

УДК 51.76, 578.2

Ю.С. Букин^{1, 2}, Ю.П. Джигоев^{3, 4}, И.В. Козлова³, Д. Ружек^{5, 6}, В.И. Злобин⁴

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ, ВХОДЯЩИХ В РАЗЛИЧНЫЕ ВАРИАНТЫ ОБОЛОЧЕЧНОГО БЕЛКА Е ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

¹ Лимнологический институт СО РАН (Иркутск)

² Национальный исследовательский Иркутский государственный технический университет (Иркутск)

³ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)

⁴ Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

⁵ Институт паразитологии Биологического центра Академии наук Республики Чехия (Ческе-Будеевице, Республика Чехия)

⁶ Научно-исследовательский институт ветеринарии (Брно, Республика Чехия)

Рассматривается вариабельность основного антигенного белка Е различных штаммов вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) на уровне физико-химических свойств аминокислотных остатков. Оценивалось разнообразие свойств аминокислот белка, участвующих во взаимодействии «антиген – антитело». Было охарактеризовано 180 вариантов белка Е ВКЭ из базы NCBI, различающихся по физико-химическим свойствам аминокислотных остатков. Это означает, что среди природных вариантов ВКЭ могут потенциально обнаруживаться штаммы, ускользающие от иммунного ответа, вызванного стандартной вакциной.

Ключевые слова: ВКЭ, белок оболочки Е, вакцина противоклещевого энцефалита, протеомика

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF AMINO ACID RESIDUES WITHIN THE VARIOUS EMBODIMENTS OF THE ENVELOPE PROTEIN E TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS

Yu.S. Bukin^{1, 2}, Yu.P. Dzhigoev^{3, 4}, I.V. Kozlova³, D. Ruzek^{5, 6}, V.I. Zlobin⁴

¹ Limnological Institute SB RAS, Irkutsk

² National Research Irkutsk State Technical University, Irkutsk

³ Scientific Center of Family Health Problems and Human Reproduction, Irkutsk

⁴ Irkutsk State Medical University, Irkutsk

⁵ Institute of Parasitology, České Budějovice, Czech Republic

⁶ Veterinary Institute, Brno, Czech Republic

The article considers variability of antigen protein E of different tick-borne encephalitis (TBE) strains at the level of physicochemical properties of amino acid residues. The authors evaluated variety of properties of protein amino acids involved in antigen-antibody interaction. 180 variants of TBEV E protein in database NCBI were detected, differing in physical and chemical properties of amino acid residues. This implies that natural variants of TBEV strains can potentially be detected, that escaped from the immune response induced by standard vaccine.

Key words: tick-borne encephalitis virus, envelope protein E, TBE vaccine, proteomic

ВВЕДЕНИЕ

Клещевой энцефалит представляет собой одну из наиболее распространенных в России природно-очаговых нейроинфекций вирусной природы [4]. Основным методом профилактики данного заболевания является вакцинация населения [2, 4]. Оболочечный белок Е ВКЭ является основным антигеном, на который формируется иммунный ответ как при развитии инфекционного процесса в организме человека, так и при вакцинировании [4, 7]. При создании вакцины против ВКЭ используются инаktivированные частицы вируса, культивированные на культурах клеток куриного эмбриона. Находясь на поверхности инаktivированной вирусной частицы, белок Е служит антигеном (мишенью) для синтеза в организме антител.

Обычно для создания вакцины используется один из известных штаммов ВКЭ. Например, в отечественной вакцине, производимой ФГУП Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова используется штамм «Софьин» являющийся эталонным штаммом ВКЭ [9].

Признанными считаются три основных генотипа – дальневосточный, сибирский и западный, а два новых генетических вариантов ВКЭ (их прототипами являются штаммы 886-84 и 178-79) претендуют на статус новых генотипов [3, 4, 5]. Штамм «Софьин» относится к категории дальневосточного подтипа вируса. Все три подтипа вируса имеют различия в нуклеотидной последовательности генома вируса, кодирующей белок Е и первичной полипептидной

последовательности белка Е. Дальневосточный подтип вируса чаще всего вызывает тяжелые формы течения заболевания, но иногда встречаются больные, у которых тяжелое течение инфекции было вызвано сибирским или реже европейским типом вируса.

До недавнего времени считалось, что вакцина на основе дальневосточного подтипа вируса является эффективной против всех возможных штаммов ВКЭ. Но все чаще появляются сообщения, что люди, привитые стандартной вакциной, заболевают ВКЭ после контакта с инфицированными природными переносчиками вируса – клещами. Данная ситуация может быть связана с тем, что в процессе микроэволюции в природных очагах белок Е ВКЭ накопил ряд аминокислотных замен, препятствующих связыванию антигена – белка Е вируса с антителами, выработанными на белок Е штамма «Софьин» и других штаммов, используемых при изготовлении вакцины. Подобная ситуация наблюдается и для вакцин против других вирусов, опасных для человека. Например, известные штаммы вируса гепатита В «ускользающие» от иммунного ответа, выработанный на стандартный антиген, входящий в состав противовирусной вакцины [1]. В «ускользающих» от иммунного ответа штаммах вируса гепатита В были обнаружены мутации, приводящие к замене аминокислот в белке, входящим в состав оболочки вируса. Биоинформационные исследования различных вариантов антигена вируса гепатита В показали наличие большого числа замен, приводящих к значительному изменению физико-химических свойств аминокислотных остатков в определенных позициях антигенного белка [6]. Подобная ситуация может наблюдаться и для ВКЭ.

Можно предположить, что для создания наиболее эффективной вакцины против ВКЭ необходима комбинация из нескольких штаммов с различными вариантами белка оболочки Е. Перед решением подобной задачи необходимо исследование разнообразия имеющихся вариантов белка Е ВКЭ с помощью методов протеомики и биоинформатики, что будет способствовать решению этой задачи. В настоящее время многие исследователи работают над расшифровкой нуклеотидных последовательностей как полного генома штаммов ВКЭ, так и его частей, кодирующих поверхностный белок Е вируса. По нуклеотидным последовательностям поверхностного белка Е можно восстановить его первичную аминокислотную последовательность. База данных NCBI содержит около 250 полноразмерных аминокислотных последовательности белка Е ВКЭ. Эту информацию можно использовать для анализа аминокислотного разнообразия и вариабельности физико-химических свойств аминокислотных остатков в различных положениях полипептидной последовательности белка Е ВКЭ. В большей мере из всех физико-химических свойств аминокислотных остатков на характеристики полипептида как антигена оказывают влияние средний объем аминокислотного остатка в третичной структуре белка, количество доноров водородной связи аминокислотного остатка, заряд бокового радикала аминокислотного остатка и дипольный момент аминокислотного остатка.

В связи с вышесказанным, основной задачей, стоящей в ходе исследования является поиск в базе данных NCBI всех представленных вариантов аминокислотных последовательностей белка Е ВКЭ и сравнительный анализ с помощью статистических методов вариабельности свойств аминокислотных остатков, связанных антигенными свойствами штаммов вируса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поиск аминокислотных последовательностей белка Е ВКЭ осуществляли с помощью дополнения BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). В качестве исходной последовательности для гомологичного поиска была взята аминокислотная последовательность штамма «Софьин» ВКЭ длиной 496 аминокислотных остатков. Полученные последовательности сохранялись в формате fasta для дальнейшей обработки. Весь массив данных в формате fasta проходил предварительную обработку с помощью средств языка программирования R применяемого для статистических расчетов и обработки данных молекулярно-биологических исследований. Для загрузки последовательностей в качестве массива данных из файла в формате fasta был использован пакет bios2mds [11], предназначенный для обработки полипептидных последовательностей на R. На языке программирования R, нами был написан скрипт, с помощью которого из массива данных был автоматизирован выбор последовательностей с длиной, соответствующей длине белка Е штамма «Софьин». Затем из всего набора данных были исключены последовательности, содержащие позиции с неустановленными аминокислотами, обозначаемыми как X. На следующем этапе из всего набора данных были удалены повторяющиеся (одинаковые последовательности), для анализа были выбраны только уникальные последовательности белка Е ВКЭ.

Физико-химические свойства аминокислотных остатков в составе полипептидных последовательностей были взяты из базы данных [10]. Рассматривались такие свойства аминокислотных остатков как средний объем аминокислотного остатка в третичной структуре белка, количество доноров водородной связи аминокислотного остатка, заряд бокового радикала аминокислотного остатка и дипольный момент аминокислотного остатка, влияющих на антигенные свойства полипептида. Выбранные свойства аминокислотных остатков были записаны в виде таблицы в файл формата csv, доступного для прочтения средствами языка программирования R. Рассматриваемые свойства аминокислотных остатков сильно различаются по своим числовым характеристикам, например, объем аминокислотного остатка в трехмерной структуре белка изменяется от 66 до 237 условных единицы, а дипольный момент от 5,5 до 12,3 условных единицы. Если данные цифры использовать в многомерной статистике напрямую, то на фоне изменения объема, изменение других параметров нивелируется. Для избежания этого, все свойства были пересчитаны в процентах изменения от максимального значения

до минимального (максимальное числовое значение свойства было принято за 100 %, минимальное значение – за 0 %).

С помощью стандартных средств языка программирования R с диска были считаны свойства аминокислотных остатков из файла csv и подготовленные аминокислотные последовательности белка Е ВКЭ из файла в формате fasta. Каждой аминокислоте в полипептидной последовательности из набора данных были сопоставлены четыре выбранных физико-химических свойства. В результате чего была получена таблица, состоящая из строк соответствующих аминокислотным последовательностям белка Е ВКЭ из набора данных. Столбцы в таблице располагаются четверками, каждая четверка характеризует четыре соответствующих свойства аминокислотных остатков в данной позиции последовательностей набора данных. Таким образом, всего в таблице находилось количество четверок столбцов, равное количеству аминокислот в последовательности белка Е ВКЭ. Каждая строка в таблице характеризовала все четыре выбранных физико-химических свойства каждого аминокислотного остатка в составе соответствующей последовательности набора.

Для исследования общей таблицы значений свойств аминокислотных остатков был применен метод многомерной статистики – многомерное шкалирование [11]. Суть метода заключается в том, что расстояния между векторами, характеризующими свойства объектов, проецируются в обозримое двух или трехмерное пространство таким образом, чтобы расстояние между векторами в двух или трехмерном пространстве максимально приближалось к расстоянию в многомерном пространстве. В нашем случае векторами являются строки таблицы, характеризующие свойства аминокислотных остатков в различных вариантах белка Е ВКЭ. В каждом векторе содержится количество координат, равное четырехкратному значению длины последовательности. Для шкалирования свойств было выбрано две координаты двухмерного пространства. В качестве меры расстояния была выбрана евклидова дистанция между векторами.

Скрипт на языке программирования R для статистической обработки аминокислотных последовательностей белка Е ВКЭ, многомерного шкалирования, набор последовательностей белка Е ВКЭ и csv файл со свойствами аминокислотных остатков и номера последовательностей из банка NCBI можно скачать по ссылке (<https://yadi.sk/d/iFQue4TocmybA>).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

В процессе поиска с помощью сервиса BLAST из базы данных NCBI было извлечено 350 последовательностей, идентифицированных под именем аминокислотная последовательность белка Е ВКЭ. Из всех 350 последовательностей после обработки набора данных на предмет удаления коротких последовательностей с длиной, меньшей чем 496 аминокислотных остатков и удаления последовательностей, содержащих неизвестные аминокислоты X, в наборе осталось 250 аминокислотных последовательностей. После удаления повторяющихся последовательно-

стей в наборе данных осталось 180 аминокислотных последовательностей белка Е ВКЭ, отличающихся хотя бы одной замененной аминокислотой. Таким образом, можно сделать вывод о том, что в настоящий момент времени база данных NCBI содержит 180 полноразмерных вариантов расшифрованных последовательностей поверхностного антигенного белка Е ВКЭ.

Исходный набор данных по информации из базы данных NCBI содержащий 250 аминокислотных последовательностей белка ВКЭ включал в себя: 48 последовательностей дальневосточного подтипа вируса, 77 последовательностей сибирского подтипа вируса и 95 последовательностей европейского подтипа вируса. Для остальных 30 последовательностей информации о принадлежности подтипу в базе NCBI не содержалось.

После проведения многомерного шкалирования на основе четырех физико-химических свойств аминокислотных остатков была получена картина распределения точек на плоскости, соответствующих дифференциации свойств аминокислот в каждом положении последовательностей. Каждая точка на плоскости соответствует определенной последовательности в наборе. Визуализация картины распределения точек на плоскости после многомерного шкалирования приведена на рисунке 1.

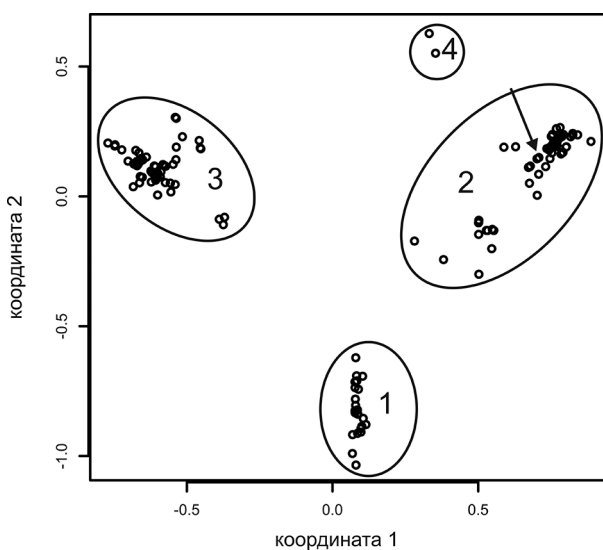


Рис. 1. Результат кластеризации аминокислотных последовательностей поверхностного антигенного белка Е ВКЭ в двухмерном пространстве после многомерного шкалирования набора данных, содержащих четыре свойства аминокислотных остатка каждой позиции. Цифрами и соответствующими овалами обозначены выделенные группы последовательностей. Стрелкой указано положение штамма «Софьин», используемого для вакцинации.

Анализ рисунка позволяет выделить на нем четыре группы последовательностей. В первой, второй и третьей группе последовательности объединились по принадлежности вируса определенному подтипу: дальневосточному, сибирскому или европейскому. Группа номер 1 объединяет преимущественно аминокислотные последовательности белка Е сибирского подтипа вируса, группа 2 – последовательности белка

Е дальневосточного подтипа вируса и группа 3 – последовательности белка Е европейского подтипа вируса. Штамм ВКЭ «Софьин» находится в центре второй выделенной группы последовательностей. В каждой из трех указанных групп находились последовательности, принадлежность которых к определенному подтипу вируса в базе NCBI указана не была. Можно предположить, что подтип вируса, к которым принадлежат эти последовательности, соответствует подтипу большинства последовательностей группы.

Из распределения точек на плоскости рисунка видно, что самая низкая вариабельность физико-химических свойств характерна для сибирского подтипа вируса (группа 1). Далее по уровню вариабельности идет европейский подтип вируса. Максимальная вариабельность физико-химических свойств аминокислотных остатков наблюдается у дальневосточного подтипа вируса. Если сравнивать вариабельность свойств аминокислотных остатков внутри и между подтипами вируса, то можно сказать, что различия по физико-химическим свойствам внутри дальневосточного подтипа вируса может превышать различия между штаммами сибирского и дальневосточного подтипа вируса. Количество последовательностей различных подтипов вируса, представленных в исходном наборе данных, было сопоставимо (48 последовательностей дальневосточного подтипа, 77 последовательностей сибирского подтипа и 95 последовательностей европейского подтипа). Это означает, что наблюдаемая вариабельность по физико-химическим свойствам аминокислотных последовательностей в сибирском подтипе вируса не связана с недостатком данных (расшифрованных последовательностей вируса в базе NCBI), а соответствует реально наблюдаемой природной картине. Из общих представлений эволюционной генетики известно, что вариабельность различий по аминокислотным остаткам в белке зависит от давления факторов естественного отбора. Если в данный момент времени по данному признаку (аминокислотной последовательности белка) ведется направленный отбор, то вариабельность аминокислотных последовательностей рассматриваемого белка в пределах популяции резко сокращается. В настоящее время вероятней всего это происходит с сибирским подтипом вируса. На популяцию сибирского подтипа ВКЭ действуют природные отбирающие факторы, проводящие направленную селекцию свойств белка оболочки Е.

Группа 4 на рисунке представлена двумя аминокислотными последовательностями белка оболочки Е ВКЭ. По данным базы NCBI одна из этих последовательностей была расшифрована у вируса, изолированного в Китае из мозга мыши. Принадлежность к определенному подтипу вируса указана не была. Но ближайший гомолог к этой последовательности с 99 % сходством был определен как дальневосточный подтип вируса. Можно предположить, что и рассматриваемая нами последовательность принадлежит дальневосточному подтипу ВКЭ. Вторая последовательность из группы 4 в базе NCBI была определена как штамм «Приморье-633», выделенный из мозга мыши и принадлежащий дальневосточному подтипу

ВКЭ. Таким образом, указанные последовательности белка оболочки Е вируса ВКЭ существенно увеличивают границы вариабельности физико-химических свойств дальневосточного подтипа вируса ВКЭ.

В работах, связанных с исследованием трехмерной структуры белка Е ВКЭ, отмечалось обстоятельство, что ряд штаммов вируса имеет замены в различных положениях аминокислотной последовательности, меняющие антигенные свойства белка [12]. Определенное моноклональное антитело имело различную степень сродства (связывалось с меньшей вероятностью) с вирусными частицами, имеющими замены в различных позициях белка Е, отличающие их от вирусных частиц, используемых в качестве антигена для выработки моноклонального антитела [12].

Большое варьирование физико-химических свойств белка Е ВКЭ дает основание предполагать, что для более эффективной вакцинации необходимо использовать несколько антигенов (вариантов вирусных частиц) в одной вакцине. Необходимо проведение экспериментального исследования по идентификации близости антигенных свойств, выделенных в базе NCBI 180 вариантов белка оболочки Е ВКЭ. На основании подобного исследования можно подобрать кандидатные штаммы для создания вакцин со множеством антигенных вариантов ВКЭ, обеспечивающих выработку поливариантных антител для перекрестной защиты от максимального количества вариантов вируса. Также необходимо периодически проводить ревизию информации из базы данных NCBI на предмет обнаружения штаммов ВКЭ, обладающих новыми вариантами замен в оболочечном белке Е. Новые варианты вируса, периодически появляющиеся в природе, за счет процесса накопления мутаций могут избегать иммунного ответа, вырабатываемого на стандартные антигены, входящие в состав вакцин.

На основании проведенного исследования можно сделать вывод о том, что в настоящий момент времени белок оболочки Е ВКЭ, являющийся основным антигеном при вакцинировании, в природной популяции обладает широкой вариабельностью физико-химических свойств, отвечающих за связывание антитела с антигеном. На это обстоятельство необходимо обратить внимание при оценке эффективности существующих вакцин против данной вирусной инфекции и решения вопросов, связанных с их усовершенствованием.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов:

- Программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 1 по стратегическим направлениям развития науки на 2014 г. 43-п «Фундаментальные проблемы математического моделирования»;
- Российского научного фонда № 14-15-00615.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Баженов А.И., Эльгорт Д.А., Фельдшерова А.А. Выявление антител к мутантным формам HBSAG у лиц, иммунизированных против гепатита В вакцинами разных субтипов // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2011. – № 5. – С. 49–53.

Bazhenov A.I., Elgort D.A., Feldsherova A.A. Detection of antibodies to mutant forms HBSAG in individuals immunized against hepatitis B vaccines of different subtypes // *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. – 2011. – N 5. – P. 49–53. (in Russian)

2. Воробьева М.С., Расщепкина М.Н., Ладыженская И.П. Вакцины, иммуноглобулины и тест-системы для профилактики и диагностики клещевого энцефалита // *Вопросы вирусологии*. – 2007. – № 6. – P. 30–36.

Vorobyova M.S., Rasschepkina M.N., Ladyzhenskaya I.P. Vaccines, immunoglobulins and test systems for prevention and diagnosis of tick-borne encephalitis // *Voprosi virusologii*. – 2007. – N 6. – P. 30–36. (in Russian)

3. Демина Т.В., Джиоев Ю.П., Козлова И.В., Верховина М.М., и др. Генотипы 4 и 5 вируса клещевого энцефалита: особенности структуры геномов возможный сценарий их формирования // *Вопросы вирусологии*. – 2012. – № 4. – С. 13–19.

Demina T.V., Dzhioev Yu.P., Kozlova I.V., Verkhovina M.M. et al. Genotypes 4 and 5 encephalitis virus: structural features of the genomes of a possible scenario for their formation // *Voprosi virusologii*. – 2012. – N 4. – P. 13–19. (in Russian)

4. Злобин В.И. Клещевой энцефалит в Российской Федерации: современное состояние проблемы и стратегия профилактики // *Вопросы вирусологии*. – 2005. – № 3. – С. 26–31.

Zlobin V.I. Tick-borne encephalitis in the Russian Federation: the current state of the issue and prevention strategy // *Voprosi virusologii*. – 2005. – N 3. – P. 26–31. (in Russian)

5. Парамонов А.И., Козлова И.В., Верховина М.М., Джиоев Ю.П., и др. Генетическая и экологическая характеристика оригинального варианта вируса клещевого энцефалита («группа 886»), циркулирующего в Байкальском регионе // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. – 2013. – № 2, Ч. 2. – С. 124–129.

Paramonov A.I., Kozlova I.V., Verkhovina M.M., Dzhioev Yu.P. et al. Genetic and ecological characteristics of the original version of tick-borne encephalitis virus ("Group 886") circulating in the Baikal region // *Bull. VSNC SO RAMN*. – 2013. – N 2, Part 2. – P. 124–129. (in Russian)

6. Столбиков А.С., Букин Ю.С., Джиоев Ю.П., Злобин В.И. Биоинформационный поиск вариантов α-антигенной детерминанты белка S вируса гепатита В для создания поливалентной вакцины // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. – 2014. – № 3. – С. 94–104.

Stolbikov A.S., Bukin Yu.S., Dzhioev Yu.P., Zlobin V.I. Bioinformation search options α-S protein epitope of hepatitis B virus to create a multivalent vaccine // *Epidemiology and vaccine prevention*. – 2014. – N 3. – P. 94–104. (in Russian)

7. Goodman J.L., Dennis D.T., Sonenshine D.E. Tick-borne encephalitis. Tick-borne diseases of humans. – Washington, DC: ASM Press, 2005. – 151 p.

8. Demina T.V., Dzhioev Yu.P., Verkhovina M.M., Kozlova I.V. et al. Genetic variability research and genotyping of tick-borne encephalitis virus by means of desoxyoligonucleotide probes // *Journal of Medical Virology*. – 2010. – N 82. – P. 965–976.

9. Kovalev S.Y., Mukhacheva T.A., Kokorev V.S., Belyaeva I.V. Tick-borne encephalitis virus: reference strain Sofjin and problem of its authenticity // *Virus Genes*. – 2012. – N 2. – P. 217–224.

10. Mathura V.S., Kolippakkam D. APDbase: Amino acid physicochemical properties database // *Bioinformatics*. – 2005. – N 1. – P. 2–4.

11. Pele J., Jean-Michel Bécu J., Abdi H., Chabbert M. Bios2mds: an R package for comparing orthologous protein families by metric multidimensional scaling // *BMC Bioinformatics*. – 2012. – N 13. – P. 133.

12. Rey F.A., Heinz F.X., Mandl C., Kunz C., Harrison S.C. The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution // *Nature*. – 1995. – N 375. – P. 291–298.

Сведения об авторах

Букин Юрий Сергеевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории геносистематики, ФГБУН «Лимнологический институт» Сибирского отделения РАН (664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3; тел.: 8 (3952) 42-29-23; e-mail: bukinyura@mail.ru)

Джиоев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории молекулярной вирусологии и биотехнологии НИИ биомедицинских технологий Иркутского государственного медицинского университета, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: alanir07@mail.ru)

Козлова Ирина Валерьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

Ружек Даниел – доктор медицины Института ветеринарии, Институт паразитологии Биологического центра академии наук Республики Чехия (e-mail: ruzekd@paru.cas.cz)

Злобин Владимир Игоревич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор НИИ биомедицинских технологий ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет»; заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» (e-mail: vizlobin@mail.ru)

Information about the authors

Bukin Yuriy Sergeevich – candidate of biological science, Senior Research Officer at the laboratory of molecular systematics, Limnological Institute RAS (664033, Irkutsk, ul. Ulan-Batorskaya, 3; tel.: +7 (3952) 42-29-23; e-mail: bukinyura@mail.ru)

Dzhioev Yuri Pavlovich – Candidate of Biological Sciences, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology, Institute of Biomedical Technologies of Irkutsk State Medical University; Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular epidemiology and genetic diagnosis of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: alanir07@mail.ru)

Kozlova Irina Valerievna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Molecular epidemiology and genetic diagnosis of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

Ruzhek Daniel – M.D., Institute of Veterinary Medicine, Institute of Parasitology, Biology Centre of the Academy of Sciences of the Czech Republic (e-mail: ruzekd@paru.cas.cz)

Zlobin Vladimir Igorevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of RAS, Director of the Institute of Biomedical Technology of Irkutsk State Medical University, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology of Irkutsk State Medical University (e-mail: vizlobin@mail.ru)