

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОЙ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ИНТЕРФЕРОН-ИНДУЦИРУЕМЫХ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА *OAS1*, *OAS3*, *EIF2AK2* И *RNASEL* С ОСОБЕННОСТЯМИ ТЕЧЕНИЯ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

А.В. Бархаш¹, В.Ф. Кобзев¹, П.И. Пилипенко², Ю.О. Богданова³, О.В. Морозова⁴,
А.Г. Ромашенко¹, М.И. Воевода^{1,5}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: barkhash@rambler.ru;

² Новосибирская государственная медицинская академия, Новосибирск, Россия;

³ Городская клиническая больница № 25, Новосибирск, Россия; ⁴ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия; ⁵ ГУ НИИ терапии СО РАМН, Новосибирск, Россия

Данная работа посвящена поиску генов и их полиморфизмов, предопределяющих восприимчивость или устойчивость человека к клещевому энцефалиту (КЭ). У неиммунизированных больных различными клиническими формами КЭ и у русских жителей г. Новосибирска (популяционный контроль) были определены частоты генотипов и аллелей по однонуклеотидным полиморфизмам (ОНП) четырех генов-кандидатов, индуцируемых интерферонами. Были изучены ОНП С1314Т (Pе438Ile) в 6-м экзоне гена *OAS3* (rs2285932), IVS7(-1)A/G в сайте альтернативного сплайсинга гена *OAS1* (rs10774671), G1385A (Arg462Gln) в 1-м экзоне гена *RNASEL* (rs486907) и IVS3(+244)A/G во 2-м интроне гена *EIF2AK2* (*PKR*). Обнаружено статистически достоверное увеличение частоты гомозигот Т/Т по ОНП гена *OAS3* у больных с поражением центральной нервной системы (ЦНС) (12,9 %) и особенно тяжелыми формами (менингоэнцефалитическая и др.) (15,4 %) по сравнению с больными лихорадочной формой (0,0 %) ($P = 0,029$ и $P = 0,018$ соответственно). Это позволяет рассматривать изученный ОНП гена *OAS3* как один из генетических маркеров индивидуальной восприимчивости к вирусу клещевого энцефалита у русских.

Введение

Весенне-летний клещевой энцефалит (КЭ) – трансмиссивное природно-очаговое заболевание человека, вызывается нейротропным РНК-содержащим вирусом рода *Flavivirus* семейства *Flaviviridae*; этот род также включает такие опасные для человека вирусы, как вирусы лихорадки Западного Нила, японского энцефалита, лихорадки Денге, желтой лихорадки. Ежегодно наблюдается около 11000 случаев заболевания КЭ в России (от Дальнего Востока до европейской части страны) и около 3000 – на остальной территории Европы (Gritsun *et al.*, 2003). КЭ может протекать в виде различных по тяжести и степени поражения центральной нервной системы (ЦНС) клинических форм – от стертой и легкой лихорадочной до

тяжелых форм с поражением структур спинного и головного мозга (Злобин, Горин, 1996; Иерусалимский, 2001).

Известно, что проявления и исход вирусной инфекции в значительной степени зависят от генетически закрепленных характеристик как вируса, так и инфицируемого организма. В частности, было показано, что специфическая восприимчивость (или устойчивость) определенных линий мышей к вирусам рода *Flavivirus* предопределяется различными вариантами гена *Oas1b* из семейства генов, кодирующих 2'-5'-олигоденилатсинтетазы (2-5OAS). У восприимчивых линий мышей по сравнению с родственными им устойчивыми образуется укороченный на 30 % белок из-за мутации С820Т в 4-м экзоне гена *Oas1b*, приводящей к образованию терминирующего кодона (Mashimo *et al.*,

2002; Perelygin *et al.*, 2002; Brinton, Perelygin, 2003). Не исключено, что аналогичный или сходный механизм формирования наследственной восприимчивости/устойчивости к флавивирусам может существовать и у человека.

У человека известно 4 гена, кодирующие 2-5OAS, – *OAS1*, *OAS2* и *OAS3*, расположенные кластером на участке q24 хромосомы 12, и *OASL* (OAS-like), также локализованный на 12-й хромосоме. Продукты *OAS*-генов выполняют важные функции в каскадах запускаемых интерферонами событий при формировании внутриклеточной защитной реакции организма против вирусной инфекции (Stark *et al.*, 1998; Goodbourn *et al.*, 2000; Samuel, 2001). Интерфероны индуцируют экспрессию не только *OAS*-генов, но и ряда других, например, *EIF2AK2* (*PKR*), *MX1*, *ADAR1*, участвующих в ограничении распространения вируса по организму и локализации инфекции. 2-5OAS, активируемые двухцепочечной РНК, в том числе вирусного происхождения, используют в качестве субстрата АТФ и катализируют полимеризацию АМФ с образованием 2'-5'-олигоденилатов, которые взаимодействуют с латентной эндорибонуклеазой L (*RNASEL*) и вызывают ее димеризацию и активацию. Действие последней приводит к деградации как клеточной, так и вирусной РНК и, как следствие, к подавлению размножения вируса (Novnanian *et al.*, 1998; Justesen *et al.*, 2000). Другим важным звеном действия интерферонов является индукция транскрипции гена, кодирующего зависимую от двухцепочечной РНК серин/треониновую протеинкиназу (ген *EIF2AK2*), одной из функций которой является фосфорилирование α -субъединицы эукариотического фактора инициации трансляции EIF2S1, вследствие чего ингибируются последующие раунды инициации трансляции РНК, в том числе вирусной (Clemens, Elia, 1997).

Таким образом, индуцируемые интерфероном гены можно рассматривать в качестве вероятных генов-кандидатов, потенциально участвующих в формировании механизмов предрасположенности человека и к КЭ. Работы, посвященные выявлению генетических основ устойчивости человека к вирусам рода *Flavivirus*, до настоящего времени немногочисленны. Так, ранее была показана связь восприимчивости/устойчивости к КЭ с группами

крови системы АВ0 и антигенами системы HLA (Иерусалимский, 2001). Делеция 32 п.н. в кодирующей части гена хемокинового рецептора CCR5 увеличивала риск симптоматической инфекции вирусом лихорадки Западного Нила у европеоидного населения Северной Америки (Glass *et al.*, 2006). Синонимичный ОНП гена *OASL* также играет роль в предрасположенности человека к этому вирусу (Yakub *et al.*, 2005). Кроме того, у европеоидов показана ассоциация ОНП в 3'-нетранслируемой области гена *OAS1* с исходом вирусного гепатита С, вызываемого другим структурно сходным вирусом из семейства *Flaviviridae* (Knapp *et al.*, 2003).

Данная работа посвящена изучению возможной связи выбранных ОНП: rs2285932 (6 экзон, C1314T, Ile438Ile) гена *OAS3*, rs10774671 (IVS7(-1)A/G) гена *OAS1*, rs2287350 (2 интрон, IVS3(+244)A/G) гена *EIF2AK2* и rs486907 (1 экзон, G1385A, Arg462Gln) гена *RNASEL* с особенностями течения КЭ у человека.

Материалы и методы

Были исследованы образцы ДНК, выделенные из крови больных КЭ, которые проходили лечение в стационарах г. Новосибирска (преимущественно в 2003–2005 гг.). Все лица, включенные в выборку, имели окончательно поставленный диагноз согласно общепринятым критериям (на основе клинических симптомов, сезонности, факта укуса клещом, иммунологической диагностики). Всего было изучено 96 образцов ДНК пациентов, перенесших КЭ, из которых 34 человека – перенесшие лихорадочную форму (ЛФ) КЭ, 36 человек – менингеальную форму (МФ), 26 человек – тяжелые формы КЭ (ТФ), включая менингоэнцефалитическую, полиоэнцефалитическую и менинго-энцефало-полиомиелитическую. В выборку были включены только лица, не подвергавшиеся иммунизации до начала заболевания (профилактической вакцинации и/или введению гамма-глобулина сразу после укуса клещом). В качестве популяционного контроля была использована выборка русских жителей г. Новосибирска, обследованная в рамках программы ВОЗ «MONICA» (164 человека).

Выделение ДНК проводили с помощью депротеинизации фенолом и хлороформом как описано ранее (Маниатис и др., 1984;

Chomczynski, Sacchi, 1987). Для массового генотипирования образцов по выбранным ОНП были разработаны методики на основе анализа полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПДРФ) или аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для первичного подтверждения существования выбранных ОНП в популяции русских и для выборочной проверки результатов массового генотипирования использовали автоматическое секвенирование соответствующих геномных фрагментов ДНК на автоматическом анализаторе ДНК ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) в Межинститутском центре секвенирования ДНК СО РАН.

Генотипирование образцов по ОНП rs2285932 гена *OAS3* и rs2287350 гена *EIF2AK2* (*PKR*) проводили по методике, описанной ранее (Бархаш и др., 2005).

ОНП rs10774671 гена *OAS1* анализировали с помощью аллель-специфической ПЦР с использованием трех праймеров: общего и двух аллель-специфических, у которых нуклеотиды на 3'-конце различаются и комплементарны нуклеотидам соответствующих аллелей по исследуемому ОНП. Для повышения специфичности ПЦР в структуре праймеров были заменены вторые с 3'-конца нуклеотиды, некомплементарные матрице (Патрушев и др., 1998). Реакция с каждой парой праймеров (общий и один из аллель-специфических) проводится отдельно, и ПЦР-продукт образуется только в случае комплементарного соответствия 3'-концов праймеров к ДНК исследуемых аллелей. С использованием программ Oligo (www.oligo.net) и Vector NTI 5.2 (<http://www.invitrogen.com/content.cfm?pageID=10352>) были выбраны следующие праймеры: 5'-cactggagcccttcccc-3' (общий), 5'-atcatgtgtctcacccttcca-3' (соответствует аллелю А) и 5'-gatcatgtgtctcacccttctg-3' (соответствует аллелю G). Смесь для амплификации объемом 10 мкл содержала: 67 мМ Трис-НСl (рН 8,8), 10 мМ β-меркаптоэтанол, 0,01 % Tween-20, 0,5 мкг тотальной ДНК, по 0,7 мМ каждого из соответствующих праймеров, 0,2 мМ каждого из dNTP, 2,5 мМ MgCl₂, 4 % глицерин и 0,6 ед. акт. Таq-ДНК-полимеразы («Сибэнзим», г. Новосибирск). Режим амплификации: денатурация при 95 °С (3 мин), затем 29 циклов, включающих денатурацию при

95 °С (42 сек), отжиг при 63 °С (42 сек) и элонгацию при 72 °С (48 сек). Гомозиготные (А/А и G/G) или гетерозиготный (А/G) генотипы для данного образца определяли по наличию или отсутствию на дорожке 4 % полиакриламидного геля (ПААГ) продукта амплификации размером 221 п.н. (для аллеля А) или 222 п.н. (для аллеля G) (различия в длине продуктов связаны с удлинением на 1 п.н. на 5'-конце праймера, используемого для идентификации аллеля G). Генотип А/А определяли по наличию ПЦР-продукта с праймером, который соответствует аллелю А, и по отсутствию ПЦР-продукта с праймером, соответствующим аллелю G. Аналогично определяли генотип G/G. Гетерозиготы А/G идентифицировали при наличии продукта амплификации на обеих дорожках геля.

Генотипирование по ОНП rs486907 гена *RNASEL* проводили с помощью метода, описанного ранее (Neff *et al.*, 2002), который целесообразно применять в случае, когда исследуемый ОНП не приводит к изменению сайта узнавания доступной рестриктазой. При этом методе ПЦР осуществляется при помощи двух праймеров, в один из которых (граничащий с 3'-конца с исследуемым ОНП) вводится один или несколько некомплементарных нуклеотидных остатков (несовпадений) вблизи его 3'-конца. Это приводит к последующему изменению последовательности матрицы в процессе ее амплификации и тем самым к созданию новых сайтов рестрикции, наличие/отсутствие которых зависит от того или иного варианта по изучаемому ОНП. Подбор структуры праймера с несовпадениями проводится с помощью компьютерной программы dCAPS Finder 2.0. (<http://helix.wustl.edu/dcaps/dcaps.html>). Для ПЦР-фрагмента гена *RNASEL* (152 п.н.) были подобраны следующие праймеры: 5'-aacatgaggaagatgaatttgctc-3' (с заменой с/т во второй от 3'-конца позиции) и 5'-tttctaagagagaattggggattg-3'. Смесь для ПЦР (10 мкл) содержала: 75 мМ Трис-НСl (рН 8,8), 20 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01 % Tween-20, 0,5 мкг тотальной ДНК, по 1 мМ каждого из праймеров, 0,2 мМ каждого из dNTP, 2,5 мМ MgCl₂ и 0,6 ед. акт. Таq-ДНК-полимеразы («Сибэнзим», г. Новосибирск). Режим амплификации: денатурация при 95 °С (3 мин), затем 35 циклов, включающих денатурацию при 95 °С (48 сек), отжиг при 60 °С (48 сек) и элонгацию при

72 °С (48 сек). Затем добавляли 5 ед. акт. рестриктазы TaqI («Сибэнзим», г. Новосибирск) и инкубировали в течение 12 час. при 65 °С. В случае гомозигот G/G на дорожках 4 % ПААГ наблюдали фрагмент размером 128 п.н. (второй фрагмент размером 24 п.н. не выявляли), гомозигот A/A – фрагмент размером 152 п.н., в случае гетерозигот G/A – два фрагмента размерами 152 и 128 п.н.

Сравнение частот генотипов и аллелей между выборками проводили по критерию χ^2 с помощью программы SPSS 11.0 (<http://www.spss.com/>). Различия считали достоверными при уровне значимости $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Поиск генетических (врожденных) факторов, предопределяющих восприимчивость человека к КЭ, проводили при минимизации влияния внешних факторов на фенотипические проявления (клиническая форма) у конкретного пациента. В этой связи были использованы образцы ДНК только тех лиц, которые не подвергались профилактической вакцинации до начала заболевания или введению гамма-глобулина после укуса клещом.

Частоты генотипов и аллелей по исследуемым ОНП генов *OAS3*, *OAS1*, *RNASEL* и *EIF2AK2* у больных ЛФ, МФ и ТФ КЭ, объединенной группы больных с поражением ЦНС и в контрольной группе представлены в табл. 1. Было обнаружено статистически достоверное увеличение частоты гомозигот Т/Т по ОНП гена *OAS3* у больных с поражением ЦНС (12,9 %) и особенно ТФ (15,4 %) по сравнению с больными ЛФ (0,0 %) ($P = 0,029$ и $P = 0,018$ соответственно). Кроме того, по ОНП гена *EIF2AK2* выявлены достоверные различия по частоте гетерозигот А/Г между больными МФ (52,8 %) и ЛФ (29,4 %) ($P = 0,047$). Статистически значимых различий по ОНП генов *OAS1* и *RNASEL* между больными с различными клиническими формами КЭ обнаружено не было. Тем не менее выявлены тенденции, во-первых, к увеличению частоты гомозигот G/G по ОНП гена *OAS1* у больных с поражением ЦНС (13,3 %) и отдельно ТФ (15,4 %) по сравнению с больными ЛФ (3,2 %), а также к уменьшению частоты гетерозигот G/A по ОНП гена *RNASEL* у боль-

ных МФ (30,6 %) по сравнению с больными ЛФ (50,0 %).

Описанные выше различия между больными с разными формами КЭ по частотам гомозигот Т/Т ОНП гена *OAS3* подтверждают полученные нами ранее результаты исследования, выполненного на меньшей выборке образцов больных с различными формами КЭ (Бархаш и др., 2005). Воспроизведение результата на увеличенной выборке может свидетельствовать о том, что ОНП С1314Т (Ile438Ile) гена *OAS3*, вероятно, действительно является одним из генетических факторов, вносящих вклад в предрасположенность человека к КЭ. При этом вопрос о возможном функциональном значении ОНП в 6-м экзоне гена *OAS3*, не приводящем к замене аминокислотного остатка в белке, требует дальнейшего изучения. Не исключено, что существует дополнительный функционально значимый ОНП в кластере *OAS*-генов человека, находящийся в неравновесии по сцеплению с данным ОНП. В результате увеличения выборки различия между группами больных КЭ по ОНП гена *EIF2AK2* уменьшились и находятся на грани статистической достоверности, поэтому вопрос об участии данного ОНП в формировании предрасположенности человека к КЭ остается открытым.

Статистически достоверных различий между группами больных определенными формами КЭ и контрольной популяционной выборкой ни по одному из изученных ОНП обнаружено не было. Не исключено, что это связано с тем, что данный контроль является «среднестатистической» выборкой популяции г. Новосибирска, так как не известна реакция ее представителей на вирус КЭ. В перспективе представляется необходимым формирование и анализ выборки образцов ДНК «устойчивого» контроля, т. е. неиммунизированных лиц, укушенных зараженным вирусом КЭ клещом, но не проявивших клинические признаки заболевания.

Поскольку все исследованные пациенты не были иммунизированы, то перенесших формы с поражением ЦНС можно рассматривать как относительно генетически восприимчивых к КЭ, а легкую ЛФ после поражения нейротропным вирусом КЭ – как относительно генетически устойчивых. Поэтому полученные данные могут свидетельствовать об участии изученного ОНП

Таблица 1

Частоты генотипов и аллелей по ОНП генов *OAS3*, *OAS1*, *EIF2AK2* и *RNaseL*
у больных различными формами клещевого энцефалита
и в контрольной группе русских г. Новосибирска

Ген ОНП		Контроль	Больные клещевым энцефалитом					
			Всего	ЛФ	ФЦНС	ФЦНС		
						МФ	ТФ	
N, %		153	96	34	62	36	26	
<i>OAS3</i> C1314T (Pе438Ile)	Частота генотипа	C/C	56,2	45,8	44,1	46,8	50,0	42,3
		C/T	37,3	45,8	55,9	40,3	38,9	42,3
		T/T	6,5	8,4	0,0	12,9	11,1	15,4
	Частота аллеля	C	74,8	68,8	72,1	66,9	69,4	63,5
T		25,2	31,2	27,9	33,1	30,6	36,5	
N, %		144	91	31	60	34	26	
<i>OAS1</i> IVS7(-1)A/G	Частота генотипа	A/A	50,0	45,1	45,2	45,0	47,0	42,3
		A/G	42,4	45,1	51,6	41,7	41,2	42,3
		G/G	7,6	9,8	3,2	13,3	11,8	15,4
	Частота аллеля	A	71,2	67,6	71,0	65,8	67,6	63,5
G		28,8	32,4	29,0	34,2	32,4	36,5	
N, %		160	96	34	62	36	26	
<i>EIF2AK2</i> IVS3(+244)	Частота генотипа	A/A	51,9	53,1	61,8	48,4	44,4	53,8
		A/G	39,4	40,6	29,4	46,8	52,8	38,5
		G/G	8,7	6,3	8,8	4,8	2,8	7,7
	Частота аллеля	A	71,6	73,4	76,5	71,8	70,8	73,1
G		28,4	26,6	23,5	28,2	29,2	26,9	
N, %		164	96	34	62	36	26	
<i>RNASEL</i> G1385A Arg462Gln	Частота генотипа	G/G	36,6	38,5	35,3	40,3	44,4	34,6
		G/A	46,9	41,7	50,0	37,1	30,6	46,2
		A/A	16,5	19,8	14,7	22,6	25,0	19,2
	Частота аллеля	G	60,1	59,4	60,3	58,9	59,7	57,7
A		39,9	40,6	39,7	41,1	40,3	42,3	

Примечание. N – размер выборки; КЭ – клещевой энцефалит; ЛФ – лихорадочная форма КЭ; ФЦНС – формы КЭ с поражением центральной нервной системы; МФ – менингеальная форма КЭ; ТФ – тяжелые (менингоэнцефалитическая и др.) формы КЭ.

гена *OAS3* в формировании индивидуальной восприимчивости к вирусу клещевого энцефалита у русских жителей г. Новосибирска.

Авторы выражают благодарность А.А. Перельгину за полезное обсуждение работы, а также Н.П. Бежетской, Р.А. Злобиной, Т.И. Кольченко и А.В. Молдовановой за синтез олигонуклеотидов – праймеров для ПЦР, использованных в работе.

Литература

- Бархаш А.В., Сивкова Е.П., Кобзев В.Ф. и др. Связь полиморфизмов генов *OAS3* и *PKR* с восприимчивостью человека к заболеваниям, вызываемым вирусами семейства *Flaviviridae* // Мед. генетика. 2005. Т. 4. № 9. С. 415–419.
- Иерусалимский А.П. Клещевой энцефалит (Руководство для врачей). Новосибирск: Гос. мед. академия МЗ РФ, 2001. 360 с.
- Злобин В.И., Горин О.З. Клещевой энцефалит

- (Этиология, эпидемиология и профилактика в Сибири). Новосибирск: Наука. Сиб. издат. фирма РАН, 1996. 177 с.
- Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование: Пер. с англ. М.: Мир, 1984. 480 с.
- Патрушев Л.И., Зыкова Е.С., Каюшин А.Л. и др. Новая система ДНК-диагностики, позволяющая обнаруживать и идентифицировать гомозиготные и гетерозиготные точковые мутации // Биоорганическая химия. 1998. Т. 24. № 3. С. 194–200.
- Brinton M.A., Perelygin A.A. Genetic resistance to flaviviruses // *Adv. Virus Res.* 2003. V. 60. P. 43–85.
- Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // *Anal. Biochem.* 1987. V. 162. № 1. P. 156–159.
- Clemens M.J., Elia A. The double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR: structure and function // *J. Interferon Cytokine Res.* 1997. V. 17. № 9. P. 503–524.
- Glass W.G., McDermott D.H., Lim J.K. *et al.* CCR5 deficiency increases risk of symptomatic West Nile virus infection // *J. Exptl Med.* 2006. V. 203. № 1. P. 35–40.
- Goodbourn S., Didcock L., Randall R.E. Interferons: cell signalling, immune modulation, antiviral responses and virus countermeasures // *J. Gen. Virol.* 2000. V. 81. № 10. P. 2341–2364.
- Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A. Tick-borne encephalitis // *Antiviral Res.* 2003. V. 57. № 1/2. P. 129–146.
- Hovnanian A., Rebouillat D., Mattei M.G. *et al.* The human 2',5'-oligoadenylate synthetase locus is composed of three distinct genes clustered on chromosome 12q24.2 encoding the 100-, 69- and 40-kDa forms // *Genomics.* 1998. V. 52. № 3. P. 267–277.
- Justesen J., Hartmann R., Kjeldgaard N.O. Gene structure and function of the 2'-5'-oligoadenylate synthetase family // *Cell. and Mol. Life Sci.* 2000. V. 57. № 11. P. 1593–1612.
- Knapp S., Yee L.J., Frodsham A.J. *et al.* Polymorphisms in interferon-induced genes and the outcome of hepatitis C virus infection: roles of MxA, OAS-1 and PKR // *Genes and Immunity.* 2003. V. 4. № 6. P. 411–419.
- Mashimo T., Lucas M., Simon-Chazottes D. *et al.* A nonsense mutation in the gene encoding 2'-5'-oligoadenylate synthetase/L1 isoform is associated with West Nile virus susceptibility in laboratory mice // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002. V. 99. № 18. P. 11555–11557.
- Neff M.M., Turk E., Kalishman M. Web-based primer design for single nucleotide polymorphism analysis // *Trends Genet.* 2002. V. 18. № 12. P. 613–615.
- Perelygin A.A., Scherbik S.V., Zhulin I.B. *et al.* Positional cloning of the murine flavivirus resistance gene // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002. V. 99. № 14. P. 9322–9327.
- Samuel C.E. Antiviral actions of interferons // *Clin. Microbiol. Rev.* 2001. V. 14. № 4. P. 778–809.
- Stark G.R., Kerr I.M., Williams B.R.G. *et al.* How cells respond to interferons // *Annu. Rev. Biochem.* 1998. V. 67. P. 227–264.
- Yakub I., Lillibridge K.M., Moran A. *et al.* Single nucleotide polymorphisms in genes for 2'-5'-oligoadenylate synthetase and RNase L in patients hospitalized with West Nile virus infection // *J. Inf. Diseases.* 2005. V. 192. № 10. P. 1741–1748.

**POSSIBLE ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS
IN INTERFERON-INDUCED *OAS1*, *OAS3*, *EIF2AK2* AND *RNASEL* GENES
WITH SEVERITY OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS IN HUMANS**

**A.V. Barkhash¹, V.F. Kobzev¹, P.I. Pilipenko², Yu.O. Bogdanova³, O.V. Morozova⁴,
A.G. Romaschenko¹, M.I. Voevoda^{1,5}**

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: barkhash@rambler.ru;

² Novosibirsk State Medical Academy, Novosibirsk, Russia; ³ Novosibirsk Hospital № 25, Novosibirsk, Russia; ⁴ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia; ⁵ Institute of Internal Medicine, SB RAMS, Novosibirsk, Russia

Summary

This study is devoted to search of polymorphisms in human genes predetermining susceptibility or resistance to tick-borne encephalitis. Genotypic and allelic frequencies for single nucleotide polymorphisms (SNPs) of four candidate interferon-induced genes were estimated in both samples of nonimmunized tick-borne encephalitis patients with different clinical manifestations of the disease and of Russian population from Novosibirsk city. Four SNPs were studied including C1314T (Ile438Ile) located in exon 6 of *OAS3* gene (rs2285932), IVS7(-1)A/G located in alternative splicing site of *OAS1* gene (rs10774671), G1385A (Arg462Gln) located in exon 1 of *RNASEL* gene (rs486907) and IVS3(+244)A/G located in intron 2 of *EIF2AK2 (PKR)* gene. Statistically significant increasing of T/T homozygote frequencies for studied *OAS3* gene SNP in patients with a central nervous system (CNS) damage (12.9%), especially with severe forms of the disease (meningo-encephalitis etc.) (15.4%), compared to patients with fever (0.0%) ($P = 0.029$ and $P = 0.018$, respectively) were detected. We suggest that *OAS3* gene SNP rs2285932 is a genetic marker of individual susceptibility to tick-borne encephalitis virus in Russians.