

Тюлько Ж.С.<sup>1</sup>, Якименко В.В.<sup>2</sup>

## Стратегия использования синонимичных кодонов в кодирующих последовательностях вируса клещевого энцефалита

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 644043, г. Омск; <sup>2</sup>Лаборатория арбовирусных инфекций отдела природно-очаговых вирусных инфекций ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, 644080, г. Омск

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) представлен тремя основными генотипами, имеющими широкое географическое распространение, и несколькими генотипами с локальным распространением. В представленной работе анализируются закономерности использования кодонов основными генотипами ВКЭ, т. е. изучается стратегия кодирования белков. С этой целью для полноразмерных кодирующих последовательностей ВКЭ определяли показатели относительного использования синонимичных кодонов, которые в дальнейшем изучали методами дискриминантного анализа. В результате был сделан вывод об имеющихся различиях в стратегиях кодирования различных генотипов ВКЭ.

*Ключевые слова:* вирус клещевого энцефалита; показатель относительного использования синонимичных кодонов; дискриминантный анализ; стратегия кодирования белков.

*Для цитирования:* Вопросы вирусологии. 2015; 59 (6): 32–37.

Tyulko J. S.<sup>1</sup>, Yakimenko V. V.<sup>2</sup>

### Strategy of synonymous codon usage in encoding sequences of the tick-borne encephalitis virus

<sup>1</sup>Omsk State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, 644043, Omsk, Russia; <sup>2</sup>Omsk Scientific-Research Institute of Natural Focal Infections, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 644080, Omsk, Russia

Three basic genotypes of the tick-borne encephalitis virus have wide geographical spread; several strains have local spread. In this work, we studied the strategy of the synonymous codon usage in basic genotypes by means of calculation of relative synonymous codon usage values for each complete encoding sequences of viruses. Then, these values were analyzed by methods of the discriminant analysis. In the result of this work the conclusion about the available distinctions in the strategy of synonymous codon usage of various genotypes tick-borne encephalitis viruses was made.

*Key words:* tick-borne encephalitis virus; relative synonymous codon usage values; discriminant analysis; strategy of protein encoding.

Received 06.02.14

*For correspondence:* Janna Tyulko, candidate of biological Sciences ; e-mail: tjs@omsk-osma.ru  
*Citation:* Voprosy virusologii. 2015; 60(6): 32–37. (In Russ.)

### Введение

В последнее десятилетие прошлого века в целом сложились представления о генетическом разнообразии вируса клещевого энцефалита (ВКЭ), имеющего 3 основных генотипа с широким географическим распространением, и несколько генотипов с локальным распространением [1, 2]. Наиболее широкое распространение характерно для сибирского генотипа (субтипа) ВКЭ, ареал которого охватывает значительную часть территории Северной Евразии. Как вирусы данного субтипа, так и другие широко распространенные варианты в пределах своего ареала являются сочленами экосистем, характеризующихся различной структурой. Один из важнейших вопросов в экологии вирусов – каким образом возбудитель адаптируется к смене хозяев с различным уровнем организации (холоднокровные членистоногие – теплокровные позвоночные) и различным систематическим положением. В настоящее время появляется информация о хозяинзависимых изменениях в структуре генома ВКЭ [3]. Другая проблема – причины разнообразия биологических свойств вируса (в том числе нейровирулентности) сибирского генотипа в разных частях его ареала. Наличие связи патогенных свойств

ВКЭ с принадлежностью к различным генотипам дискуссионно, по крайней мере многообразие тяжести и клинического течения заболеваний КЭ характерны для разных генотипов [4, 5]. Одно из направлений при решении данных вопросов – изучение системы кодирования генома вирусов, частью которой является стратегия кодирования белка, под которой здесь понимаются закономерности использования кодонов в соответствующих кодирующих последовательностях ДНК и РНК [6–8]. Такое определение стратегии кодирования, обычно используемое в русскоязычной литературе, по нашему мнению, является более точным по сравнению с более широким англоязычным толкованием этого понятия, которое включает не только особенности кодирования аминокислот, но и организацию самой кодирующей последовательности (расположение рамок считывания, особенности механизмов, управляющих считыванием, и т. д.).

Исследования кодирующих генетических последовательностей различных организмов показали, что использование в них синонимичных кодонов не является случайным [6, 7, 9–12] и зависит от влияния различных факторов. Например, высказывались предположения о

том, что у разных флавивирусов использование кодонов связано с типом хозяев (позвоночные или беспозвоночные) в большей степени, чем с их эволюционной историей [10, 13]. Кроме того, было показано, что даже у одного и того же вируса (грипп А) стратегия использования кодонов разными его подтипами может различаться и зависеть от типичных хозяев данного подтипа [7]. Было также отмечено, что тип использования отдельных кодонов может быть связан с наличием отбора и эффективностью трансляции как у разных организмов, так и в различных тканях одного и того же организма [7, 11, 14]. Также выдвигались предположения о связи между предпочтениями в использовании кодонов и вирулентностью вируса [15] и о возможности терапевтического измене-

ния состава транспортной РНК (тРНК) хозяина для снижения скорости производства вирусных белков [16].

Во многих работах, посвященных стратегии кодирования, исследуется смещение нуклеотидного состава, чаще всего CG-содержание, как суммарное, так и в отдельных позициях кодона [6, 11]. GC-смещение в третьей позиции кодона обычно интерпретируют как результат действия отбора на уровне нуклеотидной последовательности [6, 10]. Такое смещение было обнаружено у флавивирусов, в том числе у ВКЭ [6, 8, 10], что свидетельствует о наличии отбора в пользу CG-содержащих кодонов и, возможно, о существовании некоторой стратегии в использовании синонимичных кодонов.

В целом использование кодонов не случайно [6, 7, 12, 17].

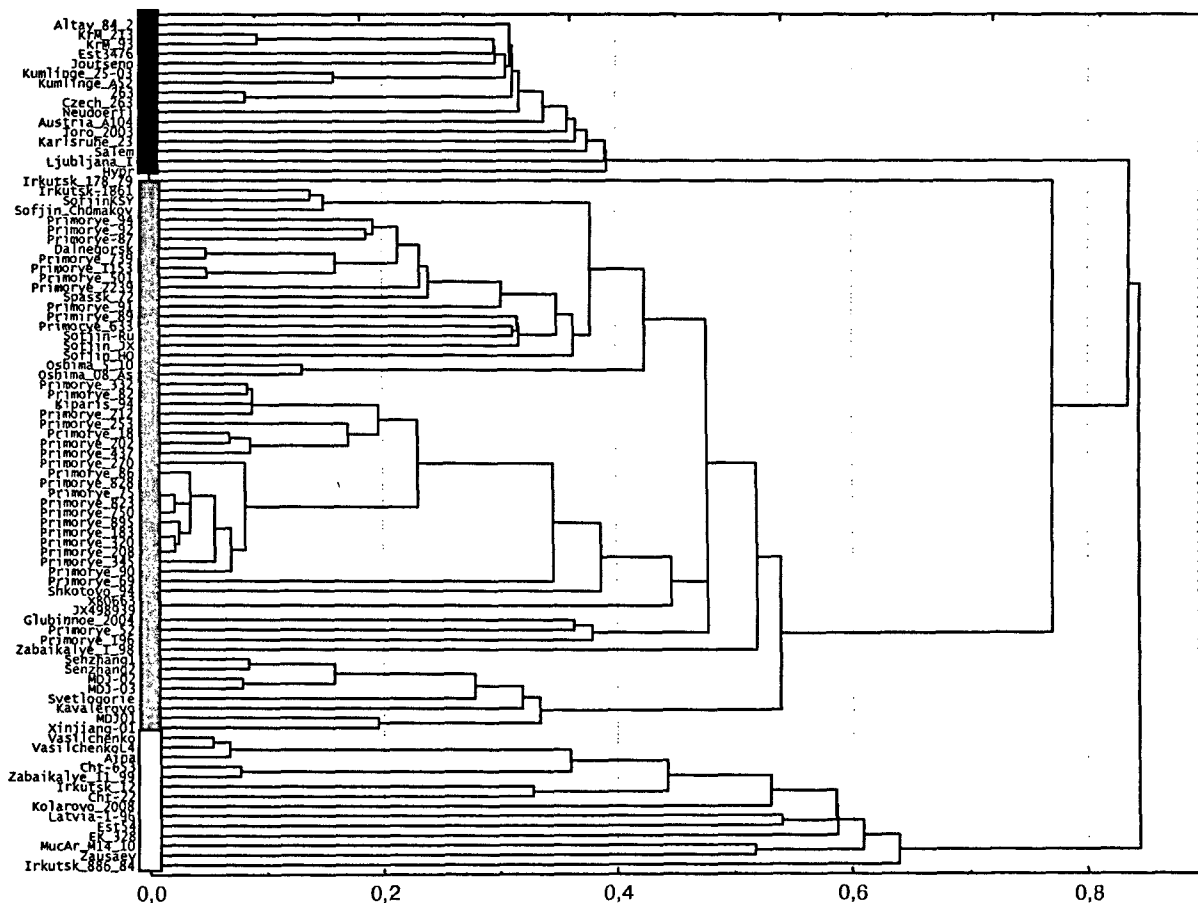


Рис. 1. Схема, построенная на основании сходства в использовании синонимичных кодонов последовательностями ВКЭ.

Схема построена с помощью групповых методов анализа программы Statistica (Joining (tree-clustering)) и ее команд построения иерархических деревьев. По горизонтали указаны значения евклидовых расстояний. Вдоль вертикальной оси черным прямоугольником отмечены изоляты, относящиеся к европейскому генотипу, серым – к дальневосточному, белым – к сибирскому. Обозначения последовательностей на графе соответствуют последовательностям из банка данных EMBL с кодами доступа, указанными в скобках: 205g (DQ989336), 263 (U27491), Aina (JN003206), Altay\_84\_2 (HM120875), Amberg (GQ266392), Austria\_A104 (KF151173), Cht-22 (JN003208), Cht-653 (JN003207), Czech\_263 (DQ153877), Dalnegorsk (FJ402886), EK\_328 (DQ486861), Est3476 (GU183383), Est54 (GU183384), Glubinnoe\_2004 (DQ862460), Hypr (U39292), Irkutsk\_12 (JN003209), Irkutsk\_178\_79 (EF469661), Irkutsk\_886\_84 (EF469662), Irkutsk-1861 (JN003205), Joutseno (GU183381), JX498939 (JX498939), Karlsruhe\_23 (AM600965), Kavalerovo (FJ402885), Kiparis\_94 (JQ825146), Kolarovo\_2008 (FJ968751), KrM\_213 (HM535610), KrM\_93 (HM535611), Kumlinge\_25-03 (GU183379), Kumlinge\_A52 (GU183380), Latvia-1-96 (GU183382), Ljubljana\_1 (JQ654701), MDJ-01 (AY217093), MDJ01 (JQ650522), MDJ-02 (JF316707), MDJ-03 (JF316708), Primorye\_18 (GQ228395), Primorye\_183 (JQ825153), Primorye\_196 (JQ825155), Primorye\_202 (JQ825157), Primorye\_208 (JQ825158), Primorye\_212 (EU816450), Primorye\_2239 (HM859895), Primorye\_253 (EU816451), Primorye\_270 (EU816452), Primorye\_320 (JQ825160), Primorye\_332 (AY169390), Primorye\_345 (JQ825161), Primorye\_437 (JQ825162), Primorye\_501 (HQ901367), Primorye\_52 (JQ825154), Primorye\_633 (HM859894), Primorye\_691 (EU816453), Primorye\_739 (JQ825156), Primorye\_75 (JQ825152), Primorye\_750 (JQ825163), Primorye\_82 (JQ825148), Primorye\_823 (JQ825164), Primorye\_828 (JQ825144), Primorye\_86 (EU816455), Primorye\_895 (JQ825145), Primorye\_90 (FJ997899), Primorye\_91 (JQ825150), Primorye\_92 (HQ201303), Primorye\_941 (EU816454), Primorye-87 (JQ825149), Salem (FJ572210), Senzhang1 (AY182009), Senzhang2 (JQ650523), Shkotovo\_94 (JQ825147), Sofjin\_Chumakov (KC806252), Sofjin\_HO (AB062064), Sofjin\_JX (JX498940), SofjinKSY (JF819648), Sofjin-Ru (JN229223), Spassk\_72 (JQ825151), Svetlogorie (GU121642), Toro\_2003 (DQ401140), Vasilchenko (AF069066), Vasilchenko (L40361), Xinjiang-01 (JX534167), Zabaikalye\_1\_98 (JX968560), Zabaikalye\_11\_99 (KC414090), Zausaev (AF527415).

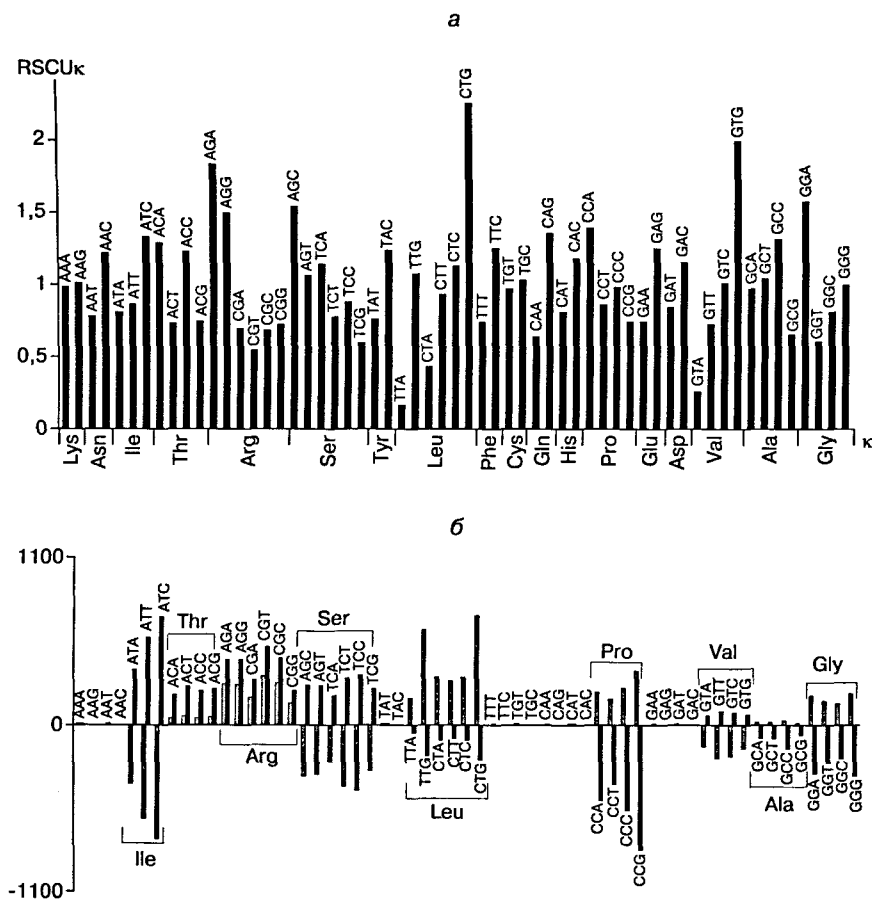


Рис. 2. Использование синонимичных кодонов в геноме ВКЭ.

*a* – средние значения  $RSCU_k$ . Высота столбцов на рисунке соответствует средним значениям  $RSCU_k$ , рассчитанным для каждого кодона  $k$  по всем анализируемым последовательностям. У вершины каждого столбца указан нуклеотидный состав кодона  $k$ . Вдоль горизонтальной оси обозначены аминокислоты, кодируемые каждым кодоном; *b* – значения использования отдельных кодонов для дискриминации. По вертикали отложены значения стандартизованных коэффициентов канонических дискриминантных функций  $f_1$  и  $f_2$ : серые столбцы –  $f_1$ , черные –  $f_2$ . Синонимичные кодоны сгруппированы вдоль горизонтальной оси в соответствии с тем, какую аминокислоту они кодируют (обозначения соответствующих аминокислот указаны у вершин фигурных скобок).

Это явление, проявляющееся на уровне синонимичных замен, обычно называют смещением в использовании кодонов (codon usage bias – CUB). Главными эволюционными факторами, приводящими к возникновению CUB, считаются смещение в нуклеотидном составе последовательности (возникающее по многим причинам) и предпочтение некоторых кодонов, связанное с различиями во внутриклеточном содержании тРНК, специфичных для этих кодонов (трансляционным смещением) [6, 9, 18]. С 80-х годов прошлого века разработано достаточное количество математических методов, позволяющих выявить наличие смещения в использовании кодонов [6, 7, 11, 12, 17]. Эти методы активно применяются для анализа вирусных последовательностей, и ограничением к их применению в случае ВКЭ служило лишь недостаточное количество секвенированных полноразмерных кодирующих последовательностей большинства генотипов этого вируса, так как анализ коротких последовательностей может привести к ошибкам, особенно в случае редко используемых аминокислот [6, 11]. В настоящее время это затруднение постепенно устраняется, и в данной работе была предпринята попытка выявления закономерностей использования кодонов, т. е. изучения стратегии кодирования белков у ВКЭ. Для этого определяли частотные характеристики использования кодонов,

такие как показатели относительного использования синонимичных кодонов для каждой полноразмерной кодирующей последовательности ВКЭ. В результате было показано, что различные генотипы ВКЭ неодинаково используют значительную часть синонимичных кодонов, т. е. их стратегии кодирования различаются.

## Материалы и методы

В работе анализировали все полноразмерные нуклеотидные последовательности ВКЭ различных генотипов из банка данных EMBL, а также кодирующие последовательности ВКЭ длиной более 9000 оснований (по состоянию банка EMBL на сентябрь 2013 г. всего 87 последовательностей, коды доступа приведены в подписи к рис. 1). Из рассмотрения были исключены последовательности, включающие коды IUPAC, предполагающие неоднозначное кодирование.

Для каждой кодирующей последовательности ВКЭ из выборки рассчитывали показатели относительного использования синонимичных кодонов ( $RSCU_k$  – показатель относительного использования каждого кодона  $k$ ; стоп-кодона и кодоны, кодирующиеся одним триплетом, исключались из рассмотрения). Показатель  $RSCU_k$  обычно применяется для проведения корректных сравнений частот использования синонимичных кодонов в различных сериях [9, 11, 19, 20]. Он помогает оценить неслучайность появления конкретного кодона  $k$  при кодировании соответствующей аминокислоты, а также сравнить схемы кодирования в разных генах. Большие значения  $RSCU_k$  соответствуют более частому использованию кодона.

Показатели  $RSCU_k$  были рассчитаны с помощью программ, реализованных на базе пакета статистического анализа R. Далее рассчитанные значения показателя  $RSCU_k$  для всех типов кодонов нуклеотидной последовательности каждого вируса сравнивали с аналогичными значениями с помощью модулей «Групповой анализ» (Cluster analysis) и «Общие модели дискриминантного анализа» (General discriminant analysis) программы Statistica 6.

## Результаты и обсуждение

Анализ рассчитанных значений  $RSCU_k$  для кодирующих последовательностей ВКЭ позволил установить, что в пределах одного генотипа наблюдается большее сходство в использовании синонимичных кодонов, чем между разными генотипами ВКЭ, независимо от способа изоляции штамма вируса и его последующего культивирования. Это иллюстрирует схема (см. рис. 1), построенная по результатам сравнения значений  $RSCU_k$  для кодонов нуклеотидной последовательности каждого вируса с аналогичными значениями остальных вирусов. Сравнение проводили с помощью модуля «Групповой анализ» программы Statistica (Joining (tree-clustering))

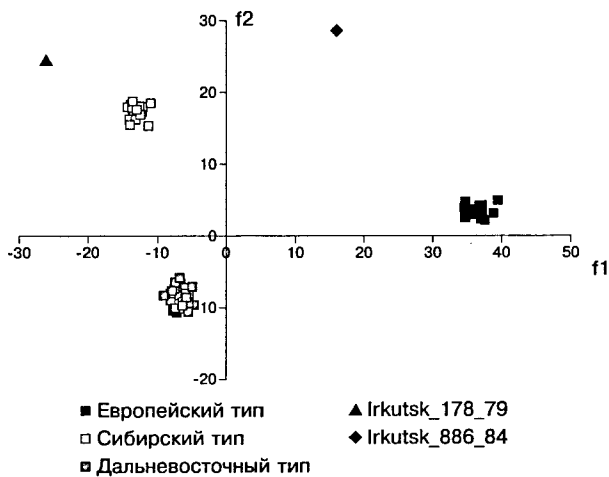


Рис. 3. Диаграмма рассеяния значений дискриминантных функций, рассчитанных для геномных последовательностей ВКЭ.

По горизонтали отложены значения дискриминантной функции  $f_1$ , по вертикали –  $f_2$ . Каждый маркер на схеме соответствует определенной последовательности из банка данных: черным отмечены случаи, относящиеся к европейскому генотипу, серым – к дальневосточному, белым – к сибирскому.

с использованием различных метрик для расчета расстояний (данные не приведены), но топология дерева сравнительно с приведенной на рис. 1 при этом не менялась.

Схема на рис. 1 показывает, что стратегии кодирования у различных генотипов ВКЭ различаются, так как при ее построении мы не закладывали эволюционных моделей при расчете дистанций и анализировали только частотные характеристики использования синонимичных кодонов, а не их расположение в последовательности. Однако разбиение на кластеры в полученной схеме соответствует разделению вирусов на подтипы сибирский, дальневосточный и европейский. Данный результат позволяет предположить, что отбор конкретных синонимичных кодонов может быть важной частью процесса микроэволюции ВКЭ, который отражается в структуре филогении вируса. При этом, как показал анализ схем, построенных для наборов гомологичных фрагментов, вырезанных из кодирующих последовательностей, использованных для схемы на рис. 1, вид схемы не менялся в зависимости от того, какие координаты имел набор использованных гомологичных фрагментов в геноме ВКЭ, если длина фрагментов была не меньше 1000 нуклеотидов. При меньших длинах начинали сказываться особенности аминокислотного состава, кодируемого последовательностями разных генов (например, случаи редко используемых аминокислот [6, 11]). Такой результат тоже предполагает наличие однотипного отбора кодонов, не связанного со структурой конкретного гена, при кодировании всего полипротеина в рамках каждого генотипа.

Следующим шагом был анализ того, как именно использует синонимичные кодоны каждый генотип. Общую картину использования кодонов у ВКЭ можно получить, рассчитав по всем анализируемым последовательностям разных генотипов средние значения  $RSCU_k$  для каждого кодона  $k$  (рис. 2, а). Схожая схема использования кодонов с некоторыми вариациями в случае отдельных кодонов наблюдается и при расчете средних значений  $RSCU_k$  для каждого генотипа в отдельности. Синонимичные кодоны, кодирующие одну и ту же аминокислоту, используются неодинаково вне зависимо-

сти от того, сколько синонимичных кодонов ей соответствует (см. рис. 2, а). Неодинаковое использование синонимичных кодонов может быть вызвано разными причинами, и однозначный вывод о существовании значимых различий в стратегии кодирования между всеми генотипами сделать невозможно. Важно понять, могут ли различия в использовании конкретных кодонов быть связаны с различиями в общей стратегии кодирования генотипов или они вызваны случайными причинами либо действиями независимых факторов. Например, низкое значение  $RSCU_{TTA}$  (см. рис. 2, а) с большой вероятностью объясняется тем, что TTA – претерминальный кодон, а отбор против таких кодонов выявлен у многих организмов [6, 20].

Дискриминантный анализ позволяет изучать различия между двумя и более группами объектов по нескольким переменным одновременно [21, 22], а также интерпретировать межгрупповые различия и определять вклад каждой переменной при классификации объектов. Поэтому имеет смысл применить его для анализа наблюдаемых различий в частотных характеристиках использования синонимичных кодонов у каждого генотипа. При этом каждая последовательность выступает в роли объекта, генотип – в роли группы объектов, а значения  $RSCU_k$  – в роли значений переменных. Определив в ходе такого анализа канонические дискриминантные функции ( $f_1$  и  $f_2$ ), число которых на единицу меньше числа выделяемых групп, мы можем оптимально разделить группы и определить вклад каждой переменной в дискриминацию. Стандартизованные коэффициенты функций  $f_1$  и  $f_2$  позволяют оценить как вклады, так и направления вкладов переменных в каждую каноническую функцию, так как они рассчитаны по стандартизованным переменным и принадлежат к абсолютной шкале измерений [21]. Как видно из рис. 2, б, различия в использовании кодонов AAA, AAG, AAT, AAC, TAT, TAC, TTT, TTC, TGT, TGC, CAA, CAC, GAG, GAT, GAA, GAG, GAT, GAC не вносят вклада в дискриминацию генотипов, в то время как различия в использовании остальных кодонов позволяют провести такую дискриминацию. Эти значимые для дискриминации кодоны соответствуют аминокислотам Ile, Thr, Arg, Ser, Leu, Pro, Val, Ala, Gly. Как и следовало ожидать, наибольшее значение для дискриминации имеют кодоны аминокислот с наибольшей вырожденностью. Ранее эти аминокислоты (кроме Pro) уже упоминались как генотипспецифические признаки в отдельных позициях вирусной последовательности [23]. В этой же работе упоминалось наличие генотипических различий на уровне синонимичных мутаций в положении третьего нуклеотида кодона.

На рис. 3 представлена диаграмма рассеяния для значений дискриминантных функций, рассчитанных для каждой последовательности. Видно, что все случаи хорошо разделяются на 3 группы в соответствии с тремя генотипами, причем функция  $f_1$  вносит основной вклад в дискриминацию европейского субтипа от дальневосточного и сибирского, а функция  $f_2$  позволяет наиболее достоверно разделить сибирский и дальневосточный субтипы. Из рис. 2, б следует, что наибольший вклад в дискриминантную функцию  $f_1$  вносят кодоны CTG, TTG, CCG, CGT, CTC, CTA, CTT, CGC, AGA, AGG, CCC, CCA, GGG, присутствие которых увеличивает ее значения (на рис. 3 это соответствует смещению вправо к европейским субтипам), и кодоны GTC, GTT, TCA, TCG, AGT, AGC, ATA, TCT, TCC, ATT, ATC, присутствие которых уменьшает ее значения (на рис. 3 это соответствует смещению влево к сибирским и дальневосточным субтипам).

В случае функции  $f_2$  наибольший вклад в увеличение ее значения (на рис. 3 это соответствует смещению

вверх к сибирским субтипам) вносят кодоны АТС, АТТ, СGT, СGC, АGА, АGГ, АТА, ТСС, ТСТ, СGА, АGС, АСТ, АGТ, ТСG, АСG, СGГ, АСС, в уменьшение – кодоны ТТG, GGC, СТG, GGT, GGA, GGG, ССТ, ССА, ССС, СССG.

Качество классификации (см. рис. 3), построенной по результатам проведенного дискриминантного анализа, оказалось хорошим ( $\lambda$  Уилкса = 0,0081). Локализация на рис. 3 включенных в кросс-проверочную выборку геновариантов Irkutsk\_886\_84 и Irkutsk\_178\_79 подтверждает выделение их в самостоятельные генотипы [23]. Полученные классификационные функции можно применять для типирования полноразмерных и/или протяженных (более 1000 нуклеотидов) фрагментов кодирующих нуклеотидных последовательностей ВКЭ и по мере увеличения их количества уточнять значения коэффициентов функций.

Таким образом, мы видим, что разные генотипы ВКЭ имеют неодинаковые (см. рис. 2, б и рис. 3), хотя и схожие (см. рис. 2, а), стратегии использования кодонов. Поэтому появление одних и тех же синонимичных замен в последовательностях со схожей стратегией можно объяснить только наличием этой стратегии без дополнительных предположений об их эволюционной истории. При этом объяснения выявленных предпочтений в использовании кодонов могут быть различными.

Наше исследование не показало различий при использовании синонимичных кодонов в зависимости от способа изоляции штамма вируса и его последующего культивирования, возможно, из-за особенностей выборки. Однако считается, что неодинаковое по частоте использование синонимичных кодонов не случайно и может отражать количественную представленность отдельных изоакцепторных тРНК в клетках организма. Показано, что родственные организмы часто имеют сходный тип предпочтения кодонов [6, 13, 20]. Частота использования кодонов в разных генах одного и того же организма иногда является фактором, регулирующим уровень экспрессии этих генов в процессе трансляции [24, 25]. Чем реже тот или иной кодон используется для кодирования аминокислоты в данном организме, с тем меньшей скоростью он будет транслироваться рибосомами вследствие низкой внутриклеточной концентрации тРНК, узнающей такой кодон. Вирусы являются внутриклеточными паразитами и для воспроизводства используют тРНК хозяина, поэтому можно предположить, что их стратегия кодирования в целях эффективного размножения должна отражать состав пула тРНК клетки-хозяина и в этом случае генотипы с различающейся стратегией могут иметь различия по степени приспособленности к организму-хозяину.

Возможно и другое объяснение. Было показано [26], что для вируса Чикунгунья искусственная перекодировка нуклеотидной последовательности в случае синонимичных замен приводила к снижению приспособленности вируса, понимаемой как способность к эффективному воспроизводству вируса. Однако возврат к первоначальной кодировке измененных кодонов происходил редко (0,4%), а дальнейшая приспособительная эволюция вирусов шла путем накопления компенсаторных замен, как синонимичных, так и несинонимичных. При предположительном наличии подобного механизма у ВКЭ, в пользу чего свидетельствует выявленное ранее [27] наличие корреляций при возникновении нуклеотидных замен у ВКЭ, возникновение мутаций в определенных участках последовательности может индуцировать ряд компенсаторных замен. Типы таких замен будут неслучайными и могут определяться требованиями отбора по сохранению вторичной или третичной структуры вирусной РНК, формируя опре-

деленную стратегию кодирования данного вирусного генотипа.

Возможно, разные генотипы ВКЭ, выработавшие разные стратегии использования кодонов, по-разному приспособлялись к организмам своих хозяев (позвоночных и беспозвоночных). Этот вопрос, очевидно, требует дальнейшего более подробного изучения.

## Выводы

1. Стратегии кодирования у различных генотипов ВКЭ различаются, т. е. не все синонимичные кодоны используются разными генотипами одинаково.

2. Отбор конкретных синонимичных кодонов может быть важной частью процесса микроэволюции ВКЭ, который отражается в филогении вируса.

3. Можно рекомендовать анализ частотных характеристик использования кодонов с помощью методов дискриминантного анализа для классификации протяженных (более 1000 нуклеотидов) гомологичных фрагментов вирусного генома как быстрый метод классификации в тех случаях, когда из-за большого количества и длины анализируемых последовательностей их выравнивание и расчет филогенетических деревьев затруднительны.

## ЛИТЕРАТУРА (п.п. 7–19, 25, 26 с.м. REFERENCES)

1. Вотяков В.И., Злобин В.И., Мишаева Н.П. *Клещевые энцефалиты Евразии*. Новосибирск: Наука; 2002.
2. Козлова И.В., Верхозина М.М., Демина Т.В., Дзюев Ю.П., Ткачев С.Е., Карань Л.С. и др. Комплексная характеристика оригинальной группы штаммов вируса клещевого энцефалита, изолированных с территории Восточной Сибири. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2012; 111 (4): 80–5.
3. Карганова Г.Г. Хозяин-специфические детерминанты в геноме вируса клещевого энцефалита. В кн.: *Фундаментальные и прикладные аспекты изучения паразитических членистоногих в XXI в: материалы международной конференции*. СПб.; 2013: 71–3.
4. Леонова Г.Н. *Клещевой энцефалит в Приморском крае*. Владивосток: Дальнаука; 1997.
5. Погодина В.В., Карань Л.С., Колясникова Н.М., Левина Л.С., Герасимов С.Г., Маленко Г.В. и др. Сибирский подтип вируса клещевого энцефалита, доминирующий на территории России. Распространение и патогенность. *Медицинская вирусология*. 2013; 27 (1): 36.
6. Лукашев В.В. *Молекулярная эволюция и филогенетический анализ*. М.: БИНОМ; 2009.
20. Бутвиловский А.В., Бутвиловский В.Э., Черноус Е.А. Изучение стратегии кодирования белков. *Медицинский журнал*. 2009; 2 (28): 29–33.
21. Халафян А.А. *Учебник STATISTICA 6. Статистический анализ данных*. М.: Бинном; 2007.
22. Орлов А.И. *Прикладная статистика: учебник*. М.: Экзамен; 2006.
23. Демина Т.В. *Вопросы генотипирования и анализ генетической вариабельности вируса клещевого энцефалита: Дисс. ... д-ра биол. наук*. Иркутск; 2012.
24. Стародуб З.Ф., Рачков А.Э. Избирательность трансляции матричных рнк эукариот. *Биополимеры и клетка*. 1986; 2 (4): 167–78.
27. Тюлько Ж.С., Якименко В.В. Вариабельность нуклеотидных последовательностей геномов вируса клещевого энцефалита, связанная с их структурой. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2012; 111 (4): 27–30.

## REFERENCES

1. Votyakov V.I., Zlobin V.I., Mishaeva N.P. *Tick-borne Encephalitis of Eurasia. [Kleshchevye entsefality Evrazii]*. Novosibirsk: Nauka; 2002. (in Russian)
2. Kozlova I.V., Verkhozina M.M., Demina T.K., Dzioev Yu.P., Tkachev S.E., Karan L.S. et al. Complex characteristic of original strains group of TBE virus, which obtained in territory of East Siberia. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2012; 111 (4): 80–5. (in Russian)
3. Karganova G.G. Host-specific determinants in the genome of TBE. In: *Fundamental and Applied Aspects of the Study of Parasitic Arthropods in the XXI Century: Proceedings of the International Con-*

- ference [Fundamental'nye i prikladnye aspekty izucheniya paraziticheskikh chlenistonogikh v XXI v.: materialy mezhdunarodnoy konferentsii]. St. Petersburg; 2013; 71–3. (in Russian)
- Leonova G.N. Tick-borne Encephalitis in the Primorsky Territory. [Kleshchevoy entsefalit v Primorskoy krae]. Vladivostok: Dal'nauka; 1997. (in Russian)
  - Pogodina V.V., Karan L.S., Kolyasnikova N.M., Levina L.S., Gerasimov S.G., Malenko G.V. et al. Siberian subtype of TBE virus dominating in Russia. Distribution and pathogenicity. *Meditsinskaya virusologiya*. 2013; 27 (1): 36. (in Russian)
  - Lukashev V.V. *Molecular Evolution and Phylogenetic Analysis [Molekulyarnaya evolyutsiya i filogeneticheskiy analiz]*. Moscow: BINOM; 2009. (in Russian)
  - Wong E.H.M., Smith D.K., Rabadan R., Peiris M., Poon L.L.M. Codon usage bias and the evolution of influenza A viruses. Codon Usage Biases of Influenza Virus. *BMC Evol. Biol.* 2010; 10: 253. Available at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/10/253>.
  - Belalov I.S., Lukashev A.N. Causes and Implications of Codon Usage Bias in RNA Viruses. *PLoS One*. 2013; 8 (2). Available at: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0056642>.
  - Qian W., Yang J.R., Pearson N.M., Maclean C., Zhang J. Balanced Codon Usage Optimizes Eukaryotic Translational Efficiency. *PLoS Genet.* 2012; 8 (3). Available at: <http://www.plosgenetics.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.1002603>.
  - Schubert A.M., Putonti C. Evolution of the sequence composition of Flaviviruses. *Infect. Genet. Evol.* 2010; 10 (1): 129–36.
  - Perriere G., Thioulouse J. Use and misuse of correspondence analysis in codon usage studies. *Nucleic Acids Research*. 2002; 30 (20): 4548–55.
  - Shah P., Gilchrist M.A. Explaining complex codon usage patterns with selection for translational efficiency, mutation bias, and genetic drift. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2011; 108 (25): 10 231–6.
  - Su M.W., Lin H.M., Yuan H.S., Chu W.C. Categorizing host-dependent RNA viruses by principal component analysis of their codon usage preferences. *J. Comput. Biol.* 2009; 16 (11): 1539–47.
  - Plotkin J.B., Robins H., Levine A.J. Tissue-specific codon usage and the expression of human genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004; 101: 12 588–91.
  - Tello M., Saavedra J.M., Spencer E. Analysis of the use of codon pairs in the HE gene of the ISA virus shows a correlation between bias in HPR codon-pair use and mortality rates caused by the virus. *Virol. J.* 2013; 10. Available at: <http://www.virologyj.com/content/10/1/180>.
  - Frias D., Monteiro-Cunha J.P., Mota-Miranda A.C., Fonseca V.S., Oliveira T., Galvao-Castro B. et al. Human Retrovirus codon Usage from tRNA point of View: Therapeutic Insights. *Bioinform. Biol. Insights*. 2013; 7: 335–45.
  - Grantham R., Gouy M., Mercier R., Pave A. Codon catalog usage and the genome hypothesis. *Nucleic Acids Res.* 1980; 8 (1): 49–62.
  - Cardinale D.J., DeRosa K., Duffy S. Base composition and translational selection are insufficient to explain codon usage bias in plant viruses. *Viruses*. 2013; 5 (1): 162–81.
  - Sharp P.M., Tuohy T.M., Mosurski K.R. Codon usage in yeast: cluster analysis clearly differentiates highly and lowly expressed genes. *Nucleic Acids Res.* 1986; 14 (13): 5125–43.
  - Butvilovskiy A.V., Butvilovskiy V.E., Chernous E.A. Studies of protein's coding strategies. *Meditsinskiy zhurnal*. 2009; 2 (28): 29–33. (in Russian)
  - Khalyafyan A.A. *Tutorial STATISTIKA 6. Statistical Analysis of Data. [Uchebnyk STATISTIKA 6. Statisticheskiy analiz dannykh]*. Moscow: Binom; 2007. (in Russian)
  - Orlov A.I. *Applied Statistics: a Textbook [Prikladnaya statistika: uchebnyk]*. Moscow: Ekzamen; 2006. (in Russian)
  - Demina T.V. *The Questions and Analysis of Genetic Variability of Genotyping of Virus Encephalitis: Diss.* Irkutsk; 2012. (in Russian)
  - Starodub N.F., Rachkov A.E. Competition in the translation of eucariotic messenger RNAs. *Biopolimery i kletka*. 1986; 2 (4): 167–78. (in Russian)
  - Dittmar K.A., Goodenbour J.M., Pan T. Tissue-Specific Differences in Human Transfer RNA Expression. *PLoS Genetics*. 2006; 2 (12). Available at: <http://www.plosgenetics.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.0020221>.
  - Nougaiere A., Fabritus L., Aubry F., Gould E.A., Holmes E.C., Lamballerie X. Random codon re-encoding induces stable reduction of replicative fitness of Chikungunya virus in primate and mosquito cells. *PLOS Pathog.* 2013; 9 (2). Available at: <http://www.plospathogens.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.ppat.1003172>
  - Tyul'ko Zh.S., Yakimenko V.V. The nucleotide sequences variability of genomes of tick-borne encephalitis virus associated with their structure. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2012; 111 (4): 27–30. (in Russian)

Поступила 06.02.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015  
УДК 616.98:578.821-036.1:619

Сергеев А.А., Кабанов А.С., Бульчев Л.Е., Сергеев А.А., Пьянков О.В., Боднев С.А., Галахова Д.О.,  
Замедянская А.С., Титова К.А., Шишукина Л.Н., Агафонов А.П., Сергеев А.Н.

## Течение заболевания у сурков при интраназальном заражении вирусом оспы обезьян

ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», 630559, пос. Кольцово, Новосибирская область

В экспериментах по изучению чувствительности сурков породы байбак к вирусу оспы обезьян (ВОО) при интраназальном (и/н) заражении было установлено, что 50% инфицирующая доза (ИД<sub>50</sub>) ВОО по внешним клиническим признакам заболевания составила 2,2 десятичного логарифма бляшкообразующих единиц (lg БОЕ). Процент летальности сурков слабо зависит от заражающей дозы ВОО, что не позволяет корректно определить величину летальной 50% дозы (ЛД<sub>50</sub>) у этого вида животных. У сурков были отмечены выраженные внешние клинические признаки заболевания: осподобная сыпь на коже по всей поверхности тела и слизистых оболочках, гнойные выделения из носовой полости, лимфаденит, нарушение координации, тремор конечностей, лихорадка, повышенная агрессивность, взъерошенность шерсти. В ходе экспериментов по определению динамики накопления ВОО в различных органах, тканях и сыворотке крови сурков, зараженных и/н дозой 3,7 lg БОЕ, обнаружено, что первичными органами-мишенями являются трахея, легкие и бифуркационные лимфоузлы. Органы максимальной продукции вируса – трахея, легкие, слизистая оболочка полости носа и кожа, что было зафиксировано через 5, 7, 9 и 12 сут после заражения. Перенос ВОО в вторичным органам-мишеням (слизистая оболочка полости носа, головной мозг, селезенка, двенадцатиперстная кишка, надпочечники и кожа) у сурков осуществляется по лимфогенному и гематогенному путям распространения инфекции.

Ключевые слова: вирус оспы обезьян; сурок; интраназальное заражение; чувствительность; клинические признаки заболевания; динамика накопления; диссеминация.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (6): 37–41.

Для корреспонденции: Сергеев Александр Александрович; науч. сотр.; e-mail: sergeev\_ala@vector.nsc.ru