

**РАЗРАБОТКА И ОБОСНОВАНИЕ ВНУТРИВИДОВОЙ
КЛАССИФИКАЦИИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО
РАЗНООБРАЗИЯ ВГЧ6А И ВГЧ6В**

Филатова Е. Н. ¹,

Уткин О. В. ¹,

Хрулев А. Е. ²,

Зайцева Н. Н. ¹

¹ «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора.

² ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России.

**DEVELOPMENT AND VALIDATION FOR INTRA-SPECIES
CLASSIFICATION OF HHV6A AND HHV6B MOLECULAR GENETIC
DIVERSITY**

Filatova E. N. ^a,

Utkin O. V. ^a,

Khrulev A. E. ^b,

Zaitseva N. N. ^a

^a Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of
Nizhny Novgorod.

^b Privolzhsky Research Medical University.

Резюме

Вирус герпеса человека 6А (ВГЧ6А) и вирус герпеса человека 6В (ВГЧ6В) — убиквитарные вирусы, инфицирующие более 95% мирового населения. Клинические проявления ВГЧ6-инфекции и ассоциированные с ней заболевания разнообразны, что может зависеть от молекулярно-генетических особенностей вирусов, проявляющихся на уровне геновариантов. Оценка значения молекулярно-генетического разнообразия двух вирусов затруднена вследствие отсутствия их внутривидовой классификации. Целью работы стала разработка внутривидовой классификации ВГЧ6А и ВГЧ6В. С использованием 50 и 207 полногеномных последовательностей ВГЧ6А и ВГЧ6В, полученных из банка данных NCBI Nucleotide, проанализированы различные фрагменты генома вирусов. Множественное выравнивание последовательностей выполняли с применением алгоритма MAFFT L-INS-i, для построения дендрограмм использовали модель нуклеотидных замен «F81» и метод максимального правдоподобия. Нуклеотидные замены определяли относительно референсных последовательностей X83413 (ВГЧ6А) и AF157706 (ВГЧ6В). Геноварианты выделяли на основании анализа нуклеотидных замен в варибельных позициях фрагмента. В дальнейшем результаты подтверждали построением дендрограмм. Была произведена оценка возможности применения различных фрагментов генома ВГЧ6А и ВГЧ6В для построения внутривидовой классификации двух вирусов. В результате анализа в качестве оптимального были выбраны фрагменты *U90(part206)* и *U90B(part431)*, являющиеся продуктом ПЦР для дифференциальной детекции ВГЧ6А и ВГЧ6В. На основании нуклеотидных последовательностей выбранных фрагментов построена внутривидовая классификация ВГЧ6А и ВГЧ6В, включающая по семь геновариантов каждого вида вируса. Геноварианты характеризовались уникальным нуклеотидным составом в определенных нами сигнатурных позициях. Установлено минимальное (0,001 и менее для обоих вирусов) нуклеотидное разнообразие последовательностей в пределах выделенных геновариантов. Разработанная

классификация отражает филогенетические взаимоотношения циркулирующих и хромосомно-интегрированных форм ВГЧ6А и ВГЧ6В: дивергенцию геновариантов ВГЧ6А в зависимости от формы персистенции и сайта интеграции вируса и коэволюцию двух форм ВГЧ6В в пределах нескольких геновариантов. В результате дальнейших исследований молекулярно-генетического разнообразия вирусов в различных регионах России и мира классификация может быть дополнена. Способ классификации ВГЧ6А и ВГЧ6В характеризуется простотой, технологической доступностью и может быть внедрен в лабораториях разного уровня технического оснащения. Разработанная классификация может использоваться для изучения влияния молекулярно-генетического разнообразия вирусов на клинические характеристики ассоциированных заболеваний, оптимизации системы эпидемиологического надзора за ВГЧ6А/В-инфекцией, разработке новых подходов к диагностике, профилактике и лечению ВГЧ6-инфекции.

Ключевые слова: ВГЧ6А, ВГЧ6В, геновариант, генотип, штамм, классификация, эволюция, филогения.

Abstract

Human herpesvirus 6A (HHV6A) and human herpesvirus 6B (HHV6) are ubiquitous viruses that infect more than 95% of the population. Clinical manifestations of HHV6 infection and associated diseases are diverse, which may depend on virus molecular genetic characteristics (genovariants). Estimating the significance of the molecular genetic diversity is complicated due to the lack of proper classification. The aim of the study was to develop an intraspecies HHV6A and HHV6B classification. Using 50 and 207 HHV6A and HHV6B full-genome sequences retrieved from the NCBI Nucleotide database, various fragments of virus genome were analyzed. Multiple sequence alignment was performed using MAFFT L-INS-i algorithm; F81 nucleotide substitution model and maximum likelihood method were used to construct dendrograms. Nucleotide substitutions were determined relative to reference sequences X83413 (HHV6A) and AF157706 (HHV6B). Genovariants were defined based on the nucleotide substitutions in variable positions of the genomic fragment. The results were confirmed by constructing dendrograms. An opportunity of using fragments of HHV6A and HHV6B genomes to construct an intraspecies classification was assessed. Fragments *U90 (part206)* and *U90B(part431)* were selected as optimal. Based on the nucleotide sequences of the fragments, the intraspecies classification for HHV6A and HHV6B was constructed, including seven genovariants of each virus. The genovariants were characterized by unique nucleotide composition in the signature positions. A minimum (0.001 or less for both viruses) nucleotide diversity within the isolated genovariants was established. The classification reflects the phylogenetic relationships of circulating and inherited chromosomally integrated forms of HHV6A and HHV6B: divergence of HHV6A genovariants depending on its persistence form and integration site and coevolution of two HHV6B forms within several genovariants. Further studies on virus molecular genetic diversity in different regions of Russia and abroad may supplement the classification. The method of HHV6A and HHV6B classification is characterized by simplicity, technological accessibility and can be implemented in laboratories of different levels of technical

equipment. The classification can be used to analyze an effect of virus molecular genetic diversity on the clinical characteristics of associated diseases, optimize the epidemiological surveillance system and develop new approaches for diagnostics, prevention, and treatment of HHV6 infection.

Keywords: HHV6A, HHV6B, genovariant, genotype, strain, classification, evolution, phylogeny.

1 Введение

2 *Roseolovirus humanbetaa* (бета-герпесвирус человека 6А, вирус герпеса
3 человека 6А, ВГЧ6А) и *Roseolovirus humanbetabb* (бета-герпесвирус человека
4 6В, вирус герпеса человека 6В, ВГЧ6В) — повсеместно распространенные
5 представители герпесвирусов. В течение длительного времени ВГЧ6А и
6 ВГЧ6В рассматривали как два субтипа одного вируса (вируса герпеса
7 человека 6 типа). В 2012 году ВГЧ6В в номенклатуре ICTV
8 (<https://ictv.global/taxonomy>) был определен как самостоятельный вид, а в
9 марте 2023 г. была ратифицирована современная классификация двух вирусов.
10 Согласно актуальной таксономии ICTV, ВГЧ6А и ВГЧ6В отнесены к
11 семейству *Orthoherpesviridae*, подсемейству *Betaherpesvirinae*, роду
12 *Roseolovirus*.

13 ВГЧ6А и ВГЧ6В обладают схожим жизненным циклом, способны
14 интегрироваться в геном половых клеток хозяина с формированием
15 наследуемой хромосомно-интегрированной формы вируса (хиВГЧ6А и
16 хиВГЧ6В) [1, 2, 4]. Идентичность нуклеотидных и аминокислотных
17 последовательностей ВГЧ6А и ВГЧ6В превышает 90% [11, 15, 19]. Оба вида
18 могут быть дифференцированы с помощью молекулярно-генетических
19 методов благодаря наличию уникальных открытых рамок считывания,
20 преимущественно располагающихся в области генов *U86-U100* [6, 15, 19].

21 ВГЧ6А- и ВГЧ6В-инфекция характеризуется разнообразными
22 клиническими проявлениями, а также широким спектром возможных
23 осложнений. Первичная ВГЧ6В-инфекция протекает в виде внезапной
24 экзантемы, недифференцированных лихорадочных состояний, фебрильных
25 судорог [3, 7, 9], однако вирус также ассоциирован с поражением органов
26 центральной нервной системы и желудочно-кишечного тракта [13, 18].
27 Первичная ВГЧ6А-инфекция, как правило, протекает бессимптомно [3, 14], но
28 известна роль вируса в развитии заболеваний, обусловленных амилоидозом
29 клеток микроглии и гибелью нейронов [22]. Предполагают роль хиВГЧ6А в
30 развитии онкологических и воспалительных, а хиВГЧ6В — в развитии

31 сердечно-сосудистых заболеваний [7]. Наблюдаемое разнообразие
 32 клинических проявлений ВГЧ6А- и ВГЧ6В-инфекции, а также
 33 сопутствующих им заболеваний может быть обусловлено внутривидовыми
 34 молекулярно-генетическими особенностями инфицирующих вирусов.

35 Исторически для каждого вида вируса охарактеризованы два
 36 лабораторных штамма: африканский U1102 и североамериканский GS для
 37 ВГЧ6А, африканский Z29 и японский HST для ВГЧ6В [7]. Некоторые
 38 исследователи дополнительно выделяют африканский штамм ВГЧ6А – AJ,
 39 геном которого имеет высокое сходство с геномом штамма GS [25].
 40 Абсолютное большинство методов классификации ВГЧ6А и ВГЧ6В,
 41 описанных в литературе, сосредоточено только на дифференциации двух
 42 видов вирусов и их основных штаммов. В основе различий лежит
 43 полиморфизм как высокодивергентных генов *U90* [20, 23], *U83* [25], *U86*, *U87*
 44 [15] и их комбинаций [12], так и консервативных генов *U39(gB)* и *U48(gH)*
 45 [10]. Для хиВГЧ6А и хиВГЧ6В исследовано разделение вирусов на
 46 субварианты в зависимости от последовательности сайта интеграции [21].

47 Вопрос о роли внутривидового молекулярно-генетического
 48 разнообразия ВГЧ6А и ВГЧ6В остается неизученным, а общепринятая
 49 внутривидовая классификация ВГЧ6А и ВГЧ6В отсутствует. Разработка
 50 последней необходима для изучения клинических и эпидемиологических
 51 свойств разных вариантов вирусов, а, следовательно, прогнозирования
 52 тяжести течения и вероятности осложнения заболевания, обоснования выбора
 53 терапевтических подходов. В научной литературе и патентной документации
 54 фигурирует ряд подходов, базирующихся на использовании метода ПЦР для
 55 дифференциальной диагностики ВГЧ6А и ВГЧ6В (таблица 1). Вариант одной
 56 из подобных тест-системы разработан в нашей лаборатории (патент РФ №
 57 RU2805956C1), он основан на амплификации фрагмента гена *U90*, имеющего
 58 длину 206 н.о. у ВГЧ6А и 431 н.о. у ВГЧ6В [8]. Нарботанные продукты
 59 амплификации сразу могут быть секвенированы (например, методом Сэнгера),
 60 что делает их оптимальными кандидатами для создания внутривидовой

61 классификации ВГЧ6А и ВГЧ6В с целью дальнейшего внедрения способа
62 определения внутривидовой принадлежности вирусов в практику
63 здравоохранения.

64 **Цель исследования** — разработка внутривидовой классификации
65 ВГЧ6А и ВГЧ6В.

66 2 Материалы и методы

67 *Получение последовательностей.* Использовали полногеномные и
68 частичные (более 140000 н.о.) последовательности, а также
69 последовательность гена *U90*, загруженные из банка данных NCBI Nucleotide
70 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucscore>) согласно результатам поиска и
71 номерам, использованным в работах других авторов [12, 21]. Всего было
72 использовано 50 последовательностей ВГЧ6А и 207 последовательностей
73 ВГЧ6В. Полный перечень использованных последовательностей представлен
74 в приложении 1.

75 **Отбор кандидатных фрагментов для построения классификации ВГЧ6А**
76 **и ВГЧ6В** проводили по результатам анализа патентной документации и
77 данных литературы. Выбирали фрагменты, нарабатываемые в результате
78 применения различных способов дифференциальной детекции ВГЧ6А и
79 ВГЧ6В методом ПЦР (таблица 1).

80 **Наборы фрагментов** получали путем виртуальной нарезки выгруженных
81 полногеномных последовательностей по соответствующим координатам. Для
82 получения аминокислотных последовательностей нуклеотидные
83 последовательности транслировали согласно стандартному генетическому
84 коду.

85 *Построение дендрограмм.* Для построения дендрограмм использовали
86 нуклеотидные последовательности фрагментов генома ВГЧ6А или ВГЧ6В и
87 внешнюю группу — фрагмент референсной последовательности ВГЧ6В или
88 ВГЧ6А, соответственно. Множественное выравнивание последовательностей
89 выполняли с использованием алгоритма MAFFT L-INS-i. Использовали
90 модель нуклеотидных замен «F81». Построение филогенетических деревьев

91 для анализа молекулярно-генетической изменчивости фрагментов выполняли
92 методом максимального правдоподобия. Достоверность топологии дерева
93 оценивали методом бутстреп, при значении бутстреп-поддержки более 70
94 топологию ветвей считали достоверной. При сравнении кластеризации разных
95 фрагментов, строили танглеграммы с применением метода ближайших
96 соседей.

97 *Оценка воспроизводимости кластеризации.* Для каждого кандидатного
98 фрагмента определяли количество крупных кластеров, сформированных на
99 дендрограмме. Сравнивали кластеризацию последовательностей фрагментов
100 *U90A(part206)*, *U90B(part431)* и последовательностей других фрагментов
101 путем построения танглеграмм. Различия кластеризации оценивали по
102 показателю запутанности (доля несоответствующих листьев дендрограммы).
103 Сходство двух дендрограмм определяли по значению гамма-корреляции
104 Бэйкера. Воспроизводимость кластеризации устанавливали по значению
105 индекса Фаулкса-Мэллоу.

106 *Анализ молекулярно-генетического разнообразия последовательностей*
107 *фрагментов U90A(part206) и U90B(part431).* Наборы последовательностей
108 *U90A(part206)* и *U90B(part431)* анализировали на наличие точечных мутаций,
109 делеций и инсерций относительно соответствующих участков референсных
110 геномов (NCBI ID X83413 для ВГЧ6А и AF157706 для ВГЧ6В).
111 Последовательности со схожим нуклеотидным паттерном объединяли в
112 генетические группы — геноварианты, для каждого геноварианта определяли
113 набор сигнатурных (позволяющих идентифицировать геновариант) и
114 характерных (присущих нескольким геновариантам) нуклеотидных и
115 аминокислотных замен. Полиморфизм геновариантов оценивали, рассчитывая
116 показатель нуклеотидного разнообразия по методу Nei для
117 последовательностей в пределах одного геноварианта, а также при их
118 группировке. Рассчитывали долю нуклеотидов, долю нуклеотидов с заменами
119 и долю позиций с нуклеотидными заменами в последовательностях
120 фрагментов *90A(part206)* и *U90B(part431)* относительно полных

121 последовательностей гена *U90*, а также нуклеотидное разнообразие
 122 последовательностей фрагментов и полных последовательностей гена *U90*.

123 *Программное обеспечение.* Для первичного анализа и визуализации
 124 последовательностей использовали утилиту Unipro UGENE (версия 49.1).
 125 Алгоритм анализа был написан на языке R (версия 4.0.3) с использованием
 126 пакетов: ape 5.7-1, Biostrings 3.1, dendextend 1.17.1, disprose 0.1.6, ggplot2 3.4.1,
 127 ggtree 3.6.2, ggtreeExtra 1.8.1, msa 1.30.1, pegas 1.1, phangorn 2.11.1, RPANDA
 128 2.3. Для реализации множественного выравнивания последовательностей
 129 алгоритмом MAFFT L-INS-i использовали утилиту mafft (версия 7.525).

130 *Результаты. Сравнение кластеризации последовательностей ВГЧ6А и*
 131 *ВГЧ6В при использовании различных фрагментов генома.* При использовании
 132 фрагмента *U90A(part206)* нуклеотидные последовательности ВГЧ6А
 133 разделяли на 4 крупных кластера (значения рассчитанных показателей
 134 кластеризации представлены в приложении 2). Кластеризация
 135 воспроизводилась с сопоставимой детализацией при использовании
 136 фрагментов *U90А* и *U90A(part389)* (оба фрагмента включают в себя фрагмент
 137 *U90A(part206)*) и полногеномных последовательностей ВГЧ6А, и с меньшей
 138 детализацией — при использовании полных последовательностей генов
 139 гликопротеинов *U39А (gВ)* и *U48А (gН)*. Все перечисленные фрагменты имели
 140 большую протяженность по сравнению с фрагментом *U90A(part206)*.

141 Использование фрагментов меньшей длины — *U31A(part200)*,
 142 *U38A(part252)* и *U69A(part201)* — приводило к сокращению количества
 143 оформленных крупных кластеров. Короткие последовательности
 144 *U41A(part123)* и *U67A(part111)* имели идентичный или практически
 145 идентичный нуклеотидный состав, не поддерживали кластеризацию и не
 146 позволяли классифицировать последовательности ВГЧ6А.

147 Нуклеотидные фрагменты ВГЧ6В *U90B(part431)* также разделяли на 4
 148 крупных кластера. Кластеризация воспроизводилась с сопоставимой
 149 детализацией при использовании фрагмента *U90B(part621)* (включает в себя
 150 фрагмент *U90B(part431)*).

151 На дендрограммах, построенных при использовании полногеномных
152 последовательностей ВГЧ6В, полных последовательностей гена *U90В*, а также
153 генов гликопротеинов *U39 (gB)* и *U48 (gH)*, выделяли множество мелких
154 кластеров. При этом отношение индивидуальных последовательностей к
155 определенным кластерам не воспроизводилось на различных дендрограммах,
156 что затруднило идентификацию кластеров и привело к высоким показателям
157 запутанности при их сравнении.

158 Короткие фрагменты *U31В(part200)*, *U38В(part252)*, *U41В(part131)*,
159 *U67В(part111)* и *U69В(part186)* были представлены идентичными или
160 практически идентичными нуклеотидными последовательностями и
161 оказались непригодны для классификации ВГЧ6В.

162 Таким образом, использование фрагментов *U90А(part206)* и
163 *U90В(part431)* позволило выполнить кластеризацию нуклеотидных
164 последовательностей ВГЧ6А и ВГЧ6В с воспроизводимой детализацией.
165 Результаты анализа подтверждают возможность их применения для
166 построения внутривидовой классификации двух вирусов.

167 *Нуклеотидное разнообразие фрагментов U90А(part206) и*
168 *U90В(part431).* Показатель нуклеотидного разнообразия фрагмента
169 *U90А(part206)* составил 0,0352, в то время как для полной последовательности
170 гена *U90А* он был равен 0,0220. Протяженность фрагмента *U90А(part206)*
171 составила 6,82% от протяженности полной последовательности гена (206 из
172 3021 н.о.), при этом на долю фрагмента приходилось 11,00 % всех выявленных
173 нуклеотидных замен (438 из 3881 ед.) и 11,24% найденных позиций с
174 нуклеотидными заменами (28 из 249 ед.).

175 Нуклеотидное разнообразие фрагмента *U90В(part431)* составило 0,0049,
176 что превышало разнообразие последовательностей гена *U90В*,
177 характеризующееся значением 0,0054. Протяженность фрагмента
178 *U90В(part431)* составила 11,75% от протяженности гена *U90В* (431 из 3668
179 н.о.). При этом в пределах фрагмента находилось 14,88% всех нуклеотидных

180 замен (3104 из 20863 ед.) и 13,57% позиций с нуклеотидными заменами (27 из
 181 199 ед.).

182 Полученные результаты свидетельствуют, что фрагменты
 183 *U90A(part206)* и *U90B(part431)* располагаются в изменчивой части генов *U90A*
 184 и *U90B*, соответственно, и содержат достаточное для построения
 185 классификации количество нуклеотидных замен.

186 *Молекулярно-генетическая характеристика фрагмента U90A(part206)*
 187 *и внутривидовая классификация ВГЧ6А.* В результате анализа нуклеотидной
 188 последовательности 50 сиквенсов фрагмента *U90A(part206)* выделено 7
 189 геновариантов ВГЧ6А. Каждый геновариант характеризуется набором
 190 характерных и сигнатурных нуклеотидных и аминокислотных замен (таблица
 191 2). Геновариант «дикого» типа ВГЧ6А/GV0 представлен тремя
 192 последовательностями, а геноварианты ВГЧ6А/GV3b и ВГЧ6А/GV4 — одной
 193 и двумя, соответственно.

194 Уникальные комбинации нуклеотидов в основных сигнатурных
 195 позициях 134379, 134381, 134406, 134408, 134409, 134410 н.о. позволяют
 196 однозначно различить все выделенные нами геноварианты ВГЧ6А (за
 197 исключением геновариантов ВГЧ6А/GV3a и ВГЧ6А/GV3b). Указанные шесть
 198 позиций нуклеотидов определяют три аминокислоты в позициях 531, 522 и 521
 199 а.к., соответственно, также формирующих уникальные наборы аминокислот в
 200 белке U90 вирусов, относящихся к разным геновариантам. Таким образом,
 201 разделение геновариантов на основании последовательности фрагмента
 202 *U90A(part206)* выполняется на нуклеотидном и аминокислотном уровнях.

203 Кроме указанных в таблице 2 сигнатурных и характерных замен в 4 из
 204 50 проанализированных последовательностях были найдены уникальные
 205 мутации: A134390E – в одной последовательности ВГЧ6А/GV1; C134500T и
 206 C134438A – в одной последовательности ВГЧ6А/GV3b; C134527G,
 207 C134C134527G, C134464T и G134452C – в двух последовательностях
 208 ВГЧ6А/GV4. 6 из 7 уникальных мутаций были выявлены в

209 последовательностях, отнесенных к минорным геновариантам ВГЧ6А/GV3b и
210 ВГЧ6А/GV4.

211 В рамках предложенной нами классификации штамм U1102 был отнесен
212 к геноварианту ВГЧ6А/GV0, а штаммы GS и AJ — к геноварианту
213 ВГЧ6А/GV1.

214 Для подтверждения классификации ВГЧ6А на основании нуклеотидных
215 последовательностей фрагмента *U90A(part206)* построена дендрограмма
216 (рисунок 1). На дендрограмме последовательности, отнесенные нами к
217 различным геновариантам ВГЧ6А, формировали кластеры с бутстреп-
218 поддержкой более 90. Исключение составили последовательности
219 геновариантов ВГЧ6А/GV3b и ВГЧ6А/GV4, которые не сформировали
220 отдельные кластеры в силу своей малочисленности и высокой
221 индивидуальной изменчивости. Кластеры ВГЧ6А/GV0 и ВГЧ6А/GV1 входили
222 в одну кладу, что свидетельствует о возможной генетической близости двух
223 геновариантов. Аналогично, одну кладу формировали кластеры
224 геновариантов ВГЧ6А/GV3a, ВГЧ6А/GV3b и ВГЧ6А/GV3c,
225 последовательности которых обладают двумя характерными заменами, не
226 представленными в других геновариантах (таблица 3). Кластер геноварианта
227 ВГЧ6А/GV2 более близок к кладе геновариантов группы ВГЧ6А/GV3.

228 Нуклеотидное разнообразие последовательностей фрагмента
229 *U90A(part206)* в пределах выделенных нами геновариантов было
230 минимальным и не превышало 0,001 (значения нуклеотидного разнообразия
231 последовательностей фрагмента *U90A(part206)* представлено в приложении
232 3). Исключение составили две последовательности геноварианта ВГЧ6А/GV4,
233 в каждой из которых присутствуют уникальные мутации, что обуславливает их
234 различия по сравнению друг с другом (нуклеотидное разнообразие составило
235 0,019). Нуклеотидное разнообразие при комбинациях геновариантов
236 возрастало и превышало 0,020. Топология дендрограммы, построенной на
237 основании показателей нуклеотидного разнообразия геновариантов, повторяла

238 топологию дендрограммы, выполненной на основании нуклеотидных
239 последовательностей фрагмента *U90A(part206)* (рисунок 1).

240 *Форма персистенции геновариантов ВГЧ6А и их географическая*
241 *распространенность.* На дендрограмме циркулирующие и хромосомно-
242 интегрированные формы ВГЧ6А формировали отдельные клады,
243 совпадающие с кладами геновариантов вируса (рисунок 1). Все
244 последовательности циркулирующего ВГЧ6А относились к геновариантам
245 ВГЧ6А/GV0 и ВГЧ6А/GV1, а последовательности хиВГЧ6А — к
246 геновариантам ВГЧ6А/GV2, ВГЧ6А/GV3а, ВГЧ6А/GV3б, ВГЧ6А/GV3с и
247 ВГЧ6А/GV4. Кроме того, последовательности хиВГЧ6А, встраивающиеся в
248 разные хромосомы человека, также относились к разным геновариантам:
249 последовательности, интегрированные в короткое плечо хромосомы 17 — к
250 геноварианту ВГЧ6А/GV2, в длинное плечо хромосомы 18 — к ВГЧ6А/GV3а,
251 в длинное плечо хромосомы 19 — к ВГЧ6А/GV3с, в длинное плечо хромосомы
252 10 — в ВГЧ6А/GV4 (одна последовательность).

253 Оценка географической распространенности выделенных нами
254 геновариантов затруднительна вследствие недостаточного разнообразия мест
255 происхождения последовательностей, представленных в банке данных NCBI
256 Nucleotide. На март 2024 года из 50 отобранных для исследования
257 последовательностей абсолютное большинство было получено из стран
258 Европы и Северной Америки, преимущественно из Германии (19 ед.),
259 Великобритании (7 ед.) и США (6 ед.). Из стран Азии (Японии) получена 1
260 последовательность, из стран Африки суммарно 5 последовательностей.

261 На дендрограмме, представленной на рисунке 1, показано, что
262 геновариант ВГЧ6А/GV0 полностью составляли последовательности,
263 происходящие из Уганды, в то время как последовательности из других стран
264 были распределены в пределах других геновариантов. Геновариант
265 ВГЧ6А/GV3а почти полностью был представлен образцами из Германии, а
266 японский изолят относился к геноварианту ВГЧ6А/GV4. Два российских

267 образца хиВГЧ6А [1] располагались в кластере геноварианта ВГЧ6А/GV2. В
268 том же кластере локализовались образцы ВГЧ6А из Сербии.

269 *Молекулярно-генетическая характеристика фрагмента U90B(part431)*
270 *и внутривидовая классификация ВГЧ6В.* Нами было выделено 7
271 геновариантов ВГЧ6В, характеризовавшихся наличием сигнатурных и
272 характерных нуклеотидных и аминокислотных замен (таблица 3).
273 Геноварианты ВГЧ6В/GV1b, ВГЧ6В/GV2c и ВГЧ6В/GV2d на текущий момент
274 представлены только одной нуклеотидной последовательностью каждый.

275 Геноварианты ВГЧ6В различимы по присутствию нуклеотидных замен
276 в пяти сигнатурных позициях: 136505, 136507, 136522, 136524 и 136568,
277 определяющих аминокислоты в позициях 579, 578, 573, 572 и 558 белка U90В,
278 соответственно. Также последовательности фрагмента *U90B(part431)*
279 содержали значительное количество характерных нуклеотидных замен.
280 Замены С136302Т и С136610Т встречались во всех последовательностях не
281 «дикого» типа, другие 11 характерных замен были обнаружены только в
282 последовательностях геновариантов группы ВГЧ6В/GV2: ВГЧ6В/GV2a,
283 ВГЧ6В/GV2b, ВГЧ6В/GV2c и ВГЧ6В/GV2d.

284 У части последовательностей были идентифицированы уникальные
285 мутации, большая часть которых детектировалась в последовательностях
286 геноварианта ВГЧ6В/GV2a (G136289А, А136315G, Т136312С, А136524С,
287 G136309Т, С136563Т, А136578G). Несколько мутаций были обнаружены в
288 составе последовательностей геноварианта ВГЧ6В/GV2b (С136304Т,
289 С136364А, С136490Т).

290 Некоторые из выявленных нуклеотидных замен не вызывали замен
291 аминокислот. В частности, сигнатурная замена А136524G — единственная
292 замена в фрагменте *U90B(part431)*, позволяющая отличить геноварианты
293 ВГЧ6В/GV2a (А136524А) и ВГЧ6В/GV2b (А136524G), — не приводила к
294 замене валина в позиции 572 белка U90. Таким образом, геноварианты
295 ВГЧ6В/GV2a и ВГЧ6В/GV2b имеют идентичный набор аминокислот
296 фрагмента.

297 На дендрограмме, построенной на основе сравнения нуклеотидных
298 последовательностей фрагмента *U90B(part431)*, выделяются две основные
299 клады: клада геновариантов группы ВГЧ6В/GV0+ВГЧ6В/GV1 (ВГЧ6В/GV0,
300 ВГЧ6В/GV1a, ВГЧ6В/GV1b) и клада геновариантов группы ВГЧ6В/GV2
301 (GV2a, GV2b, GV2c, GV2d) (рисунок 2). В пределах клад последовательности
302 формировали кластеры, соответствующие геновариантам ВГЧ6В/GV0,
303 ВГЧ6В/GV1a, ВГЧ6В/GV2a и ВГЧ6В/GV2b. Бутстреп-поддержка кластеров
304 ВГЧ6В/GV0 и ВГЧ6В/GV1a превышала 90%, а кластеров ВГЧ6В/GV2a и
305 ВГЧ6В/GV2b — 80%. Последовательности геновариантов ВГЧ6В/GV1b,
306 ВГЧ6В/GV2c и ВГЧ6В/GV2d в силу малочисленности кластеры не
307 сформировали.

308 Минимальное нуклеотидное разнообразие (не более 0,001) было
309 характерно для последовательностей фрагмента в пределах каждого
310 геноварианта, а также при группировке последовательностей геноварианта
311 ВГЧ6В/GV2a с последовательностями других геновариантов группы
312 ВГЧ6В/GV2 (ВГЧ6В/GV2b, ВГЧ6В/GV2c, ВГЧ6В/GV2d) (значения
313 нуклеотидного разнообразия фрагмента *U90B(part431)* представлены в
314 приложении 4). Дендрограмма, построенная на основе сравнения значений
315 нуклеотидного разнообразия, подтвердила генетическую близость
316 последовательностей геновариантов ВГЧ6В/GV0 и группы ВГЧ6В/GV1, а
317 также последовательностей геновариантов группы ВГЧ6В/GV2.

318 *Форма персистенции геновариантов ВГЧ6В и их географическая*
319 *распространенность.* Взаимосвязи геноварианта ВГЧ6В и формы
320 персистенции вируса выявить не удалось. В пределах филогенетического
321 кластера каждого геноварианта, за исключением немногочисленного кластера
322 «дикого» типа ВГЧ6В/GV0, находились как вирусы с циркулирующей, так и
323 хромосомно-интегрированной формой персистенции (рисунок 2).
324 Взаимосвязи геноварианта хиВГЧ6В и сайтом интеграции также не было
325 выявлено.

326 Географическое происхождение изученных последовательностей
327 ВГЧ6В, как и в случае с ВГЧ6А, было ограничено несколькими странами. Из
328 207 последовательностей, отобранных для анализа, абсолютное большинство
329 было получено из стран западной Европы и Северной Америки,
330 преимущественно из США (91 ед.), Великобритании (51 ед.) и Германии (20
331 ед.). Среди стран Азии в происхождении последовательностей доминировала
332 Япония (25 ед.), а последовательности стран Африки были представлены всего
333 7 ед.

334 Геновариант ВГЧ6В/GV2b был полностью представлен
335 последовательностями изолятов из стран восточной Европы и Северной
336 Америки, геноварианты ВГЧ6В/GV1a и ВГЧ6В/GV2a составляли азиатские,
337 европейские и американские последовательности, а «дикий» тип ВГЧ6В/GV0
338 включал только африканские изоляты ВГЧ6В. Большинство японских
339 изолятов относились к геноварианту ВГЧ6В/GV2a, который соответствует
340 японскому штамму ВГЧ6В HST (рисунок 2).

341 3 Обсуждение

342 Несмотря на постоянно растущую доступность полногеномных данных,
343 типирование и внутривидовая классификация многих вирусов до сих пор
344 основаны на анализе нуклеотидной последовательности сравнительно
345 небольших по протяженности фрагментов вирусного генома [16]. Высокое
346 нуклеотидное разнообразие полногеномных последовательностей затрудняет
347 их группировку доступными методами, а поиск ключевых мутаций
348 представляется сложной биоинформатической задачей, требующей
349 значительных вычислительных ресурсов. Подход, основанный на
350 использовании коротких нуклеотидных последовательностей, как для
351 разработки внутривидовой классификации вирусов, так и для их типирования
352 в клинической практике, лишен указанных недостатков.

353 Предложенная нами внутривидовая классификация ВГЧ6А и ВГЧ6В на
354 основании нуклеотидной последовательности фрагментов *U90A(part206)* и
355 *U90B(part431)* обладает рядом преимуществ. Удобство применения

356 разработанной нами классификации обусловлено тем, что анализируемые
 357 фрагменты нарабатываются в ходе ПЦР для определения вида вируса (ВГЧ6А
 358 или ВГЧ6В). Длина фрагментов позволяет использовать для расшифровки их
 359 последовательностей один из наиболее простых, экономичных и
 360 распространенных методов секвенирования — секвенирование по Сэнгеру.
 361 Другое преимущество предложенного нами подхода к внутривидовой
 362 классификации ВГЧ6А и ВГЧ6В связано с его выраженной вариабельностью
 363 [15], что открывает перспективы практического применения разработанной
 364 классификации.

365 Исследованные нами фрагменты *U90A(part206)* и *U90B(part431)*
 366 расположены в одной из наиболее вариабельных частей гена *U90*. Нами
 367 показано, что вследствие полиморфизма даже сравнительно небольшие
 368 фрагменты 206 и 431 н.о. обеспечивают кластеризацию последовательностей
 369 ВГЧ6А и ВГЧ6В на уровне не ниже, а зачастую выше уровня кластеризации,
 370 выполненной на основании полных последовательностей крупных генов (*U39*,
 371 *U48*, *U90*). При этом за счет небольшой длины в последовательности
 372 фрагментов достаточно просто вычленить сигнатурные позиции,
 373 нуклеотидный состав которых позволяет однозначно идентифицировать
 374 геновариант ВГЧ6А и ВГЧ6В без применения дополнительных методов
 375 филогенетического анализа.

376 Предложенный нами подход к внутривидовой классификации выделяет
 377 по семь геновариантов ВГЧ6А и ВГЧ6В. Разработанная нами классификация
 378 поддерживает общепринятое разделение вирусов на штаммы: штамм ВГЧ6А
 379 U1102 относится к геноварианту ВГЧ6А/GV0, штаммы ВГЧ6А GS и AJ — к
 380 геноварианту ВГЧ6А/GV1, штамм ВГЧ6В Z29 — к геноварианту ВГЧ6В/GV0,
 381 а штамм ВГЧ6В HST — к геноварианту ВГЧ6В/GV2a. Некоторые
 382 геноварианты ВГЧ6А (ВГЧ6А/GV0, ВГЧ6А/GV3b, ВГЧ6А/GV4) и ВГЧ6В
 383 (ВГЧ6В/GV1b, ВГЧ6В/GV2c, ВГЧ6В/GV2d) на текущий момент представлены
 384 единичными последовательностями, обладающих уникальными
 385 комбинациями нуклеотидов в сигнатурных позициях. В состав одного из таких

386 геновариантов, ВГЧ6А/GV0 входит референсная последовательность вида
387 ВГЧ6А (NCBI ID X83413), что позволяет идентифицировать ВГЧ6А/GV0 как
388 действительный геновариант вируса. Для уточнения местоположения в
389 классификации других малочисленных геновариантов и исключения ошибки
390 секвенирования необходимы дальнейшие исследования с увеличением числа
391 анализируемых последовательностей.

392 Недостаточное количество расшифрованных геномных
393 последовательностей ВГЧ6А и ВГЧ6В, изолированных в разных регионах
394 мира, на сегодняшний день является фактором, лимитирующим детальную
395 характеристику молекулярно-генетического разнообразия вирусов [17].
396 Абсолютное большинство (64% последовательностей ВГЧ6А и 78%
397 последовательностей ВГЧ6В) расшифрованных полногеномных сиквенсов,
398 доступных для анализа в банке данных NCBI Nucleotide весной 2024 года,
399 принадлежат вирусам, изолированных в трех странах мира: Великобритании,
400 Германии и США. Россия в банке данных представлена только двумя
401 полногеномными последовательностями ВГЧ6А [1]. Таким образом,
402 наблюдаемое нами распределение частот встречаемости геновариантов
403 ВГЧ6А и ВГЧ6В может не отражать их истинную распространенность в мире,
404 и активное накопление данных о разнообразии двух вирусов в России и других
405 регионах необходимо для построения адекватных гипотез об особенностях их
406 эволюции, эпидемиологической и клинической значимости. Мы полагаем, что
407 последующие исследования расширят и дополнят предлагаемую нами
408 внутривидовую классификацию ВГЧ6А и ВГЧ6В.

409 Вместе с тем, данных, полученных другими исследователями,
410 достаточно для установления основного различия филогении ВГЧ6А и
411 ВГЧ6В: историческое разделение циркулирующих и хромосомно-
412 интегрированных форм ВГЧ6А уже произошло и разные формы вируса
413 эволюционируют параллельно, в то время как для ВГЧ6В все еще сохраняется
414 возможность интеграции циркулирующих форм и реактивации
415 (высвобождения) хромосомно-интегрированных, что обуславливает их

416 смешение [12, 17, 27]. Данная особенность филогении вирусов находит
417 отражение в результатах их внутривидовой классификации. Циркулирующие
418 и хромосомно-интегрированные формы ВГЧ6А относятся к разным
419 геновариантам, но разные формы ВГЧ6В смешаны в пределах нескольких
420 геновариантов.

421 Другой установленной особенностью ВГЧ6А и ВГЧ6В является то, что
422 геномы европейских и североамериканских хромосомно-интегрированных
423 форм обоих вирусов несут следы эффекта бутылочного горлышка либо
424 эффекта основателя [17] – сокращения генетического разнообразия с
425 последующей экспансией определенного геноварианта в процессе эволюции.
426 Подобные процессы в истории ВГЧ6В, например, могут объяснить
427 наблюдаемые различия нуклеотидного состава фрагмента *U90B(part431)*
428 между геновариантом ВГЧ6В/GV2a, встречающимся преимущественно в
429 Азии, и геновариантом ВГЧ6В/GV2b, распространенным в Европе и Северной
430 Америки. Два геноварианта различаются нуклеотидной заменой в позиции
431 136524 н.о. (A136524A у ВГЧ6В/GV2a и A136524G у ВГЧ6В/GV2b), не
432 приводящей к замене аминокислоты. Такая мутация (фенотипически не
433 проявляется), не подвергалась действию естественного отбора и могла
434 закрепиться в популяции в случае географической или иной изоляции.

435 В результате работы нами разработана первая в России и одна из первых
436 в мире внутривидовая классификация ВГЧ6А и ВГЧ6В. Классификация
437 геновариантов вирусов, основанная на последовательности фрагментов
438 *U90A(part206)* и *U90B(431)*, поддерживает общепринятое разделение двух
439 вирусов на штаммы и отражает особенности их эволюции. К преимуществам
440 разработанной классификации относятся ее простота, технологическая
441 доступность и возможность внедрения в лабораториях различного уровня
442 технической оснащенности. Результаты работы лягут в основу дальнейшего
443 изучения молекулярно-генетического разнообразия двух вирусов на
444 территории России и регионов мира, а также установления

445 эпидемиологической и клинической значимости геновариантов ВГЧ6А и
446 ВГЧ6В.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Кандидатные фрагменты для построения внутривидовой классификации ВГЧ6А и ВГЧ6В.

Table 1. Candidate fragments for development of intraspecific classification of HHV6A and HHV6B.

Вид Species	Фрагмент Fragment	Длина. н.о. Length, n.b.	Координаты*, н.о. Coordinates*, n.b.	Источник Source
ВГЧ6А / HHV6А	<i>U31A(part200)</i>	200	51067 - 51266	Патент RU2806427C1
ВГЧ6В / HHV6В	<i>U31B(part200)</i>	200	52133 - 52332	Patent RU2806427C1
ВГЧ6А / HHV6А	<i>U38A(part252)</i>	252	57564 - 57806	Патент CN103820574B
ВГЧ6В / HHV6В	<i>U38B(part252)</i>	252	58635 - 58886	Patent CN103820574B
ВГЧ6А / HHV6А	<i>U39A (gB)</i>	2656	59540 - 62195	[10]
ВГЧ6В / HHV6В	<i>U39B (gB)</i>	2656	60611 - 63266	
ВГЧ6А / HHV6А	<i>U41A(part123)</i>	123	65267 - 65389	[28]
ВГЧ6В / HHV6В	<i>U41B(part131)</i>	131	66334 - 66464	

ВГЧ6А / HHV6А	<i>U48A (gH)</i>	2271	78025 - 80295	[10]
ВГЧ6В / HHV6В	<i>U48B (gH)</i>	2266	79206 - 81471	
ВГЧ6А / HHV6А	<i>U67A(part111)</i>	111	103079 - 103189	[5], Патент
ВГЧ6В / HHV6В	<i>U67B(part111)</i>	111	104325 - 104435	RU2627607C1 Patent RU2627607C1
ВГЧ6А / HHV6А	<i>U69A(part201)</i>	201	102660 - 102860	Патент JP2018085961A
ВГЧ6В / HHV6В	<i>U69B(part186)</i>	186	103910 - 104095	Patent JP2018085961A
ВГЧ6А / HHV6А	<i>U90A(part206)</i>	206	134340 - 134545	[8, 20, 23], Патент
ВГЧ6В / HHV6В	<i>U90B(part431)</i>	431	136206 - 136636	RU2805956C1 Patent RU2805956C1
ВГЧ6А / HHV6А	<i>U90A(part389)</i>	389	134258 - 134646	Патент JP3833152C1
ВГЧ6В / HHV6В	<i>U90B(part621)</i>	621	136120 - 136740	Patent JP3833152C1
ВГЧ6А / HHV6А	<i>U90A</i>	3021	133146 - 133166	[24, 26]
ВГЧ6В / HHV6В	<i>U90B</i>	3668	134769 - 138436	

ВГЧ6А / HHV6A	Полные и частичные	> 140000	---	---
ВГЧ6В / HHV6B	геномные последователь- ности Full and partial genomes			

* - Координаты указаны относительно референсных последовательностей NCBI ID X83413 (ВГЧ6А) и AF157706 (ВГЧ6В).

* - Coordinates are set according to reference sequences NCBI ID X83413 (HHV6A) и AF157706 (HHV6B).

Таблица 2. Нуклеотидные и аминокислотные замены в последовательности U90A(part206).

Table 2. Nucleotide and amino acid substitutions in the U90A (part206) sequence.

Геновариант Genovariant	Сигнатурные замены Signature substitutions		Характерные замены Specific substitutions	
	Нуклеотидные * Nucleotide *	Аминокислотные * Amino acid *	Нуклеотидные * Nucleotide *	Аминокислотные * Amino acid *
ВГЧ6А/GV0 ** (штамм U1102, «дикий» тип) HHV6A/GV0 ** (U1102 strain, wild type)	C134379C+T13 4381T A134406A+A13 4408A G134409G+G13 4410G	M531M Y522Y S521S	---	---
ВГЧ6А/GV1 (штамм GS, штамм AJ) HHV6A/GV1 (GS strain, AJ strain)	C134379C+T13 4381A A134406A+A13 4408T G134409G+G13 4410G G134508A	M531L Y522N S521S N488N	T134399G G134445A	T525P C509C
ВГЧ6А/GV2 HHV6A/GV2	C134379T+T13 4381A	M531L Y522H S521L	T134399G C134404T	T525P G523D C509C

	A134406A+A13 4408G G134409T+G13 4410A C134468G G134531A	E502Q L481L	G134445A	
ВГЧ6А/GV3a HHV6A/GV3a	C134379A+T13 4381G A134406A+A13 4408G G134409G+G13 4410A G134514A	M531L Y522H S521F N486N	T134399G C134404T G134445A C134417G G134521A	T525P G523D C509C D519H P484L
ВГЧ6А/GV3b ** HHV6A/GV3b **	C134379A+T13 4381G A134406A+A13 4408G G134409G+G13 4410A del3(134420- 134422)	M531L Y522H S521F Q518del	T134399G C134404T G134445A C134417G G134521A	T525P G523D C509C D519H P484L

ВГЧ6А/GV3с HHV6A/GV3с	C134379A+T13 4381G A134406T+A13 4408G G134409G+G13 4410A G134459A C134490A C134498T	M531L Y522Q S521F L505F Q494H G492S	T134399G C134404T G134445A C134417G G134521A	T525P G523D C509C D519H P484L
ВГЧ6А/GV4 ** HHV6A/GV4 **	C134379A+T13 4381T A134406A+A13 4408G G134409G+G13 4410A	M531I Y522H S521F	T134399G C134404T G134445A	T525P G523D C509C

* - Координаты указаны относительно референсных последовательностей NCBI ID X83413 (для нуклеотидов) и CAA58339 (для аминокислот). ** - Количество последовательностей в группе менее или равно 3.

* - Coordinates are given relative to reference sequences NCBI ID X83413 (for nucleotides) and CAA58339 (for amino acids).** - The number of sequences in the group is less than or equal to 3.

Таблица 3. Нуклеотидные и аминокислотные замены в последовательности *U90B(part431)*.

Table 3. Nucleotide and amino acid substitutions in the *U90B (part431)* sequence.

Геновариант Genovariant	Сигнатурные замены Signature substitutions		Характерные замены Specific substitutions	
	Нуклеотидные * Nucleotide *	Аминокислотные * Amino acid *	Нуклеотидные * Nucleotide *	Аминокислотные * Amino acid *
ВГЧ6В/GV0 (штамм Z29, «дикий» тип) HHV6B/GV0 (Z29 strain, wild type)	G136505G; C136507C A136522A; A136524A A136568A	Q579Q; G578G V573V; V572V F558F	---	---
ВГЧ6В/GV1a HHV6B/GV1a	G136505C; C136507T A136522G; A136524A A136568A	Q579E; G578E V573A; V572V F558F	C136302T; C136610T	E646E; D544N
ВГЧ6В/GV1b ** HHV6B/GV1b **	G136505C; C136507C A136522A; A136524A A136568A	Q579E; G578G V573V; V572V F558F	C136302T; C136610T	E646E; D544N

<p>ВГЧ6В/GV2a (штамм HST) HHV6B/G2a (HST strain)</p>	<p>G136505G; C136507T A136522A; A136524A A136568C</p>	<p>Q579Q; G578E V573V; V572V F558V</p>	<p>C136302T; C136610T T136316A; A136328T G136332A; G136346A C136363T; T136391C C136406A; A136454T T136475G; T136559C C136577A</p>	<p>E646E; D544N M642L; L638I S636S; L632L G626D; N617D G612C; W596R K589Q; K561E G555C</p>
<p>ВГЧ6В/GV2b HHV6B/GV2b</p>	<p>G136505G; C136507T A136522A; A136524G A136568C</p>	<p>Q579Q; G578E V573V; V572V F558V</p>	<p>C136302T; C136610T T136316A; A136328T G136332A; G136346A C136363T; T136391C</p>	<p>E646E; D544N M642L; L638I S636S; L632L G626D; N617D</p>

			C136406A; A136454T T136475G; T136559C C136577A	G612C; W596R K589Q; K561E G555C
ВГЧ6В/GV2 ** HHV6B/GV2c **	G136505G; C136507T A136522G; A136524A A136568A	Q579Q; G578E V573A; V572V F558F	C136302T; T136316A; A136328T G136332A; G136346A C136363T; T136391C C136406A; A136454T T136475G; T136559C C136577A	E646E; M642L; L638I S636S; L632L G626D; N617D G612C; W596R K589Q; K561E G555C
ВГЧ6В/GV2d ** HHV6B/GV2d **	G136505G; C136507C A136522A; A136524A A136568C	Q579Q; G578G V573V; V572V F558V	C136302T; C136610T T136316A; A136328T	E646E; D544N M642L; L638I

		G136332A;	S636S;
		G136346A	L632L
		C136363T;	G626D;
		T136391C	N617D
		C136406A;	G612C;
		A136454T	W596R
		T136475G;	K589Q;
		T136559C	K561E
		C136577A	G555C

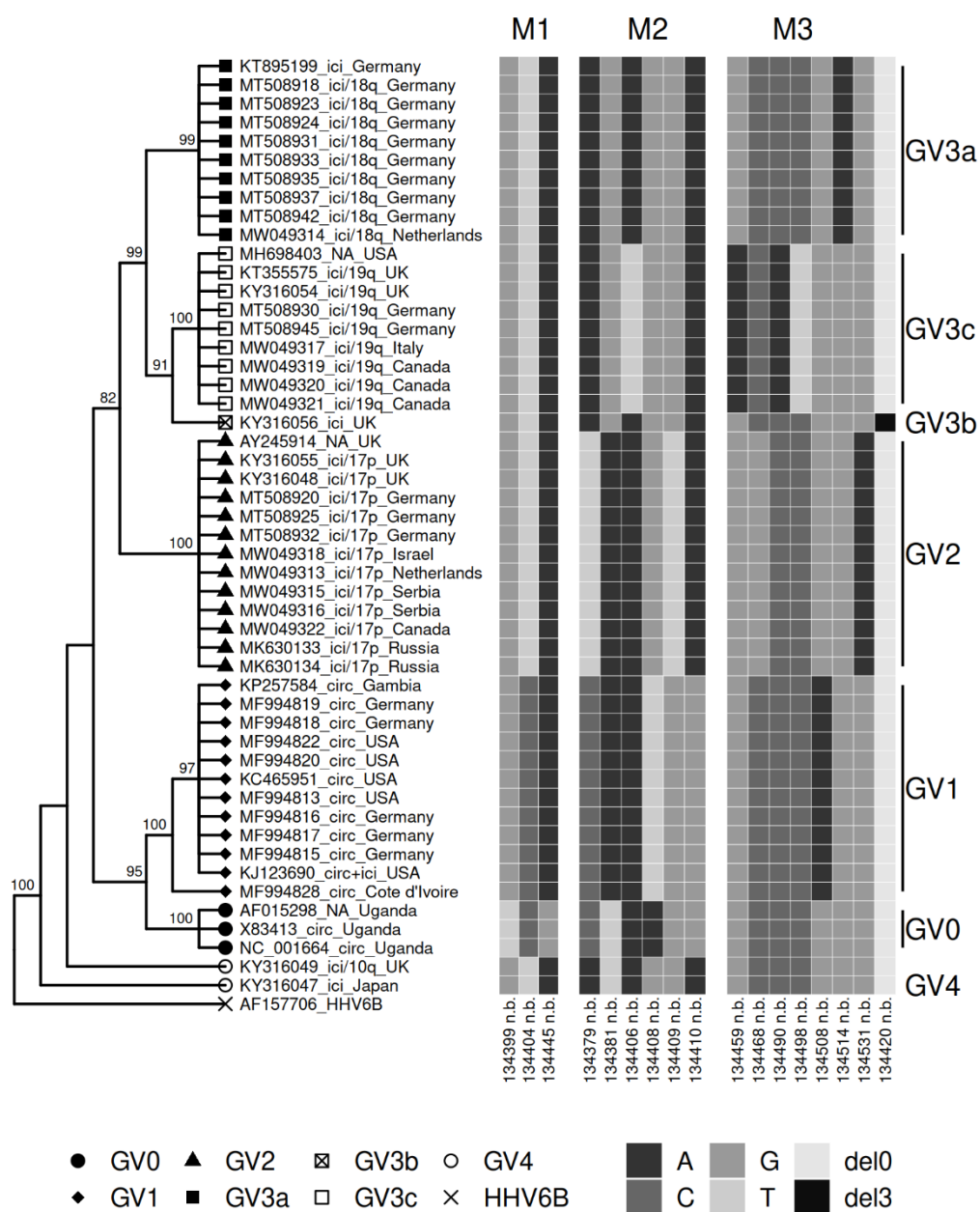
* - Координаты указаны относительно референсных последовательностей NCBI ID AF157706 (для нуклеотидов) и AAD49675 (для аминокислот). ** - Количество последовательностей в группе менее или равно 3.

* - Coordinates are given relative to reference sequences NCBI ID AF157706 (for nucleotides) and AAD49675 (for amino acids).** - The number of sequences in the group is less than or equal to 3.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Дендрограмма, построенная на основе сравнения нуклеотидных последовательностей фрагмента *U90A(part206)* 50 сиквенсов ВГЧ6А.

Figure 1. Dendrogram constructed based on comparison of nucleotide sequences of the *U90A (part206)* fragment of 50 HHV6A sequences.

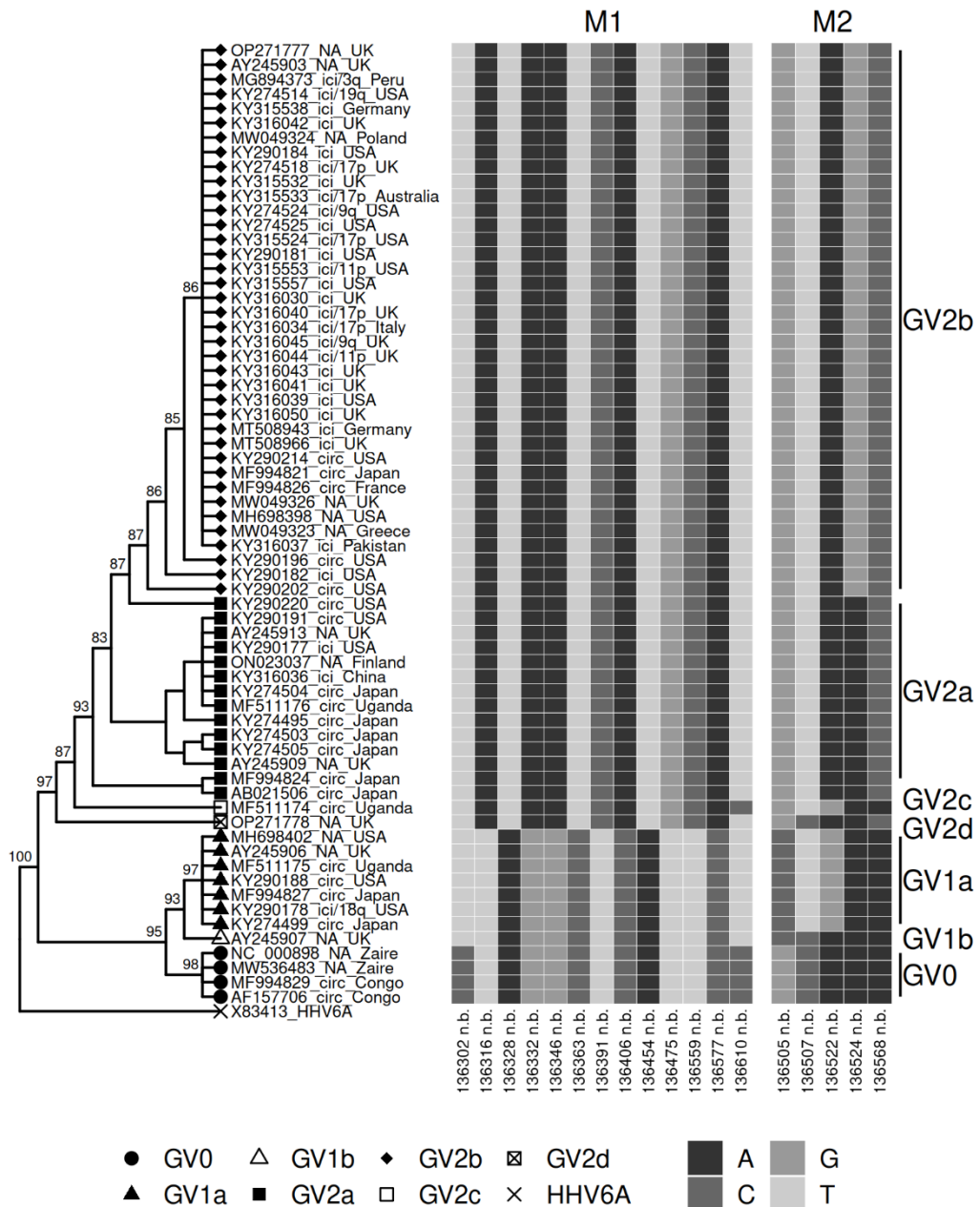


Для построения дендрограммы использована модель нуклеотидных замен “F81+G(4)” и метод максимального правдоподобия. Наименования сиквенсов указаны как «идентификационный номер _ форма (с указанием хромосомы) страна происхождения изолята». *ici* — хромосомно-интегрированная форма, *circ* — циркулирующая форма, *NA* — данные отсутствуют. Замены: *M1* — характерные, *M2* — основные сигнатурные, *M3* — индивидуальные сигнатурные. Координаты указаны относительно последовательности референсного генома NCBI ID X83413.

The dendrogram was constructed using the “F81+G (4)” nucleotide substitution model and the maximum likelihood method. The names of the sequences are indicated as “identification number _ form (indicating the chromosome) _ country of origin of the isolate”. *ici* — inherited chromosomally integrated form, *circ* — circulating form, *NA* — data not available. Substitutions: *M1* — specific, *M2* — main signature, *M3* — individual signature. The coordinates are indicated relative to the sequence of the reference genome NCBI ID X83413.

Рисунок 2. Дендрограмма, построенная на основе сравнения нуклеотидных последовательностей фрагмента *U90B(part431)* 207 сиквенсов ВГЧ6В.

Figure 2. Dendrogram constructed based on comparison of nucleotide sequences of the *U90B (part431)* fragment of 207 HHV6B sequences.



Для построения дендрограммы использована модель нуклеотидных замен “F81+G(4)” и метод максимального правдоподобия. На рисунке отображено 66 последовательностей. Наименования сиквенсов указаны как «идентификационный номер _ форма (с указанием хромосомы) страна

происхождения изолята». *ici* — хромосомно-интегрированная форма, *circ* — циркулирующая форма, *NA* — данные отсутствуют. Замены: *M1* — характерные, *M2* — основные сигнатурные. Координаты указаны относительно последовательности референсного генома NCBI ID AF157706.

The dendrogram was constructed using the “F81+G (4)” nucleotide substitution model and the maximum likelihood method. The figure shows 66 sequences. The names of the sequences are indicated as “identification number _ form (indicating the chromosome) _ country of origin of the isolate”. *ici* — inherited chromosomally integrated form, *circ* — circulating form, *NA* — data not available. Substitutions: *M1* — specific, *M2* — main signature. The coordinates are indicated relative to the sequence of the reference genome NCBI ID AF157706.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Филатова Елена Николаевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник;

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора;

адрес: 603950, Россия, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71;

факс: 8(831)469-79-20;

телефон: 8(831)469-79-46;

e-mail: el.filatova83@mail.ru

Filatova Elena Nikolaevna, Candidate of Sciences in Biology, leading researcher Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Nizhny Novgorod;

address: 603950, Russia, Nizhny Novgorod, Malaya Yamskaya st., 71;

fax: 8(831)469-79-20;

telephone: 8(831)469-79-46;

e-mail: el.filatova83@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Уткин О.В., кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник — заведующий лабораторией, «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора

Utkin O.V., Candidate of Sciences in Biology, leading researcher — head of laboratory, Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Nizhny Novgorod

Хрулев А.Е., доктор медицинских наук, доцент, профессор, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России

Khrulev A.E., Doctor of Science in Medical Sciences, associate professor, professor Privolzhsky Research Medical University

Зайцева Н.Н., доктор медицинских наук, профессор, директор, «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора

Zaitseva N.N., Doctor of Science in Medical Sciences, professor, director, Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Nizhny Novgorod

Блок 3. Метаданные статьи

РАЗРАБОТКА И ОБОСНОВАНИЕ ВНУТРИВИДОВОЙ
КЛАССИФИКАЦИИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО
РАЗНООБРАЗИЯ ВГЧ6А И ВГЧ6В

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF INTRASPECIFIC
CLASSIFICATION OF MOLECULAR GENETIC DIVERSITY OF HHV6A AND
HHV6B

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

КЛАССИФИКАЦИЯ ВГЧ6А/В
CLASSIFICATION OF HHV6A/B

Ключевые слова: ВГЧ6А, ВГЧ6В, геновариант, генотип, штамм, классификация, эволюция, филогения.

Keywords: HHV6A, HHV6B, genovariant, genotype, strain, classification, evolution, phylogeny.

Оригинальная статья.

Количество страниц текста – 14,

количество таблиц – 3,

количество рисунков – 2.

06.11.2024.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или DOI
1	Домонова Э.А., Сильвейстрова О.Ю., Гоптарь И.А., Кулешов К.В., Пасхина И.Н., Никифорова А.В., Шипулина О.Ю., маркелов М.Л., Шипулин Г.А., Малеев В.В. Первый случай выявления и лабораторного подтверждения наследственной передачи хромосомно-интегрированного Human betaherpesvirus 6A в Российской Федерации. Инфекционные болезни. 2019. Т. 17, № 3. С. 5–14.	Domonova E.A., Silveystrova O.Yu., Goptar I.A., Kuleshov K.V., Pashhkina I.N., Shipulina O.Yu., Merkelov M.L., Shipulin G.A., maleev V.V. First laboratory confirmed case of hereditary transmission of chromosomally integrated Human betaherpesvirus 6A in the Russian Federation. Infektsionnye bolezni (Infectious diseases), 2019, vol. 17, no. 3, pp. 5–14 .	https://www.phdynasty.ru/katalog/zhurnaly/infektsionnye-bolezni/2019/tom-17-nomer-3/37210 [10.20953/1729-9225-2019-3-5-14]

2	<p>Домонова Э.А., Сильвейстрова О.Ю., Гоптарь И.А., Кулешов К.В., Никифоров А.В., Матосова С.В., Шипулина О.Ю. Первые данные о распространенности в России хромосомно-интегрированного Human betaherpesvirus 6A/B, передаваемого по наследству // Эпидемиология и инфекционные болезни Актуальные вопросы. 2019. № 4. С. 43–50.</p>	<p>Domonova E.A., Silveistrova O.Yu., Goptar I.A., Kuleshov K.V., Nikiforova A.V., Matosova S.V., Shipulina O.Yu. First data on the prevalence of inherited chromosomally integrated Human betaherpesvirus 6A/B in Russia. Epidemiology and infectious diseases. Current items, 2019, no. 4, pp. 43-50.</p>	<p>https://epidemiology-journal.ru/ru/archive/article/38256 [dx.doi.org/10.18565/epidem.2019.9.4.43-50]</p>
3	<p>Лысенкова М.Ю., Мелехина Е.В., Каражас Н.В., Свитич О.А., Веселовский П.А., Рыбалкина Т.Н., Бошьян Р.Е., Косенчук В.В., Музыка А.Д., Горелов А.В., Усенко Д.В., Иванова М.Ю. Клинико-эпидемиологические особенности ВГЧ-6А- и ВГЧ-6В-</p>	<p>Lysenkova M.Yu., Melekhina E.V., Karazhas N.V., Svitich O.A., Veselovsky P.A., Rybalkina T.N., Boshyan R.E., Kosenchuk V.V., Muzyka A.D., Gorelov A.V., Usenko D.V., Ivanova M.Yu. The clinical</p>	<p>https://detinf.elpub.ru/jour/article/view/401 [doi.org/10.22627/2072-8107-2019-18-1-11-16]</p>

	инфекции у детей г. Москвы // Детские инфекции. 2019;. Т. 18, № 1. С. 11–16.	and epidemiological features of HHV-6A and HHV-6B infections in children of Moscow. Children infection, 2019, vol. 18, no. 1. pp. 11-16	
4	Мелехина Е.В., Домонова Э.А., Гоптарь И.А., Шипулина О.Ю., Горелов А.В. // Первый в России случай наследственной передачи хромосомно-интегрированного вируса герпеса человека 6В (Human betaherpesvirus 6В). Вопросы практической педиатрии. 2019. Т. 14, № 1. С. 33–40.	Melekhina E. V., Domonova E. A., Goptar I. A., Shipulina O. Yu, Gorelov A. V. First verified case of hereditary transmission of chromosomally integrated Human betaherpesvirus 6B. Vopr. prakt. pediatr. (Clinical Practice in Pediatrics), 2019, vol. 14, no. 1, pp. 33–40.	https://www.phdynasty.ru/katalog/zhurnaly/voprosy-prakticheskoy-pediatrici/2019/tom-14-nomer-1/35442 [10.20953/1817-7646-2019-1-33-40]

5	<p>Никольский М.А., Ведерников В.Е., Вязовая А.А., Домонова Э.А., Лисок А.В., Лиознов Д.А. Аprobация и доклинические испытания отечественного набора реагентов для видовой дифференциации вирусов герпеса человека 6А и 6В // Клиническая лабораторная диагностика. 2023. Т. 68Б № 4. С. 224–231.</p>	<p>Nikolskiy M.A., Vedernikov V.E., Vyazovaya A.A., Domonova E.A., Lisok A.V., Lioznov D.A. Approbation and preclinical trials of Russian reagents set for species differentiation of human herpes viruses 6A and 6B. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics), 2023, vol. 68, no. 4, pp. 224-231.</p>	<p>https://clinlabdia.ru/article/aprobaciya-i-doklinicheskie-ispytaniya-otchestvennogo-nabora-reagentov-dlya-vidovoj-differenciaczii-virusov-gerpesa-cheloveka-6a-i-6v/ [10.51620/0869-2084-2023-68-4-224-231]</p>
6	<p>Никольский М.А., Вязовая А.А., Ведерников В.Е., Нарвская О.В., Лиознов Д.А., Смирнова Н.Н., et al. Молекулярно-биологическая характеристика вируса герпеса человека 6-го типа у пациентов с различными</p>	<p>Nikolsky M.A., Vyazovaya A.A., Vedernikov V.E., Narvskaya O.V., lioznov D.A., Smirnova N.N., Polunina A.V., Burmistrova A.G., Zolotova M.A. Molecular and biological</p>	<p>https://pediatriajournal.ru/archive?show=368&section=5428&returnurl=%2Fauthors%2Fshow1771%2FNikolskiy_M.A..html [10.24110/0031-403X-2019-</p>

	вариантами течения заболевания // Педиатрия Журнал Им Гн Сперанского. 2019. Т. 98, № 1. С. 53-56.	characteristics of human herpes virus type 6 in patients with different variants of the disease course. <i>Pediatriya</i> , 2018, vol. 98, no. 1, pp. 53-56.	98-1-53-56]
7	Попкова М.И., Уткин О.В., Брызгалова Д.А. Сравнительная характеристика бета-герпес-вирусов человека 6А и 6В. Современный взгляд на проблему // Журнал инфектологии. 2021. Т. 8, № 3. С. 5–18.	Popkova M.I., utkin O.V., Bryzgalova D.A. Comparative characteristics of human betaherpesviruses 6A and 6B. A modern view on the problem. <i>Journal infectology</i> , 2021, vol. 13, no. 3, pp. 5-18.	https://journal.niidi.ru/jofin/article/view/1235 [doi.org/10.22625/2072-6732-2021-13-3-5-18]
8	Попкова М.И., Уткин О.В., Соболева Е.А., Сахарнов Н.А., Брызгалова Д.А., Сенатская А.О., Кулова Е.А. Методические основы	Popkova M.I., Utkin O.V., Soboleva E.A., Sakharnov N.A., Bryzgalova D.A., Senatskaya A.O., Kulova E.A.	https://iimmun.ru/iimm/article/view/1661 [10.15789/2220-7619-MBF-1661]

	<p>дифференциальной детекции ВЭБ1/ВЭБ2 и ВГЧ6А/ВГЧ6В // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 6. С. 1057-1066.</p>	<p>methodological basics for differential detection of EBV1/EBV2 and HHV6A/HHV6B. Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 6, pp. 1057–1066.</p>	
9	<p>Ablashi D., Agut H., Alvarez-Lafuente R., Clark D.A., Dewhurst S., DiLucia D., Flamand L., Frenkel N., Gallo R., Gomples U.A., Hollsberg P., Jacobson S., Luppi M., Lusso P., Malnati M., Medveczky P., Mori Y., Pellet P.E., Pritchett J.C., Yamanishi K., Yosikawa T. Classification of HHV-6A and HHV-6B as distinct viruses. Arch. Virol., 2014, vol. 159, no. 5, pp. 863-870.</p>		<p>https://link.springer.com/article/10.1007/s00705-013-1902-5 [doi.org/10.1007/s00705-013-1902-5]</p>

10	Achour A., Malet I., Le Gal F., Dehée A., Gautheret-Dejean A., Bonnafous P., Agut H. Variability of gB and gH genes of human herpesvirus-6 among clinical specimens. J. Med. Virol., 2008, vol. 80, no. 7, pp. 1211–1221.		https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.21205 [10.1002/jmv.21205]
11	Agut H., Bonnafous P., Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. Clin. Microbiol. Rev., 2015, vol. 28, no. 2, pp. 313-335.		https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.00122-14?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rft_dat=cr_pub++0pubmed [10.1128/CMR.00122-14]
12	Aswad A., Aimola G., Wight D., Roychoudhury P., Zimmermann C., Hill J., Lassner D., Xie H., Huang M.-L., Parrish N.F., Schultheiss H.-P., Venturini C., Lager		https://academic.oup.com/mbe/article-lookup/doi/10.1093/molbev/msaa190

	<p>S., Smith G. C S, Charnock-Jones D.S., Breuer J., Greninger A.L., Kaufer B.B. Evolutionary History of Endogenous Human Herpesvirus 6 Reflects Human Migration out of Africa. <i>Molecular Biology and Evolution</i>, 2021, vol. 38, no. 1, pp. 96-107.</p>		<p>[10.1093/molbev/msaa190]</p>
13	<p>Bartolini L., Theodore W.H., Jacobson S., Gaillard W.D. Infection with HHV-6 and its role in epilepsy. <i>Epilepsy Res.</i>, 2019, vol. 153, pp. 34-39.</p>		<p>https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920121118306223?via%3Dihub [10.1016/j.epilepsyres.2019.03.016]</p>
14	<p>Collin V., Flamand L. HHV-6A/B Integration and the Pathogenesis Associated with the Reactivation of Chromosomally Integrated HHV-6A/B. <i>Viruses</i>, 2017, vol. 9, no. 7, pp. 160.</p>		<p>https://www.mdpi.com/1999-4915/9/7/160 [10.3390/v9070160]</p>

15	Dominguez G., Dambaugh T.R., Stamey F.R., Dewhurst S., Inoue N., Pellett P.E. Human herpesvirus 6B genome sequence: coding content and comparison with human herpesvirus 6A. J. Virol., 1999, vol. 73, no. 10, pp. 8040–8052.		https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.73.10.8040-8052.1999?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Aacrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed [10.1128/JVI.73.10.8040-8052.1999]
16	Esneau C., Duff A.C., Bartlett N.W. Understanding Rhinovirus Circulation and Impact on Illness. Viruses, 2022, vol. 14, no. 1, pp. 141.		https://www.mdpi.com/1999-4915/14/1/141 [10.3390/v14010141]
17	Forni D., Cagliani R., Clerici M., Pozzoli U., Sironi M. Evolutionary analysis of exogenous and integrated HHV-6A/HHV-6B populations. Virus Evol., 2020, vol. 6, no. 1, pp. veaa035.		https://academic.oup.com/ve/article-lookup/doi/10.1093/ve/veaa035 [10.1093/ve/veaa035]

18	Hattori F., Kawamura Y., Kozawa K., Miura H., Miyake M., Yoshikawa A., Ihira M., Yashikawa T. Clinical Characteristics of Primary HHV-6B Infection in Children Visiting the Emergency Room. <i>Pediatr. Infect. Dis. J.</i> , 2019, vol. 38, no. 10, pp. 248–253.		https://journals.lww.com/pidj/abstract/2019/10000/clinical_characteristics_of_primary_hhv_6b.3.aspx [10.1097/INF.0000000000002379]
19	Isegawa Y., Mukai T., Nakano K., Kagawa M., Chen J., Mori Y., Sunagawa T., Kawanishi K., sashihara J., hata A., Zou P., Kosuge H., Yamanishi K. Comparison of the complete DNA sequences of human herpesvirus 6 variants A and B. <i>J. Virol.</i> , 1999, vol. 93, no. 10, pp. 8053-8063.		https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.73.10.8053-8063.1999?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed [10.1128/JVI.73.10.8053-8063.1999]
20	Kim T.Y., Park M.S., Yun S.A., Kang M., Kim D.R., Shin A., Kim H.-Y., Jang M.-A.,		https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/spectrum.04249-

	<p>Jang J.-H., Kwon M.-J., Huh H.J., Kim Y.-J., Lee N.Y. Performance evaluation of the SMG HHV-6 Q Real-Time PCR Kit for quantitative detection and differentiation of human herpesvirus 6A and 6B. Microbiology Spectrum, 2024, vol. 12, no. 4, pp. e04249-23.</p>		<p>23?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed [10.1128/spectrum.04249-23]</p>
21	<p>Kusakin A.V., Goleva O.V., Danilov L.G., Krylov A.V., Tsay V.V., Kalinin R.S., Tian N.S., Eismont Y.A., Mukomolova A.L., Chukhlov A.B., Komissarov A.S., Glotov O.S. The Telomeric Repeats of HHV-6A Do Not Determine the Chromosome into Which the Virus Is Integrated. Genes (Basel), 2023, vol. 14, no. 2, pp. 521.</p>		<p>https://www.mdpi.com/2073-4425/14/2/521 [10.3390/genes14020521]</p>
22	<p>Readhead B., Haure-Mirande J.V., Funk C.C., Richards M.A., Shannon P.,</p>		<p>https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S089662731</p>

	<p>Haroutunian V., Sano M., Liang W.S., Beckmann N.D., Price N.D., Reiman E.M., Schadt E.E., Ehrlich M.E., Gandy S., Dudley J.T. Multiscale analysis of three independent Alzheimer's cohorts reveals disruption of molecular, genetic, and clinical networks by Human herpesvirus. <i>Neuron</i>, 2018, vol. 99, no. 1, pp. 64-82.e7.</p>		<p>8304215?via%3Dihub [10.1016/j.neuron.2018.05.023]</p>
23	<p>Reddy S., Manna P. Quantitative detection and differentiation of human herpesvirus 6 subtypes in bone marrow transplant patients by using a single real-time polymerase chain reaction assay. <i>Biol. Blood. Marrow. Transplant.</i>, 2005, vol. 11, no. 7, pp. 530–541.</p>		<p>https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1083879105002661?via%3Dihub [10.1016/j.bbmt.2005.04.010]</p>
24	<p>Stanton R., Wilkinson G.W.G., Fox J.D. Analysis of human herpesvirus-6 IE1</p>		<p>https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.10508</p>

	sequence variation in clinical samples. Journal of Medical Virology, 2003, vol. 11, no. 4, pp. 578–584.		[10.1002/jmv.10508]
25	Tweedy J., Spyrou M.A., Donaldson C.D., Depledge D., Breuer J., Gompels U.A. Complete Genome Sequence of the Human Herpesvirus 6A Strain AJ from Africa Resembles Strain GS from North America. Genome Announc., 2015, vol. 3, no. 1, pp. e01498-14. 31.		https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/genomea.01498-14?rfr_dat=cr_pub++0pubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org [10.1128/genomeA.01498-14]
26	Tweedy J., Spyrou M.A., Pearson M., Lassner D., Kuhl U., Gompels U.A. Complete Genome Sequence of Germline Chromosomally Integrated Human Herpesvirus 6A and Analyses Integration Sites Define a New Human Endogenous Virus with Potential to Reactivate as an		https://www.mdpi.com/resolver?pii=v8010019 [10.3390/v8010019]

	Emerging Infection. Viruses, 2016, vol. 8, no. 1, pp. 19.		
27	Wood M.L., Veal C.D., Neumann R., Suárez N.M., Nichols J., Parker A.J., Martin D., Romanie S. PR, Codd V., Samani N.J., Voors A.A., Tomaszewski M., Flamand L., Davison A.J., Royle N.J. Variation in human herpesvirus 6B telomeric integration, excision, and transmission between tissues and individuals. Elife, 2021, vol. 10, pp. e70452.		https://elifesciences.org/articles/70452 [10.7554/eLife.70452]
28	Yavarian J., Shatizadeh Malekshahi S., Yavarian R., Yazdani S., Janani L., Shafiei Jandaghi N.Z., Kiani S.J., Ahamadkhaniha H. Type specific Real time PCR for detection of human herpes virus 6 in		https://bmcp psychiatry.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12888-015-0662-z [10.1186/s12888-015-0662-z]

schizophrenia and bipolar patients: a case control study. BMC Psychiatry, 2015, vol. 15, pp. 296.		
---	--	--