

ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАНДЕМИЧЕСКИЕ ПАТОГЕНЫ В ФОКУСЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ТЕХНОЛОГИЙ ДВОЙНОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Мясникова И.А., Чепур С.В.

*ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации
195043, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая д.4, 8
(812) 775-02-41, gniiivm_7@mil.ru*

Резюме. В статье рассмотрены вопросы, связанные с новым направлением биологических исследований по усилению функции (GOF). Эти исследования проводят для понимания возможности появления новых инфекционных агентов в природе. Такие эксперименты включают генно-инженерные методики, применение которых позволяет увеличить вирулентность патогенов. Это следующий шаг в применении генной инженерии, связанный с проектированием и построением уникальных биологических систем с «запрограммированными» функциями и свойствами, что дает новые возможности в разработке вакцин, диагностических средств и терапевтических препаратов. Вместе с тем, приведенные в статье данные свидетельствуют о реальной угрозе таких экспериментов для общественного здравоохранения. Усилия по изучению и прогнозированию естественной эволюции и появления патогенных микроорганизмов путем преднамеренного создания в лаборатории агентов с усиленными болезнетворными свойствами вызывают наибольшую озабоченность, однако исследования по усилению функций необходимо оценивать на предмет их эффективности в борьбе с потенциально пандемическими инфекционными агентами.

Ключевые слова: вирус, метод обратной генетики, синтетическая биология.

Для корреспонденции: Мясникова Ирина Анатольевна,
gniiivm_7@mil.ru

POTENTIALLY PANDEMIC PATHOGENS IN FOCUS OF RESEARCH OF DUAL-USE TECHNOLOGIES

Myasnikova I.A., Chepur S.V.

Federal State Budgetary Institution "State Research and Testing Institute of Military
Medicine" of the Ministry of Defense of the Russian Federation
195043, Russian Federation, St. Petersburg, Lesoparkovaya st., 4, 8 (812) 775-02-41,
gniiivm_7@mil.ru

Summary. This article discusses issues related to a new direction of biological gain-of-function (GOF) research. These studies are conducted to understand the possibility of the emergence of new infectious agents in nature. Such experiments include genetic engineering techniques, the use of which allows increasing the virulence of pathogens. This is the next step in the application of genetic engineering associated with the design and construction of unique biological systems with “programmed” functions and properties, which provides new opportunities for the development of vaccines, diagnostics, and therapeutics. At the same time, the data presented in the article indicate a real threat to public health from such experiments. Efforts to study and predict the natural evolution and emergence of pathogenic microorganisms by deliberately creating agents with enhanced disease-causing properties in the laboratory are of the greatest concern, but gain-of-function studies must be assessed for their effectiveness in the fight against potentially pandemic infectious agents.

Key words: virus, reverse genetics method, synthetic biology.

Введение

Известно, что многие респираторные вирусы, прежде циркулировавшие внутри популяции диких животных, присутствуют среди людей. В настоящее время описано не менее восьми представителей семейства парамиксовирусов, четырех коронавирусов и четырех ортомиксовирусов, которые вызывают повторяющиеся эпидемии у людей, но ранее имели другой круг хозяев. За последнее десятилетие несколько представителей этих семейств преодолели межвидовой барьер и перешли от животных к человеку. К счастью, они не прижились в человеческой популяции, поскольку не обладали возможностью

устойчивой передачи среди людей. Однако анализ вспышек, вызванных микроорганизмами разных семейств, показал отсутствие понимания механизмов, обеспечивающих распространение патогенов в человеческой популяции. Таким образом, более глубокое исследование детерминант трансмиссивности респираторных вирусов имеет ключевое значение с фундаментальной научной точки зрения, и может послужить основой оценки рисков, которые зоонозные вирусы представляют для здоровья человека, и готовности системы здравоохранения к возникновению и развитию чрезвычайных ситуаций, инициированных ими [1].

Инфекции дыхательных путей, которых ежегодно регистрируют в количестве около 3,5 миллионов случаев, занимают третье место среди ведущих причин смертности во всем мире. При этом инфекции вирусной этиологии ответственны примерно за половину этих исходов. Хотя число погибших в странах с высоким уровнем дохода намного ниже, чем в развивающихся странах, тем не менее, ежегодные эпидемии обременительны для системы здравоохранения всех стран. При этом, максимальная частота этих заболеваний характерна, в основном, для некоторых групп населения, таких как новорожденные, пожилые, а также люди с ослабленным иммунитетом и сопутствующими хроническими заболеваниями.

Известно, что в человеческой популяции циркулирует широкий спектр респираторных вирусов, среди которых наибольшее эпидемиологическое значение имеют представители семейств *Coronaviridae*, *Paramyxoviridae* и *Orthomyxoviridae*. Эти возбудители интересны, в первую очередь, тем, что именно они преодолели межвидовой барьер, и зачастую вызывают повторяющиеся эпидемии с тяжелым течением.

Так, наиболее яркий представитель семейства *Paramyxoviridae* – вирус кори известен как один из наиболее контагиозных патогенов человека [2]. Другие представители семейства – респираторно-синцитиальный вирус (РСВ), метапневмовирус человека, вирус эпидемического паротита и вирусы парагриппа типов 1–4 также признаны эндемичными, вызывая периодические

эпидемии среди людей во всем мире [3]. Важными эпидемически значимыми особенностями парамиксовирусов считают их способность к быстрой смене хозяев по сравнению с другими семействами РНК-вирусов и распространенность среди широкого круга видов, куда кроме человека, входят приматы, лошади, собаки, овцы, свиньи, кошки, рыбы, птицы, крупный рогатый скот, а также летучие мыши [4]. Сравнительно недавно открытые и изученные представители семейства – вирус Хендра и Нипах – способны вызвать тяжелые инфекции у людей в том числе, со смертельным исходом, вследствие передачи напрямую от зараженного животного к человеку [3].

Представители семейства *Coronaviridae* также заражают и вызывают заболевания у самых разных видов животных и птиц. Четыре представителя семейства коронавирусов в настоящее время включены в эндемичные и обычно вызывают относительно легкие респираторные инфекции у людей: HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NKU1 и HCoV-NL63 [5]. В 2002 году в циркуляции выявлен высоковирулентный штамм коронавируса SARS-CoV, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром. Этот высоковирулентный штамм вызвал около 800 смертей среди 8000 зафиксированных случаев коронавирусной инфекции в 30 странах [6]. В статье Ванг М. с соавторами [7] сообщают о выделении коронавируса, тесно связанного с SARS-CoV от пальмовых циветт, что, по мнению исследователей, указывает на то, что этот вид служит естественным хозяином SARS-CoV. Однако последующие исследования показали, что истинным первоначальным резервуаром SARS-CoV были летучие мыши рода *Rhinolophus* [8].

Аналогичным образом, с момента первого обнаружения коронавируса ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV) в 2012 году [9] было зарегистрировано около 1000 лабораторно подтвержденных случаев респираторных инфекций, из которых примерно треть завершилась смертельным исходом [10]. Идентификация близкородственного MERS-подобного коронавируса в фекалиях южноафриканских летучих мышей семейства *Vespertilionidae* позволила предположить, что летучие мыши также

могут быть естественным резервуаром и для вируса MERS-CoV [11]. Описанные зоонозы (SARS-CoV и MERS-CoV) подчеркивают постоянную угрозу того, что коронавирусы могут преодолеть межвидовые барьеры и вызвать вспышки среди людей.

Подтверждением ранее высказанных опасений стало появление нового вируса SARS-CoV-2. На этот раз коронавирус проявил себя в южных провинциях КНР в ноябре 2019 года. Возбудитель имел сходные с SARS-CoV признаки, поэтому получил название SARS-CoV-2. С момента регистрации первых случаев заражения до сегодняшнего времени в мире зафиксировано почти 40 млн случаев, около 1,1 млн из которых окончились летальным исходом [12].

Вирусы гриппа А относят к семейству Orthomyxoviridae, а их естественный природный резервуар сформирован дикими перелетными водоплавающими птицами по всему миру. Иногда эти вирусы передаются из этого птичьего «резервуара» другим животным-хозяевам, включая домашнюю птицу, свиней, лошадей, различных хищников и морских млекопитающих. Спорадически вирусы адаптируются к своим новым хозяевам, что приводит к их энзоотической циркуляции в течение многих лет, десятилетий или столетий. Заражение вирусом зоонозного гриппа А людей происходит довольно часто, но без серьезных последствий для популяции в целом. Однако внедрение «новых» вирусов гриппа от животных в человеческую популяцию может привести к пандемиям, то есть глобальным эпидемиям, вызванным новым подтипом вируса гриппа, к которому иммунитет населения низок или отсутствует вовсе. За последнее столетие человечество столкнулось с тремя разрушительными пандемиями гриппа: H1N1 в 1918 году, H2N2 в 1957 году и H3N2 в 1968 году. В совокупности эти три пандемии привели к 46 миллионам смертей. В последние десятилетия скорость появления зоонозных серотипов вируса гриппа А у людей возросла, это закономерно вызывает опасения у специалистов о том, что будущая пандемия гриппа зоонозного происхождения не за горами. Так, в 1996 году новый серотип H5N1 был выделен от гуся в Гонконге, причем первые

случаи заболевания людей были зарегистрированы после контакта с домашней птицей в 1997 году. С момента начала официальной отчетности Всемирной организации здравоохранения в 2003 году было зарегистрировано 890 случаев заболевания у людей и 453 случая смерти из-за спорадической зоонозной передачи H5N1 от птиц. Кроме того, в сельских районах с низкой плотностью населения были зарегистрированы небольшие очаги неустойчивой передачи вируса от человека к человеку. Поскольку вирус высокопатогенного птичьего гриппа имеет беспрецедентную эндемичность среди птиц и обладает склонностью к тяжелому течению заболевания с многочисленными смертельными исходами, многие полагают, что H5N1 может стать источником следующей пандемии человеческого гриппа.

Локальные вспышки, вызванные вирусами Хендра и Нипах, SARS-CoV, MERS-CoV и различными подтипами вируса гриппа А, подчеркивают постоянную угрозу того, что респираторные вирусы регулярно преодолевают межвидовые барьеры и вызывают заболевание среди людей. К счастью, большинство этих зоонозных вирусов до сих пор демонстрируют ограниченную способность передачи между людьми, что свидетельствует об отсутствии тенденции к их глобальному распространению в человеческой популяции. Однако, учитывая, что некоторые представители этих семейств в прошлом неоднократно вызывали пандемии, к примеру, как это наблюдалось в прошлом веке для вирусов гриппа А, необходимо четко осознавать тот факт, что в следующий раз такие зоонозные вспышки могут привести к появлению высоковирулентного штамма способного эффективно циркулировать среди людей и вызывать тяжелые респираторные инфекции со смертельными исходами.

К сожалению, в настоящее время, несмотря на весь накопленный научный опыт и современный технический потенциал, механизмы формирования в популяции вируса животных генетически детерминированной способности передаваться между людьми остаются не выясненными. Вместе с тем, эпидемиологи рассматривают это свойство в качестве ключевого фактора,

определяющего разницу между спорадическими зоонозными инфекциями и потенциально разрушительными пандемиями. Изложенные факты свидетельствуют о том, что несмотря на длительный период изучения респираторных вирусов, а также их значительное влияние на здравоохранение и экономику, на удивление мало известно о биологических механизмах, предопределяющих возникновение устойчивой передачи вирусов между людьми.

Известно, что респираторные вирусы распространяются через мелкие аэрозоли (обычно размером < 5 мкм) или более крупные капли при кашле, чихании. Кроме того, известно о возможности передачи вируса при прямом контакте от человека к человеку или через загрязненные поверхности (фомиты) [13].

В многочисленных исследованиях по изучению механизмов передачи было показано, что вирусы гриппа способны эффективно передаваться воздушно-капельным путем, тогда как некоторые парамиксовирусы (например, РСВ) диссеминируют преимущественно контактным путем и через фомиты [14]. Что определяет эти пути и механизмы передачи, остается неизвестным. Стоит также отметить, что для некоторых респираторных вирусов, до настоящего момента, не определен основной путь передачи. Результатом этих пробелов в понимании механизмов межвидовой передачи становится то, что ключевой вопрос общественного здравоохранения, заключающийся в том могут ли новые коронавирусы, парамиксовирусы и вирусы гриппа приобретать способность устойчивой передачи определённым способом между людьми и вызывать пандемию, на сегодняшний день остаётся без ответа.

Из-за относительно высокой частоты зоонозов вируса гриппа А и повторяемости пандемий в начале XXI века ученые начали интенсивно исследовать механизмы, способствующие передаче вируса гриппа между млекопитающими, а также детерминанты, способствующие появлению высоковирулентных штаммов. Параллельно с этим на рубеже XXI века возникло и укрепилось осознание того, что биомедицинские исследования

могут стать источником новых, более смертельных инфекционных заболеваний [15].

Так, уже более 15 лет ученые активно дискутируют о ценности так называемых экспериментов по приобретению (усилению) функции (gain of function, GOF) с участием высоковирулентного вируса птичьего гриппа (HPAIV) и других патогенов [16]. Особую озабоченность вызывают эксперименты, в ходе которых изменяют потенциально пандемические штаммы [17]. В результате таких экспериментов патоген приобретает способность передаваться млекопитающим, повышенную вирулентность, способность преодолевать иммунный ответ и устойчивость к противовирусным препаратам.

Ярким примером подобных исследований служит работа Джексона с соавторами (2001 г.), в которой был изменен вирус мышинной оспы (ECTV, сем. Poxviridae), в результате чего новый штамм «уходил» от иммунного ответа, который вырабатывался у животных при вакцинации, вследствие чего исследователи предположили, что ту же технологию можно использовать для внесения модификаций и в вирус человеческой оспы [18]. Еще одна работа, в ходе которой был проведен полный химический синтез полиовируса [19], а также работа по искусственной реконструкции вируса испанского гриппа 1918 года [20] привели к новому витку дебатов о целесообразности проведения экспериментов, которые включают не только манипулирование вирулентностью посредством генетической модификации, но и создание патогенов путем синтеза геномов.

Термин «усиление функции» (GOF) означает проведение экспериментов, в которых при помощи генетической манипуляции добавляют «новое свойство». Ряд недавних достижений, таких как технология создания рекомбинантной ДНК, технология секвенирования и синтеза ДНК, привели к появлению методологии создания «систем обратной генетики» и синтетической биологии, которые стали движущими силами быстрого развития исследований по «усилению функций» потенциально пандемических патогенов. Так,

например, метод обратной генетики, разработанный Питером Пализе с коллегами в 1996 году [21, 22] на сегодняшний день, больше не считают технической прерогативой конкретной научной лаборатории, эта технология реализована во многих исследовательских центрах и коммерческих компаниях. Необходимо отчетливо понимать, что метод «обратной генетики» сегодня может быть использован как для понимания механизмов трансмиссивности, межвидовой передачи, изучения генетики вирусов и роли каждого гена, каждого фактора, влияющего на функции генов, создания новых вакцинных штаммов и на их основе – вакцин, так и для создания новых потенциально опасных агентов, например, высоковирулентных для человека и животных вирусов и на их основе – биологического оружия. Таким образом, исследования по «приобретению функций» (GOF), реализуемые с использованием метода «обратной генетики», представляют значительный риск для мирового сообщества, поскольку являются исследованиями двойного назначения, то есть изначально направленными на изучение свойств патогенов для создания и (или) совершенствования средств, методов, способов терапии и профилактики, но обладающими потенциалом для милитаризации.

Риск двойного использования экспериментов с потенциально пандемическими патогенами, в частности исследований с приобретением функции, активно начал обсуждаться с того момента, как в ноябре 2011 года доктор Йошихиро Каваока из Висконсинского университета в Мэдисоне представил статью в журнал Nature [23], а доктор Рон Фушье из Медицинского центра Эразмуса в Нидерландах представил статью в журнал Science [17]. В этих статьях подробно описана генетическая модификация вирусов птичьего гриппа H5N1 для изменения видовой специфичности. Редакторы обоих журналов обратились в Национальный научный консультативный совет по биобезопасности (NSABB), а также в Национальный институт здравоохранения (NIH) с просьбой провести оценку биобезопасности публикуемых данных. В то время в научном сообществе не было прецедента, когда результаты исследований, полученные в рамках научного проекта, одобренного

государственным грантом, могли быть не опубликованы после подачи из-за риска двойного использования.

В течение двух лет велись споры о целесообразности проведения таких экспериментов, и соответственно, их финансирования. В 2013 году было принято решение о запрете на финансирование исследований по «усилению функций» государственными структурами США и ЕС [24]. Однако в 2017 году финансирование было возобновлено. На данный момент официально исследования поддерживают лишь при условии проверки плана исследований и надзора за фактическими экспериментами [25], однако учитывая потенциал лабораторной базы военных ведомств стран НАТО, в том числе находящийся на территории стран-сателлитов, об истинных масштабах проводимых исследований можно лишь догадываться.

На сегодняшний день проблеме разработки «систем обратной генетики», редактированию генома, синтезу генов *de novo*, для различных семейств вирусов посвящено значительное число англоязычных публикаций [26]. В то время как при анализе русскоязычных источников выявлены единичные работы в этой области [27, 28, 29]. Очень мало работ посвящено изучению трансмиссивности и межвидовой передачи различных групп зоонозных вирусов, в которых патогены модифицируют с помощью обратной генетики или путем последовательных пассажей в системе *in vitro* и на животных.

Возможность создания вирусов с использованием подходов обратной генетики представляет собой мощный инструмент для ответа на важные вопросы биологии вирусных инфекций. Кроме того, обратная генетика облегчает создание рекомбинантных вирусов, экспрессирующих репортерные гены, для их использования в клеточных скрининговых анализах или в моделях инфекции в условиях *in vivo* [30] для быстрой и легкой идентификации, а также для создания аттенуированных штаммов вирусов и их использования в качестве вакцин.

Вышеизложенное подчёркивает необычайно высокую актуальность и перспективность технологий «обратной генетики» и синтетической биологии, а

также свидетельствует о том, что отечественным исследователям следует приложить максимум усилий для ликвидации критического отставания в этой области молекулярной вирусологии, в том числе и для обеспечения биологической безопасности страны.

В заключении необходимо отметить, что быстрый темп технического прогресса в области наук о жизни предоставил мощные инструменты для понимания и управления взаимодействием человека и микроорганизмов. Эти новые возможности могут помочь в разработке вакцин, диагностических средств и терапевтических препаратов. Но вместе с тем, те же инструменты могут представлять серьезную угрозу как для отдельных групп, так и для человечества в целом. Усилия по изучению и прогнозированию естественной эволюции и появления патогенных микроорганизмов путем преднамеренного создания в лаборатории агентов с усиленными болезнетворными свойствами вызывают наибольшую озабоченность. Однако исследования потенциально опасных патогенов можно проводить безопасно они имеют важное значение для всестороннего понимания свойств потенциально пандемических организмов, таких как, патогенез, передача, профилактика и лечение. На наш взгляд разумно и морально приемлемо продолжать эту важную исследовательскую работу при условии выполнения этических, правовых, а также, несомненно, норм биобезопасности.

Библиография

1. Chan J.F., To K.K., Tse H., Jin D.Y., Yuen K.Y. Interspecies transmission and emergence of novel viruses: lessons from bats and birds. *Trends Microbiol.* 2013; 21(10): 544–555. doi:10.1016/j.tim.2013.05.005.
2. Measles. World Health Organization. Updated December 5, 2023. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/measles> (дата обращения 19.01.2024).

3. Branda F., Ciccozzi M., Angeletti S., et al. Zoonotic paramyxoviruses: evolution, ecology, and public health strategies in a changing world. *Viruses*. 2024; 16 (11): 1688. doi:10.3390/v16111688.
4. Kitchen A., Shackelton L.A., Holmes E.C. Family level phylogenies reveal modes of macroevolution in RNA viruses. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011; 108 (1): 238–243. doi:10.1073/pnas.1011090108.
5. Masters P.S. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res*. 2006; 66: 193–292. doi:10.1016/S0065-3527(06)66005-3.
6. Peiris J.S., Lai S.T., Poon L.L., et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet*. 2003; 361 (9366): 1319–1325. doi:10.1016/S0140-6736(03)13077-2.
7. Wang M., Yan M., Xu H., et al. SARS-CoV infection in a restaurant from palm civet. *Emerg Infect Dis*. 2005; 11 (12): 1860–1865. doi:10.3201/eid1112.041293.
8. Li W., Shi Z., Yu M., et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*. 2005; 310 (5748): 676–679. doi:10.1126/science.1118391.
9. Zaki A.M., van Boheemen S., Bestebroer T.M., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med*. 2012; 367 (19): 1814–1820. doi:10.1056/NEJMoa1211721.
10. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). World Health Organization. Updated March 11, 2023. Available at [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov)) дата обращения 19.01.2024).
11. Ithete N.L., Stoffberg S., Corman V.M., et al. Close relative of human Middle East respiratory syndrome coronavirus in bat, South Africa. *Emerg Infect Dis*. 2013; 19 (10): 1697–1699. doi:10.3201/eid1910.130946.
12. Jackson R.J., Ramsay A.J., Christensen C.D., Beaton S., Hall D.F., Ramshaw I.A. Expression of mouse interleukin-4 by a recombinant ectromelia virus suppresses cytolytic lymphocyte responses and overcomes genetic resistance to mousepox. *J. Virol*. 2001; 75 (3): 1205–1210. doi:10.1128/JVI.75.3.1205-1210.2001.

13. Lowen A.C., Mubareka S., Tumpey T.M., García-Sastre A., Palese P. The guinea pig as a transmission model for human influenza viruses. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103 (26): 9988-9992. doi:10.1073/pnas.0604157103.
14. Leung N.H.L. Transmissibility and transmission of respiratory viruses. *Nat Rev Microbiol*. 2021; 19 (8): 528–545. doi:10.1038/s41579-021-00535-6.
15. Shinomiya N., Shinomiya M., Uwamino Y., et al. Reconsidering the need for gain-of-function research on enhanced potential pandemic pathogens in the post-COVID-19 era. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022; 10: 966586. doi:10.3389/fbioe.2022.966586.
16. Gillum D.R., Van R.A., Bernier R., Kormos B., Gronvall G.K. Bridging biosafety and biosecurity gaps: DURC and ePPP policy insights from US institutions. *Front Bioeng Biotechnol*. 2024; 12: 1476527. doi:10.3389/fbioe.2024.1476527.
17. Herfst S., Schrauwen E.J., Linster M., et al. Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets. *Science*. 2012; 336 (6088): 1534–1541. doi:10.1126/science.1213362.
18. Jackson R.J., Ramsay A.J., Christensen C.D., Beaton S., Hall D.F., Ramshaw I.A. Expression of mouse interleukin-4 by a recombinant ectromelia virus suppresses cytolytic lymphocyte responses and overcomes genetic resistance to mousepox. *J Virol*. 2001; 75 (3): 1205–1210. doi:10.1128/JVI.75.3.1205-1210.2001.
19. Cello J., Paul A.V., Wimmer E. Chemical synthesis of poliovirus cDNA: generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science*. 2002; 297 (5583): 1016–1018. doi:10.1126/science.1072266.
20. Tumpey T.M., Basler C.F., Aguilar P.V., et al. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science*. 2005; 310 (5745): 77–80. doi:10.1126/science.1119392.
21. Palese P., Roizman B. Genetic engineering of viruses and of virus vectors: a preface. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93 (21): 11287.
22. Palese P., Muster T., Zheng H., O'Neill R., García-Sastre A. Negative-strand RNA viruses: genetic engineering and applications. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93 (21): 11354–11358.

23. Imai M., Watanabe T., Hatta M., et al. Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets. *Nature*. 2012; 486 (7403): 420–428. doi:10.1038/nature10831.
24. Kahn L.H. Can biosecurity be embedded into the culture of the life sciences? *Biosecur Bioterror*. 2012;10 (2):241–246. doi:10.1089/bsp.2012.0014.
25. Patterson A.P., Tabak L.A., Fauci A.S., Collins F.S., Howard S. A framework for decisions about research with HPAI H5N1 viruses. *Science*. 2013; 339 (6123): 1036–1037. doi:10.1126/science.1235520.
26. Driouich J.S., Moureau G., Touret F., et al. Reverse genetics of RNA viruses: ISA-based approach to control viral population diversity without modifying virus phenotype. *Viruses*. 2019; 11 (7): 666. doi:10.3390/v11070666.
27. Меркулов В.А., Лебедев В.Н., Плеханова Т.М., и др. Использование методов обратной генетики для получения рекомбинантных штаммов вируса гриппа, пригодных в качестве живых аттенуированных вакцин. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2009; 2: 111–117.
28. Смолоногина Т.А., Исакова-Сивак И.Н., Котомина Т.С., и др. Конструирование векторной вакцины на основе холодо-адаптированного вируса гриппа для защиты от бактериальной инфекции, вызываемой стрептококками группы В. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2019; 37 (1): 25–34.
29. Сульгина Т.В., Иматдинов И.Р. Рекомбинантный вирус кори как платформа для создания векторных вакцин. VIII международная научно-практическая конференция молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов. 2021; 2021: 228–229.
30. Cai R., Li Y., He S., et al. Development of reverse genetics system for Getah virus and characterization of rescued strains. *Vet Res*. 2025; 56 (1): 80. doi:10.1186/s13567-025-01421-0.

References

1. Chan J.F., To K.K., Tse H., Jin D.Y., Yuen K.Y. Interspecies transmission and emergence of novel viruses: lessons from bats and birds. *Trends Microbiol.* 2013; 21 (10): 544-555. doi:10.1016/j.tim.2013.05.005.
2. Measles. World Health Organization. Updated December 5, 2023. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/measles> (дата обращения 19.01.2024).
3. Branda F., Ciccozzi M., Angeletti S., et al. Zoonotic paramyxoviruses: evolution, ecology, and public health strategies in a changing world. *Viruses.* 2024; 16 (11): 1688. doi:10.3390/v16111688.
4. Kitchen A., Shackelton L.A., Holmes E.C. Family level phylogenies reveal modes of macroevolution in RNA viruses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108(1): 238–243. doi:10.1073/pnas.1011090108.
5. Masters P.S. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res.* 2006; 66: 193–292. doi:10.1016/S0065-3527(06)66005-3.
6. Peiris J.S., Lai S.T., Poon L.L., et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet.* 2003; 361 (9366): 1319–1325. doi:10.1016/S0140-6736(03)13077-2.
7. Wang M., Yan M., Xu H., et al. SARS-CoV infection in a restaurant from palm civet. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11 (12): 1860–1865. doi:10.3201/eid1112.041293.
8. Li W., Shi Z., Yu M., et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science.* 2005; 310 (5748): 676–679. doi:10.1126/science.1118391.
9. Zaki A.M., van Boheemen S., Bestebroer T.M., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med.* 2012; 367 (19): 1814–1820. doi:10.1056/NEJMoa1211721.
10. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). World Health Organization. Updated March 11, 2023. Available at [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov)) (дата обращения 19.01.2024).

11. Ithete N.L., Stoffberg S., Corman V.M., et al. Close relative of human Middle East respiratory syndrome coronavirus in bat, South Africa. *Emerg Infect Dis.* 2013; 19 (10): 1697–1699. doi:10.3201/eid1910.130946.
12. Jackson R.J., Ramsay A.J., Christensen C.D., Beaton S, Hall D.F., Ramshaw I.A. Expression of mouse interleukin-4 by a recombinant ectromelia virus suppresses cytolytic lymphocyte responses and overcomes genetic resistance to mousepox. *J Virol.* 2001; 75 (3): 1205–1210. doi:10.1128/JVI.75.3.1205-1210.2001.
13. Lowen A.C., Mubareka S., Tumpey T.M., García-Sastre A., Palese P. The guinea pig as a transmission model for human influenza viruses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103 (26): 9988–9992. doi:10.1073/pnas.0604157103.
14. Leung N.H.L. Transmissibility and transmission of respiratory viruses. *Nat Rev Microbiol.* 2021; 19 (8): 528–545. doi:10.1038/s41579-021-00535-6.
15. Shinomiya N., Shinomiya M., Uwamino Y., et al. Reconsidering the need for gain-of-function research on enhanced potential pandemic pathogens in the post-COVID-19 era. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022; 10: 966586. doi:10.3389/fbioe.2022.966586
16. Gillum D.R., Van R.A., Bernier R., Kormos B., Gronvall G.K. Bridging biosafety and biosecurity gaps: DURC and ePPP policy insights from US institutions. *Front Bioeng Biotechnol.* 2024; 12: 1476527. doi:10.3389/fbioe.2024.1476527.
17. Herfst S., Schrauwen E.J, Linster M., et al. Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets. *Science.* 2012; 336 (6088): 1534–1541. doi:10.1126/science.1213362.
18. Jackson R.J., Ramsay A.J., Christensen C.D., Beaton S., Hall D.F., Ramshaw I.A. Expression of mouse interleukin-4 by a recombinant ectromelia virus suppresses cytolytic lymphocyte responses and overcomes genetic resistance to mousepox. *J Virol.* 2001; 75 (3): 1205–1210. doi:10.1128/JVI.75.3.1205-1210.2001.
19. Cello J., Paul A.V., Wimmer E. Chemical synthesis of poliovirus cDNA: generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science.* 2002; 297 (5583): 1016–1018. doi:10.1126/science.1072266.

20. Tumpey T.M., Basler C.F., Aguilar P.V., et al. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science*. 2005; 310 (5745): 77–80. doi:10.1126/science.1119392.
21. Palese P., Roizman B. Genetic engineering of viruses and of virus vectors: a preface. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93 (21): 11287.
22. Palese P., Muster T., Zheng H., O'Neill R., García-Sastre A. Negative-strand RNA viruses: genetic engineering and applications. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93 (21): 11354–11358.
23. Imai M., Watanabe T., Hatta M., et al. Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets. *Nature*. 2012; 486 (7403): 420–428. doi:10.1038/nature10831.
24. Kahn L.H. Can biosecurity be embedded into the culture of the life sciences? *Bio Secur Bioterror*. 2012; 10 (2): 241–246. doi:10.1089/bsp.2012.0014.
25. Patterson A.P., Tabak L.A., Fauci A.S., Collins F.S., Howard S. A framework for decisions about research with HPAI H5N1 viruses. *Science*. 2013; 339 (6123): 1036–1037. doi:10.1126/science.1235520.
26. Driouich J.S., Moureau G., Touret F., et al. Reverse genetics of RNA viruses: ISA-based approach to control viral population diversity without modifying virus phenotype. *Viruses*. 2019; 11 (7): 666. doi:10.3390/v11070666.
27. Merkulov V.A., Lebedev V.N., Plekhanova T.M., et al. Using reverse genetics method for developing recombinant strains of influenza viruses acceptable for use as live attenuated vaccines. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*. 2009; (2): 111–117. (in Russian).
28. Smolonogina T.A., Isakova-Sivak I.N., Kotomina T.S., et al. Generation of vector vaccine against group B streptococcal infection on the base of cold-adapted influenza A virus. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2019; 37 (1): 25–34. (in Russian).
29. Sul'gina T.V., Imatdinov I.R. Recombinant measles virus as a platform for creating vector vaccine VIII International Scientific and Practical Conference of

Young Scientists: Biophysicists, Biotechnologists, Molecular Biologists and Virologists – 2021. 2021; 228–229. (in Russian).

30. Cai R., Li Y., He S., et al. Development of reverse genetics system for Getah virus and characterization of rescued strains. *Vet Res.* 2025; 56 (1): 80. doi:10.1186/s13567-025-01421-0.