coding genome sites of measles (sample CS1156) detected by different methods compared to vaccine strains

Метод амплификации <i>Amplification method</i>	Позиция в геноме <i>Genome position</i>	Аннотация <i>Annotation</i>	Кодируемые белки <i>Encoded proteins</i>	Покрытие <i>Coverage</i>	Замена нуклеотида <i>Nucleotide substitution</i>	Замена аминокислоты <i>Amino acid substitution</i>
Относительно вакцинного штамма кори Ленинград-16 (GenBank, Acc. No. JF727649.1) <i>Compared to Leningrad-16 measles vaccine strain (GenBank Acc. No. JF727649.1)</i>						
SISPA	2292	SS	Р-белок <i>P-protein</i>	14015×	с.486A>G	Нет <i>No</i>
Панель праймеров <i>Primer panel</i>				22892×		
SISPA	12521	SS	L-белок <i>L-protein</i>	8230×	с.3288A>C	Нет <i>No</i>
Панель праймеров <i>Primer panel</i>				20201×		

Таблица составлена авторами по собственным данным и данным GenBank / The table is prepared by the authors using their own data and GenBank data

Примечание. SS – синонимичная замена; SISPA – сиквенс-независимая амплификация с использованием одного праймера.

Note. SS, synonymous substitution; SISPA, Sequence-Independent, Single-Primer Amplification.

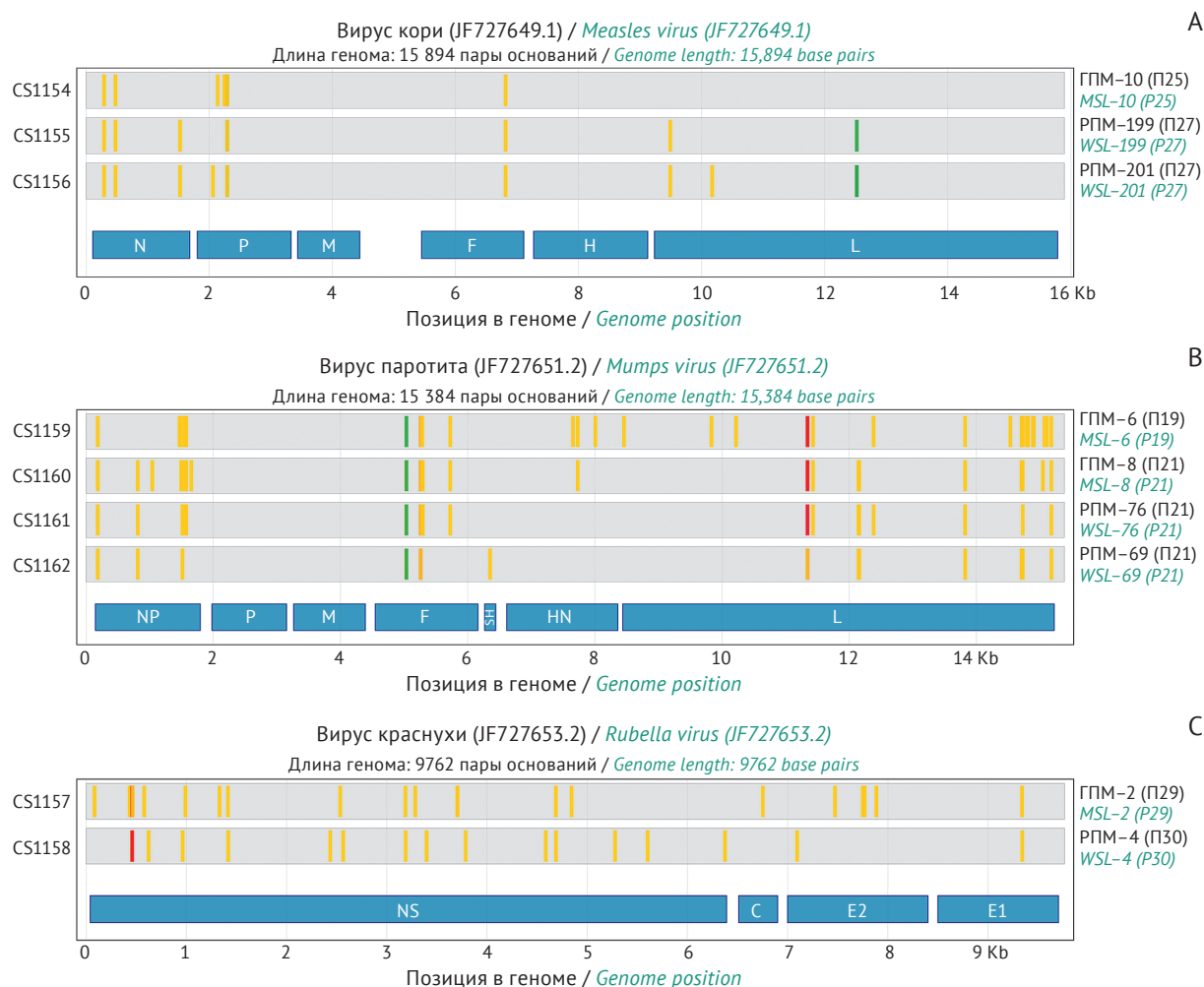


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 4. Распределение выявленных мутаций и однонуклеотидных полиморфизмов в геномах исследованных образцов вирусов: А – кори (CS1154–CS1156), В – паротита (CS1159–CS1162), С – краснухи (CS1157–CS1158). Желтым цветом отмечены минорные мутации, красным – миссенс-мутации, зеленым – синонимичные замены. ГПМ – главный посевной материал; РПМ – рабочий посевной материал.

Fig. 4. Distribution of identified single nucleotide polymorphisms in the genomes of the measles virus (CS1154–CS1156) (A), mumps virus (CS1159–CS1162) (B) and rubella virus (CS1157–CS1158) (C) specimens. Minor mutations are marked in yellow, missense mutations are marked in red, and synonymous substitutions are marked in green. MSL, master seed lot; WSL, working seed lot.

однако данная замена находится вне сайтов гликозилирования и не относится к нейтрализующим эпитопам [36]. В настоящее время отсутствуют данные литературы, свидетельствующие о возможном влиянии такой замены на антигенные свойства штаммов вируса паротита и их иммуногенность. Помимо указанной замены было выявлено 3 нуклеотидные замены в некодирующих областях генома.

Анализ минорных полиморфизмов в вирусной популяции в исследованных образцах. Проведен анализ распространения SNP внутри вирусной популяции в исследованных образцах. Аннотирование образцов проводилось на те же

референсные последовательности вирусов кори, краснухи и паротита, которые использовались для выявления нуклеотидных замен в белок-кодирующих участках генома. Выявлен ряд минорных вариантов, которые при дальнейшем накоплении могут привести к изменению консенсусных аминокислотных последовательностей белков вакцинных штаммов (табл. S1–S3, онлайн-приложение 1 опубликовано на сайте журнала¹¹).

В результате анализа полиморфизмов внутри вирусной популяции в исследованных образцах вируса кори (CS1154–CS1156) был выявлен полиморфизм в белке F, приводящий

¹¹ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-750-annex>

Таблица 4. Мутации и замены в белок-кодирующих участках генома вирусов кори, краснухи и паротита в исследованных образцах относительно вакцинных штаммов**Table 4.** Mutations and substitutions in protein-coding genome sites of measles, rubella and mumps virus specimens compared to vaccine strains

Образец <i>Sample</i>	Позиция в геноме <i>Genome position</i>	Аннотация <i>Annotation</i>	Кодируемые белки <i>Encoded proteins</i>	Покрывтие <i>Coverage</i>	Замена нуклеотида <i>Nucleotide substitution</i>	Замена аминокислоты <i>Amino acid substitution</i>
Относительно вакцинного штамма кори Ленинград-16 (GenBank, Acc. No. JF727649.1) <i>Compared to Leningrad-16 measles vaccine strain (GenBank Acc. No. JF727649.1)</i>						
CS1154	2292	SS	Р-белок <i>P-protein</i>	15396×	с.486A>G	Нет <i>No</i>
CS1155				21463×		
CS1156				20437×		
CS1155	12521	SS	L-белок <i>L-protein</i>	9106×	с.3288A>C	Нет <i>No</i>
CS1156				29070×		
CS1156				20187×		
Относительно вакцинного штамма краснухи RA 27/3 (GenBank, Acc. No. JF727653.2) <i>Compared to RA 27/3 rubella vaccine strain (GenBank Acc. No. JF727653.2)</i>						
CS1157	460	MM	NS-белок <i>NS-protein</i>	26×	с.420C>G	C140W
CS1158				9×		
CS1156	12521	SS	NS-белок <i>NS-protein</i>	42×	с.3141T>C	Нет <i>No</i>
CS1156				9×		
Относительно вакцинного штамма паротита Ленинград-3 (GenBank, Acc. No. JF727651.2) <i>Compared to Leningrad-3 mumps vaccine strain (GenBank Acc. No. JF727651.2)</i>						
CS1159	5037	SS	F-белок <i>F-protein</i>	7474×	с.492G>A	Нет <i>No</i>
CS1160				6989×		
CS1161				2858×		
CS1162				8920×		
CS1159	5261	MM	F-белок <i>F-protein</i>	7227×	с.716C>T	T239I
CS1160				7854×		
CS1161				3299×		
CS1162				10544×		
CS1159	11345	MM	L-белок <i>L-protein</i>	24436×	с.2908G>T	V970L
CS1160				19613×		
CS1161				8591×		
CS1162				24831×		

Таблица составлена авторами по собственным данным и данным GenBank / The table is prepared by the authors using their own data and GenBank data

Примечание. SS — синонимичная замена; MM — миссенс-мутация.

Note. SS, synonymous substitution; MM, missense mutation.

к аминокислотной замене S456P (доля вирусных геномов с такой заменой в образцах составляла 30,0–40,9%; данные приведены в таблице S1, онлайн-приложение 1), однако для замены S456P отсутствуют данные литературы о ее возможном влиянии на иммуногенность вакцинного штамма

[37, 38]. Важно подчеркнуть, что для исследованных образцов вируса кори не выявлено наличие полиморфизмов в белке Н, который является главным антигеном вируса кори [39]. Стоит отметить, что в участках, кодирующих Р-белок и L-белок, были выявлены замены в геномах всех

исследованных образцов, что также согласуется с данными литературы о том, что распределение мутаций в геноме вируса кори происходит не случайным образом, а имеет определенную закономерность [2].

Для исследованных образцов вируса краснухи (CS1157–CS1158) были выявлены полиморфизмы в капсидном белке (С-белок) и в поверхностном гликопротеине E2, встречающиеся в вирусной популяции с частотой до 30% (табл. S2, онлайн-приложение 1). Хотя имеются данные о выявлении нейтрализующих антител как к гликопротеинам E1 и E2, так и к С-белку вируса краснухи [40], анализ данных литературы показал отсутствие информации о влиянии аминокислотных замен в С-белке на иммуногенность вакцинного штамма [41]. Для аминокислотных замен T413I и G458V в белке E2 также отсутствуют данные литературы об их влиянии на иммуногенность [35].

Для исследованных образцов вируса паротита (CS1159–CS1162) были выявлены полиморфизмы в гемагглютинин-нейраминидазе (белок HN) и белке слияния (белок F), которые играют важную роль в формировании иммунного ответа (табл. S3, онлайн-приложение 1). Замены N348T и R373P в белке HN, к которым приводят полиморфизмы, находятся вне известных потенциальных сайтов гликозилирования и участков, изменения в которых могли бы оказывать влияние на иммуногенность вакцинных штаммов [42]. Для аминокислотных замен в белке F (I163T, L250V и I394R), возникающих в результате имеющихся полиморфизмов, отсутствуют данные литературы о влиянии этих замен на иммуногенность вакцинных штаммов [42]. Остальные структурные белки (NP, P, M, SH и L) вируса паротита не играют важной роли в формировании иммунного ответа, в связи с чем анализ выявленных в них полиморфизмов не проводился.

Следует отметить, что для образцов РПМ кори (CS1155 и CS1156) и паротита (CS1160–CS1162) с одинаковой пассажной историей наблюдались

некоторые отличия в наборе однонуклеотидных полиморфизмов, вероятно, возникшие при пассировании ГПМ для получения РПМ в разные годы с использованием различного сырья (разные партии питательных сред, разные серии клеточных линий и др.), не приводящие к изменениям в консенсусных последовательностях.

ВЫВОДЫ

1. Отличия между нуклеотидной последовательностью геномов исходных производственных штаммов вирусов кори, краснухи, паротита и соответствующих посевных вирусов не обнаружены.
2. Выявленный набор минорных вариантов нуклеотидных замен с частотой встречаемости в вирусной популяции более 10%, которые при дальнейшем накоплении могут привести к изменению консенсусных аминокислотных последовательностей вакцинных штаммов, делает актуальной задачу периодического контроля стабильности вакцинных штаммов методом высокопроизводительного секвенирования на различных этапах производственного процесса (ГПМ, РПМ).
3. Использование высокопроизводительного секвенирования позволило не только оценить стабильность производственных штаммов кори, краснухи и паротита после пассирования, но и оценить гетерогенность вирусных популяций производственных штаммов и посевных вирусов кори (Ленинград-16), краснухи (RA-27/3) и паротита (Ленинград-3) на данных этапах культивирования. При этом выявленные минорные нуклеотидные полиморфизмы внутри вирусных популяций по имеющимся данным литературы не оказывают влияния на иммуногенность штаммов.
4. Анализ результатов исследования демонстрирует эффективность метода высокопроизводительного секвенирования для оценки генетической стабильности производственных штаммов вирусов.

Литература/References

1. Shirogane Y, Watanabe S, Yanagi Y. Cooperation between different RNA virus genomes produces a new phenotype. *Nat Commun.* 2012;3:1235. <https://doi.org/10.1038/ncomms2252>
2. Leber MF, Hoyer B, Prien S, et al. Sequencing of serially passaged measles virus affirms its genomic stability and reveals a nonrandom distribution of consensus mutations. *J Gen Virol.* 2020;101(4):399–409. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001395>
3. Дмитриев ГВ, Борисова ТК, Файзулов ЕБ и др. Изучение молекулярных механизмов аттенуации вируса краснухи на примере отечественного штамма С-77. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2012;(3):28–34. EDN: PUJLXL Dmitriev GV, Borisova TK, Faizuloev EB, et al. A study of molecular mechanisms of rubella virus attenuation evidenced from the Russian C-77 strain. *Mol Genet Microbiol Virol.* 2012;27(3):120–6. <https://doi.org/10.3103/S0891416812030032>
4. Almansour I. Mumps vaccines: Current challenges and future prospects. *Front Microbiol.* 2020;11:1999. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01999>
5. Serrão de Andrade AA, Soares AER, Paula de Almeida LG, et al. Testing the genomic stability of the Brazilian yellow fever vaccine strain using next-generation sequencing data. *Interface Focus.* 2021;11(4):20200063. <https://doi.org/10.1098/rsfs.2020.0063>
6. Mandary MB, Masomian M, Poh CL. Impact of RNA virus evolution on quasispecies formation and virulence. *Int J Mol Sci.* 2019;20(18):4657. <https://doi.org/10.3390/ijms20184657>
7. Su SB, Chang HL, Chen AK. Current status of mumps virus infection: Epidemiology, pathogenesis, and vaccine.

- Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(5):1686. <https://doi.org/10.3390/ijerph17051686>
8. Shah N, Ghosh A, Kumar K, et al. A review of safety and immunogenicity of a novel measles, mumps, rubella (MMR) vaccine. *Hum Vaccin Immunother*. 2024;20(1):2302685. <https://doi.org/10.1080/21645515.2024.2302685>. Erratum in: *Hum Vaccin Immunother*. 2024;20(1):2367876. <https://doi.org/10.1080/21645515.2024.2367876>
 9. Brown EG, Wright KE. Genetic studies on a mumps vaccine strain associated with meningitis. *Rev Med Virol*. 1998;8(3):129–42. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1654\(199807/09\)8:3%3C129::aid-rmv213%3F3.0.co;2-z](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-1654(199807/09)8:3%3C129::aid-rmv213%3F3.0.co;2-z)
 10. Perelygina L, Chen MH, Suppiah S, et al. Infectious vaccine-derived rubella viruses emerge, persist, and evolve in cutaneous granulomas of children with primary immunodeficiencies. *PLoS Pathog*. 2019;15(10):e1008080. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008080>
 11. Wilson SE, Zubach V, Lew B, et al. Measles vaccine virus mutation following vaccination in a healthy child resulting in a false negative vaccine specific PCR test: Ontario, Canada, 2025. *Euro Surveill*. 2025;30(43):2500774. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2025.30.43.2500774>
 12. Gruber CEM, Gioacchini S, Fabeni L, et al. Molecular investigation on measles cases rise and variants co-circulation in the Lazio region, Italy. *Virus Res*. 2025;22(1):288. <https://doi.org/10.1186/s12985-025-02910-8>
 13. Hiebert J, Zubach V, Schulz H, Severini A. Genomic tools for post-elimination measles molecular epidemiology using Canadian surveillance data from 2018–2020. *Front Microbiol*. 2024;15:1475144. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1475144>
 14. Zubach V, Osahan G, Kolsun K, et al. Development and evaluation of a next-generation sequencing methodology for measles virus using Oxford Nanopore Technology. *J Clin Microbiol*. 2025;63(3):e0145624. <https://doi.org/10.1128/JCM.01456-24>
 15. Bryant P, Caldwell H, Lamson DM, et al. Streamlined whole-genome sequencing of mumps virus for high-resolution outbreak analysis. *J Clin Microbiol*. 2022; 60(1):e0084121. <https://doi.org/10.1128/JCM.00841-21>
 16. Lu IN, Muller CP, He FQ. Applying next-generation sequencing to unravel the mutational landscape in viral quasispecies. *Virus Res*. 2020;283:197963. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.197963>
 17. Ikegame S, Beaty SM, Stevens C, et al. Genome-wide transposon mutagenesis of paramyxoviruses reveals constraints on genomic plasticity. *PLoS Pathog*. 2020;16(10):e1008877. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008877>
 18. Parks CL, Lerch RA, Walpita P, et al. Comparison of predicted amino acid sequences of measles virus strains in the Edmonston vaccine lineage. *J Virol*. 2001;75(2):910–20. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.2.910-920.2001>
 19. Dilcher M, Barratt K, Douglas J, et al. Monitoring viral genetic variation as a tool to improve molecular diagnostics for mumps virus. *J Clin Microbiol*. 2018;56(10):e00405–18. <https://doi.org/10.1128/JCM.00405-18>
 20. Claro IM, Ramundo MS, Coletti TM, et al. Rapid viral metagenomics using SMART-9N amplification and nanopore sequencing. *Wellcome Open Res*. 2023;6:241. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.17170.2>
 21. Fitzpatrick AH, Rupnik A, O'Shea H, et al. High throughput sequencing for the detection and characterization of RNA viruses. *Front Microbiol*. 2021;12:621719. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.621719>
 22. Chen S. fastp 1.0: An ultra-fast all-round tool for FASTQ data quality control and preprocessing. *iMeta*. 2025;4(5):e70078. <https://doi.org/10.1002/imt2.70078>
 23. Vasimuddin M, Misra L, Li H, Aluru S. Efficient architecture-aware acceleration of BWA-MEM for multicore systems. In: *IEEE International Parallel and Distributed Processing Symposium*, 2019. <https://doi.org/10.1109/IPDPS.2019.00041>
 24. Grubaugh ND, Gangavarapu K, Quick J, et al. An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intrahost virus diversity using PrimalSeq and iVar. *Genome Biol*. 2019;20(1):8. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1618-7>
 25. Игнатъев ГМ, Отрашевская ЕВ, Суханова ЛЛ и др. Молекулярно-генетическое исследование штамма Ленинград-16, используемого для производства вакцины кори. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020;97(2):182–9.
 - Ignatyev GM, Atrasheuskaya AV, Sukhanova LL, et al. Molecular genetic analysis of the strain Leningrad-16 used for the production of measles vaccine. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2020;97(2):182–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-2-182-189>
 26. Игнатъев ГМ, Отрашевская ЕВ, Суханова ЛЛ и др. Молекулярно-генетическое исследование штамма RA-27/3, используемого для производства вакцины против краснухи. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019;96(4):38–46. Ignatyev GM, Atrasheuskaya AV, Sukhanova LL, et al. Molecular-genetic study of the RA-27/3 strain used for production of rubella vaccine. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2019;96(4):38–46 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-4-38-46>
 27. Wilm A, Aw PP, Bertrand D, et al. LoFreq: A sequence-quality aware, ultra-sensitive variant caller for uncovering cell-population heterogeneity from high-throughput sequencing datasets. *Nucleic Acids Res*. 2012;40(22):11189–201. <https://doi.org/10.1093/nar/gks918>
 28. Danecek P, Bonfield JK, Liddle J, et al. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *Gigascience*. 2021;10(2):giab008. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab008>
 29. Illingworth CJR, Roy S, Beale MA, et al. On the effective depth of viral sequence data. *Virus Evol*. 2017;3(2):vex030. <https://doi.org/10.1093/ve/vex030>
 30. Zhao L, Illingworth CJR. Measurements of intrahost viral diversity require an unbiased diversity metric. *Virus Evol*. 2019;5(1):vey041. <https://doi.org/10.1093/ve/vey041>
 31. Beerenwinkel N, Zagordi O. Ultra-deep sequencing for the analysis of viral populations. *Curr Opin Virol*. 2011;1(5):413–8. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.07.008>
 32. Huang SW, Hung SJ, Wang JR. Application of deep sequencing methods for inferring viral population diversity. *J Virol Methods*. 2019;266:95–102. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2019.01.013>
 33. Zemella A, Beer K, Ramm F, et al. Vaccine-induced neutralizing antibodies bind to the H protein of a historical measles virus. *Int J Med Microbiol*. 2024;314:151607. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2024.151607>
 34. Das PK, Kielian M. Molecular and structural insights into the life cycle of rubella virus. *J Virol*. 2021;95(10):e02349–20. <https://doi.org/10.1128/JVI.02349-20>
 35. Das PK, Kielian M. Rubella virus assembly requirements and evolutionary relationships with novel rubiviruses. *mBio*. 2024;15(10):e0196524. <https://doi.org/10.1128/mbio.01965-24>
 36. Gouma S, Vermeire T, Van Gucht S, et al. Publisher Correction: Differences in antigenic sites and other functional regions between genotype A and G mumps virus surface proteins. *Sci Rep*. 2020;10(1):5456. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62301-7>. Erratum for: *Sci Rep*. 2018;8(1):13337. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31630-z>
 37. Hirai Y, Takemoto R, Yanagi Y, Shirogane Y. Amino acid changes accumulated in the fusion protein allow neuropathogenic measles viruses to use a broad repertoire of host factors for cell fusion triggering. *J Virol*. 2025; 99(5):e0230724. <https://doi.org/10.1128/jvi.02307-24>
 38. Angius F, Smuts H, Rybkina K, et al. Analysis of a subacute sclerosing panencephalitis genotype B3 virus from the 2009–2010 South African measles epidemic shows that hyperfusogenic F proteins contribute to measles virus infection in the brain. *J Virol*. 2019;93(4):e01700–18. <https://doi.org/10.1128/JVI.01700-18>
 39. Bianchi S, Canuti M, Ciceri G, et al. Molecular epidemiology of B3 and D8 measles viruses through hemagglutinin phylogenetic history. *Int J Mol Sci*. 2020;21(12):4435. <https://doi.org/10.3390/ijms21124435>
 40. Petrova EK, Dmitrieva AA, Trifonova EA, et al. The key role of rubella virus glycoproteins in the formation of immune response, and perspectives on their use in the development of new recombinant vaccines. *Vaccine*. 2016;34(8):1006–11. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.01.010>
 41. Cusi MG, Valassina M, Bianchi S, et al. Evaluation of rubella virus E2 and C proteins in protection against rubella virus in a mouse model. *Virus Res*. 1995;37(3):199–208. [https://doi.org/10.1016/0168-1702\(95\)00037-q](https://doi.org/10.1016/0168-1702(95)00037-q)
 42. Frost JR, Shaikh S, Severini A. Exploring the mumps virus glycoproteins: A review. *Viruses*. 2022;14(6):1335. <https://doi.org/10.3390/v14061335>

Дополнительная информация. На сайте журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» размещено онлайн-приложение 1 (таблицы S1–S3). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-750-annex>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **А.И. Желтухина** — написание текста рукописи, анализ данных; **А.Б. Комиссаров** — редактирование текста рукописи, руководство исследованием, анализ данных; **А.В. Фадеев** — применение метода SMART для проведения NGS секвенирования вакцинных штаммов, анализ минорных вариантов; **Н.Д. Ёлшин** — анализ сырых данных секвенирования, сборка вирусных геномов; **М.М. Писарева** — редактирование текста рукописи, анализ результатов; **В.А. Едер** — редактирование текста рукописи, работа с источниками литературы; **М. Коржанова** — подготовка библиотек для секвенирования; **А.Д. Ксенафонтов** — проведение пробоподготовки образцов; **А.А. Передерий** — анализ данных, визуализация полученных результатов, написание скриптов на языке программирования R; **О.В. Охлопкова** — редактирование текста рукописи, методологическое руководство секвенированием вирусов кори; **Л.А. Саушкина** — подготовка производственных штаммов для исследования; **Е.В. Шведова** — концепция исследования, участие в формулировке выводов, редактирование текста рукописи; **Е.А. Гришина** — утверждение окончательной версии статьи для публикации; **Д.А. Лioзнов** — общее руководство проектом, редактирование рукописи, участие в формулировке выводов, утверждение окончательной версии статьи для публикации.

Additional information. Supplement 1 (Table S1–S3) is published on the website of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*.

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-750-annex>

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **A.I. Zheltukhina** analyzed the data and drafted the manuscript. **A.B. Komissarov** edited the test of the manuscript, supervised the laboratory part of the project, and participated in data analysis. **A.V. Fadeev** implemented SMART technology for NGS sequencing of vaccine strains, minor variants analysis. **N.D. Yolshin** analyzed raw sequencing data, performed genome assembly. **M.M. Pisareva** edited the text of the manuscript and participated in analysis. **V.A. Eder** edited the text of the manuscript and worked with literature sources. **M. Korzhanova** conducted NGS library preparation. **A.D. Ksenafontov** did sample processing. **A.A. Perederiy** participated in data analysis, data visualization and coding in R. **O.V. Ohlopko** edited the text of the manuscript and supervised the measles sequencing. **L.A. Saushkina** prepared production strains for research. **E.V. Shvedova** conceptualised the study, participated in formulating the conclusions, and edited the text of the manuscript. **E.A. Grishina** approved the final version of the manuscript for publication. **D.A. Lioznov** supervised the project, participated in formulating the conclusions, edited the text and approved the final version of the manuscript for publication.

Об авторах / Authors

Желтухина Алена Игоревна / Alyona I. Zheltukhina

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8674-6097>

Комиссаров Андрей Борисович / Andrey B. Komissarov

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1733-1255>

Фадеев Артем Викторович / Artem V. Fadeev

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3558-3261>

Ёлшин Никита Дмитриевич / Nikita D. Yolshin

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1050-5817>

Писарева Мария Михайловна, канд. биол. наук / Maria M. Pisareva, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1499-9957>

Едер Вероника Анатольевна, канд. биол. наук / Veronika A. Eder, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9970-3325>

Коржанова Маргарита / Margarita Korzhanova

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2512-2517>

Ксенафонтов Андрей Дмитриевич / Andrey D. Ksenafontov

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4532-6210>

Передерий Александр Александрович / Alexander A. Perederiy

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5961-1856>

Охлопкова Олеся Викторовна, канд. биол. наук / Olesia V. Ohlopko, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8214-7828>

Саушкина Людмила Александровна / Lyudmila A. Saushkina

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-2369-3767>

Шведова Евгения Владимировна, канд. биол. наук / Evgenia V. Shvedova, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9229-3677>

Гришина Елена Анатольевна, д-р биол. наук, проф. / Elena A. Grishina, Dr. Sci. (Biol.), Prof.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5621-8266>

Лioзнов Дмитрий Анатольевич, д-р мед. наук, проф. / Dmitry A. Lioznov, Dr. Sci. (Med.), Prof.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3643-7354>

Статья поступила 07.11.2025

После доработки 18.03.2026

Принята к публикации 19.06.2026

Online first 12.08.2026

Received November 7, 2025

Revised March 18, 2026

Accepted June 19, 2026

Online first August 12, 2026