

## Изучение структуры популяции ВКЭ методом высокопроизводительного секвенирования

Научный руководитель – Карганова Галина Григорьевна

*Литов Александр Геннадьевич*

*Аспирант*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия

*E-mail: novosti-wxo@yandex.ru*

Низкая точность вирусных РНК-полимераз приводит к тому, что популяции РНК-содержащих вирусов представляют собой массив вариантов с близкими, но не идентичными геномами. При стабильных условиях в популяции преобладают варианты, наиболее приспособленные к репродукции в данной системе. Циркуляция арбовирусов связана с чередованием хозяев (позвоночные и членистоногие). Микроэволюция таких вирусов может происходить на уровне изменения соотношения представленности различных вариантов в популяции, имеющих преимущество при репродукции в том или ином хозяине.

Вирус клещевого энцефалита - это арбовирус, переносчиком которого являются клещи рода *Ixodes*. Он вызывает природно-очаговое заболевание на территориях Европы, Сибири и Дальнего Востока. Использованный в данной работе штамм ЭК-328 был выделен из пула клещей *Ixodes persulcatus* в Эстонии и адаптирован к мозгу лабораторных мышей. Данный штамм обладал крупнобляшечным фенотипом и высокой нейроинвазивностью для лабораторных мышей. Помимо этого в работе был использован вариант М, полученный из штамма ЭК-328 в результате 17 пассажей в клещах *H. marginatum* с последующими 5 пассажами через мозг мышей. Этот вариант имел мелкобляшечный фенотип с небольшой примесью крупных бляшек и низкую нейроинвазивность и был стабилен при пассировании с высокой множественностью заражения в культуре клеток СПЭВ. Ранее было показано, что в популяции варианта М даже при интенсивном пассировании в разных системах методом клонирования крупной бляшки и секвенирования можно обнаружить исходный штамм ЭК-328, а при клонировании мелкой бляшки можно получить набор жизнеспособных мутантов, обладающих более высоким уровнем репродукции в клетках СПЭВ.

В данной работе, выполненной на базе ЦНИИ эпидемиологии, при помощи методов высокопроизводительного секвенирования мы изучили структуру популяции штамма ЭК-328 и варианта М. Фрагменты РНК, покрывающие полный геном вируса, амплифицировали при помощи ОТ-ПЦР, полученные ампликоны очищали, фрагментировали и индексировали. Концентрацию полученных библиотек выравнивали и секвенировали при помощи прибора MiSeq. Геном каждого из вирусов секвенировали в двух параллельных экспериментах.

В популяции штамма ЭК-328 мы нашли 4 переменных сайта с представленностью 10% и более, а в популяции варианта М - 5, однако на уровне представленности в 1% штамм ЭК-328 содержал 18 переменных сайтов, а вариант М - 11.

При анализе нами не было выявлено изменчивости в позициях, соответствующим ранее описанным мутантам, полученным из популяции варианта М методом клонирования бляшек. Таким образом, генетическая память лежит в основе пластичности популяции арбовирусов, а для её оценки необходимо сочетание вирусологических и современных методов высокопроизводительного секвенирования.