

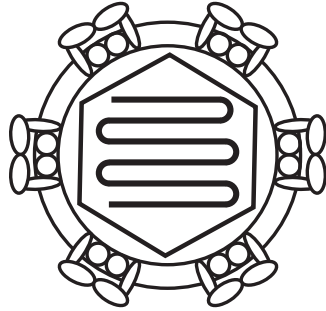
КЛЕЩЕВОЙ  
ЭНЦЕФАЛИТ  
В XXI ВЕКЕ



---

НАУКА

---



# TICK-BORNE ENCEPHALITIS IN THE 21<sup>ST</sup> CENTURY

Edited by Academician of RAS

V. I. Zlobin

MOSCOW NAUKA 2021

# КЛЕЩЕВОЙ ЭНЦЕФАЛИТ В XXI ВЕКЕ

Под редакцией академика РАН  
В. И. Злобина

МОСКВА НАУКА 2021

УДК 616.988.25  
ББК 52.67  
К 48

*Издание осуществлено при поддержке Иркутского  
государственного медицинского университета МЗ России,  
Кемеровского государственного медицинского  
университета МЗ России, ФНЦИРИП  
им. М.П. Чумакова РАН, АО «НПО «Микроген»*

Рецензенты:

академик РАН *В.В. Зверев*,  
академик РАН *В.В. Малеев*

Reviewers:

Academician of RAS *V.V. Zverev*,  
Academician of RAS *V.V. Maleev*

**Клещевой энцефалит в XXI веке /** Под ред. академика РАН В.И. Злобина. — М. : Наука, 2021. — 471 с. — ISBN 978-5-02-040852-4

Коллективная монография посвящена актуальной для России вирусной инфекции – клещевому энцефалиту. Особенностью работы является широкий охват разных аспектов проблемы от детального рассмотрения вопросов таксономии, молекулярно-биологических свойств возбудителя, его генетической variability, взаимодействия с антителами, географического распространения, эволюции, экологии до анализа эпидемиологической ситуации, клинической характеристики и лечения заболевания, организации специфической и неспецифической профилактики. Впервые в одной книге представлена наиболее полная сводка современных научных данных по клещевому энцефалиту – одной из важнейших проблем инфекционной патологии XXI века.

Для врачей, научных работников, преподавателей, аспирантов, студентов медицинских и биологических специальностей.

**Tick-Borne Encephalitis in The 21<sup>st</sup> Century /** Edited by Academician of RAS V.I. Zlobin. – M. : Nauka, 2021. – 471 p. ISBN 978-5-02-040852-4

The joint monograph is devoted to a viral infection, urgent for Russia, tick-borne encephalitis. A feature of this work is a wide coverage of various aspects of the problem, from a detailed consideration of taxonomy, molecular biological properties of the pathogen, its genetic variability, interaction with antibodies, geographical distribution, evolution, ecology, to analysis of the epidemiological situation, clinical characteristics and treatment of the disease, organization of specific and non-specific prevention measures. This defines this monograph as the only one of its kind, containing the most complete summary of modern scientific data on tick-borne encephalitis, one of the most important problems of infectious pathology of the XXI century.

For physicians, scientists, lecturers, postgraduates, students of medical and biological specialties.

ISBN 978-5-02-040852-4

© Коллектив авторов, 2021  
© ФГУП Издательство «Наука»,  
редакционно-художественное  
оформление, 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ПРЕДИСЛОВИЕ</b> .....	9
<b>ЧАСТЬ I</b>	
<b>ВИРУС КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА: МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ, ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ, ЭВОЛЮЦИЯ, ДЕТЕКЦИЯ, ЭКОЛОГИЯ</b> .....	13
<b>Глава 1.</b> Краткий очерк истории открытия и исследований вируса клещевого энцефалита ( <i>В.И. Злобин, В.В. Погодина, Т.В. Попонникова, О. Каль</i> ) .....	13
<b>Глава 2.</b> Таксономия флавивирусов и новые флавивирусы ( <i>В.Б. Локтев</i> ) .....	38
<b>Глава 3.</b> Молекулярная биология и генетическая вариабельность вируса клещевого энцефалита ( <i>С.Е. Ткачев</i> ) .....	56
<b>Глава 4.</b> Вариабельность белка оболочки и антигенные свойства вируса клещевого энцефалита ( <i>Ю.С. Букин, Ю.П. Джиоев, В.И. Злобин</i> ) .....	77
<b>Глава 5.</b> Генетическая изменчивость вируса клещевого энцефалита: возможность рекомбинаций и особенности пространственной эволюции европейского субтипа ( <i>Ю.П. Джиоев, Ю.С. Букин, И.В. Козлова, Л.А. Степаненко, Д.О. Киселев, В.И. Злобин</i> ).....	100
<b>Глава 6.</b> Дальневосточный субтип вируса клещевого энцефалита ( <i>Г.Н. Леонова, С.И. Беликов</i> ).....	119
<b>Глава 7.</b> Сибирский субтип вируса клещевого энцефалита ( <i>В.В. Погодина, Н.М. Колясникова, Л.С. Карань, С.Г. Герасимов, Ж.П. Санчес-Пименталь, Е.Г. Демьяновская, А.А. Ишмухаметов</i> ) .....	138
<b>Глава 8.</b> Европейский субтип вируса клещевого энцефалита ( <i>И.В. Козлова, Ю.С. Савинова, Т.В. Демина, С.Е. Ткачев, Е.К. Дорощенко, О.В. Лисак, О.В. Сунцова, Ю.П. Джиоев, А.И. Парамонов, Д. Ружсек, В.И. Злобин</i> ) .....	153
<b>Глава 9.</b> Байкальский субтип вируса клещевого энцефалита ( <i>Т.В. Демина, И.В. Козлова, М.М. Верховзина, Ю.П. Джиоев, С.Е. Ткачев, Е.К. Дорощенко, О.В. Лисак, Ю.С. Савинова, О.В. Сунцова, А.И. Парамонов, В.И. Злобин</i> ) .....	175
<b>Глава 10.</b> Индикация, идентификация и генотипирование вируса клещевого энцефалита ( <i>М.М. Верховзина, С.Е. Ткачев</i> ) .....	194
<b>Глава 11.</b> Фауна иксодовых клещей в природных очагах клещевого энцефалита ( <i>В.В. Якименко, И.И. Богданов</i> ).....	212
<b>Глава 12.</b> Экология вируса клещевого энцефалита ( <i>Г.А. Данчинова, М.А. Хаснатинов, Н.А. Ляпунова, И.С. Соловаров</i> ).....	241
<b>Глава 13.</b> Особенности горных очагов клещевого энцефалита ( <i>Л.Д. Шучинова, В.И. Злобин</i> ) .....	262
<b>Глава 14.</b> Сочетанные очаги клещевого энцефалита и других переносимых клещами инфекций ( <i>И.В. Козлова, Е.К. Дорощенко, О.В. Лисак, О.В. Сунцова, Ю.С. Савинова, А.И. Парамонов, В.И. Злобин</i> ).....	273

## ЧАСТЬ II

### КЛЕЩЕВОЙ ЭНЦЕФАЛИТ: ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, КЛИНИКА, ПАТОГЕНЕЗ, ЛЕЧЕНИЕ, СПЕЦИФИЧЕСКАЯ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА.....

<b>Глава 15.</b> Эпидемиология клещевого энцефалита в России ( <i>Е.В. Веригина, Е.Г. Симонова</i> ).....	295
<b>Глава 16.</b> Клещевой энцефалит: патогенез, клиника, диагностика, ( <i>К.А. Аитов, И.В. Малов</i> ).....	307
<b>Глава 17.</b> Проблемные вопросы клинической классификации клещевого энцефалита: исторические и современные аспекты ( <i>Н.В. Скрипченко, Ю.В. Лобзин, Г.П. Иванова, Е.Ю. Скрипченко, Н.Ф. Пульман</i> ) .....	326
<b>Глава 18.</b> Клещевой энцефалиту детей ( <i>Н.В. Скрипченко, Ю.В. Лобзин, Г.П. Иванова, Е.Ю. Скрипченко, Н.Ф. Пульман</i> ) .....	345
<b>Глава 19.</b> Клинико-иммунологические аспекты микст-инфекций, экологически связанных с иксодовыми клещами ( <i>А.Б. Конькова-Рейдман</i> ) .....	370
<b>Глава 20.</b> Микст-формы клещевых инфекций у детей ( <i>Т.В. Попонникова</i> ) ....	392
<b>Глава 21.</b> Современные концентрированные очищенные культуральные инактивированные вакцины для иммунопрофилактики клещевого энцефалита ( <i>М.С. Воробьева, М.С. Шербинина</i> ).....	409
<b>Глава 22.</b> Специфическая профилактика клещевого энцефалита ( <i>Н.А. Пеньевская</i> ) .....	423
<b>Глава 23.</b> Неспецифическая профилактика клещевого энцефалита ( <i>Н.И. Шашина, И.В. Успенский</i> ) .....	455
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	467

# CONTENTS

INTRODUCTION .....	9
PART I	
<b>TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS: MOLECULAR BIOLOGY, GENETIC VARIABILITY, EVOLUTION, DETECTION, ECOLOGY</b> .....	13
<b>Chapter 1.</b> Brief historical outline of the discovery and research of tick-borne encephalitis virus ( <i>V.I. Zlobin, V.V. Pogodina, T.V. Poponnikova, O. Kahl</i> ) .....	13
<b>Chapter 2.</b> Flavivirus taxonomy and new Flaviviruses ( <i>V.B. Loktev</i> ) .....	38
<b>Chapter 3.</b> Molecular biology and genetic variability of tick-borne encephalitis virus ( <i>S.E. Tkachev</i> ) .....	56
<b>Chapter 4.</b> Envelope protein variability and antigenic properties of tick-borne encephalitis virus ( <i>Yu.S. Bukin, Yu.P. Dzhioev, V.I. Zlobin</i> ) .....	77
<b>Chapter 5.</b> Genetic variability of the tick-borne encephalitis virus: the possibility of recombination and features of the spatial evolution of the european subtype ( <i>Yu.P. Dzhioev, Yu.S. Bukin, I.V. Kozlova, L.A. Stepanenko, D.O. Kiselev, V.I. Zlobin</i> ) .....	100
<b>Chapter 6.</b> Far Eastern tick-borne encephalitis virus subtype ( <i>G.N. Leonova, S.I. Belikov</i> ) .....	119
<b>Chapter 7.</b> Siberian tick-borne encephalitis virus subtype ( <i>V.V. Pogodina, N.M. Kolyasnikova, L.S. Karan, S.G. Gerasimov, J.P. Sanches-Pimentel, E.G. Demianovskaya, A.A. Ishmukhametov</i> ) .....	138
<b>Chapter 8.</b> European tick-borne encephalitis virus subtype ( <i>I.V. Kozlova, Yu.S. Savinova, T.V. Demina, S.E. Tkachev, E.K. Doroshchenko, O.V. Lisak, O.V. Suntsova, Yu.P. Dzhioev, A.I. Paramonov, D. Ruzek, V.I. Zlobin</i> ) .....	153
<b>Chapter 9.</b> Baikal subtype of tick-borne encephalitis virus ( <i>T.V. Demina, I.V. Kozlova, S.E. Tkachev, M.M. Verkhovzina, Yu.P. Dzhioev, Yu.S. Savinova, E.K. Doroshchenko, O.V. Lisak, O.V. Suntsova, A.I. Paramonov, V.I. Zlobin</i> ) .....	175
<b>Chapter 10.</b> Tick-borne encephalitis virus indication, identification and genotyping ( <i>M.M. Verkhovzina, S.E. Tkachev</i> ) .....	194
<b>Chapter 11.</b> Fauna of Ixodid ticks in the natural foci of tick-borne encephalitis ( <i>V.V. Yakimenko, I.I. Bogdanov</i> ) .....	212
<b>Chapter 12.</b> Tick-borne encephalitis virus ecology ( <i>G.A. Danchinova, M.A. Khasnatinov, N.A. Lyapunova, I.S. Salovarov</i> ) .....	241
<b>Chapter 13.</b> Features of mountain foci of tick-borne encephalitis ( <i>L.D. Shchuchinova, V.I. Zlobin</i> ) .....	262
<b>Chapter 14.</b> Combined foci of tick-borne encephalitis and other tick-borne infections ( <i>I.V. Kozlova, E.K. Doroshchenko, O.V. Lisak, O.V. Suntsova, Yu.S. Savinova, A.I. Paramonov, V.I. Zlobin</i> ) .....	273



## PART II

### TICK-BORNE ENCEPHALITIS: EPIDEMIOLOGY, CLINICAL PICTURE, PATOGENESIS, TREATMENT, SPECIFIC AND NONSPECIFIC PROPHYLAXIS .....

<b>Chapter 15.</b> Epidemiology of tick-borne encephalitis in Russia ( <i>E.V. Verigina, E.G. Simonova</i> ) .....	295
<b>Chapter 16.</b> Clinical picture, pathogenesis, diagnosis, and treatment of tick-borne encephalitis ( <i>K.A. Aitov, I.V. Malov</i> ) .....	307
<b>Chapter 17.</b> Problematic issues of the clinical classification of tick-borne encephalitis: historical and current aspects ( <i>N.V. Skripchenko, Yu.V. Lobzin, G.P. Ivanova, E.Yu. Skripchenko, N.F. Pulman</i> ).....	326
<b>Chapter 18.</b> Tick-borne encephalitis in children ( <i>N.V. Skripchenko, Yu.V. Lobzin, G.P. Ivanova, E.Yu. Skripchenko, N.F. Pulman</i> ) .....	345
<b>Chapter 19.</b> Clinical and immunological aspects of mixed infections environmentally associated with ticks ( <i>A.B. Konkova-Reidman</i> ).....	370
<b>Chapter 20.</b> Mixed forms of tick-borne infections in children ( <i>T.V. Poponnikova</i> ).....	392
<b>Chapter 21.</b> Modern concentrated purified cultural inactivated vaccines for tick-borne encephalitis immunoprophylaxis ( <i>M.S. Vorobieva, M.S. Shcherbinina</i> ) .....	409
<b>Chapter 22.</b> Tick-borne encephalitis specific prophylaxis ( <i>N.A. Pen'evskaya</i> ).....	423
<b>Chapter 23.</b> Tick-borne encephalitis nonspecific prophylaxis ( <i>N.I. Shashina, I.V. Uspensky</i> ) .....	455
<b>CONCLUSION</b> .....	467

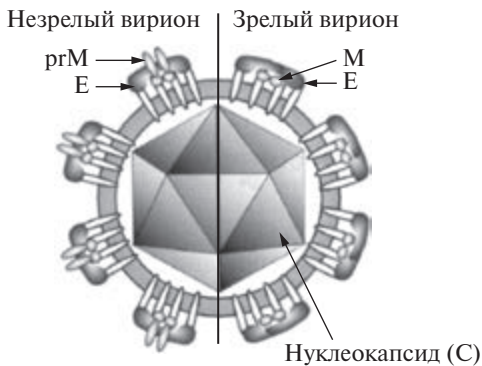
## Глава 3

# МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

С.Е. Ткачев

### Морфология вирионов вируса клещевого энцефалита

Представители семейства *Flaviviridae*, к которым относится вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), являются цитоплазматическими вирусами, и процесс их внутриклеточного развития протекает в цитоплазме зараженных клеток с участием вирусных и клеточных ферментов. Вирионы ВКЭ имеют молекулярную массу  $2,63 \times 10^4$  кДа. Это сферические частицы диаметром 50 нм [1, 2], с электронноплотной сердцевиной (нуклеокапсидом), окруженной белково-липидной оболочкой, причем содержание липидов в вирионах составляет 10–20% от общей массы вириона [3]. Так как созревание и сборка вирионов флавивирусов происходят на мембранах ЭПР, состав липидов оболочек вирионов имеет сходство с составом липидов внутренних мембран [4]. В составе оболочки вирионов флавивирусов присутствуют два белка: белок М с молекулярной массой 7–9 кДа и гликопротеин Е с молекулярной массой 51–59 кДа, которые закреплены в бислое липидов с помощью трансмембранных гидрофобных участков-«якорей» [5]. Различают две формы вирионов – незрелую и зрелую (рис. 1), отличающиеся между собой наличием белков ргМ и М, соответственно, при этом белок ргМ является предшественником белка М и протеолитически расщепляется в процессе созревания вирионов [6].



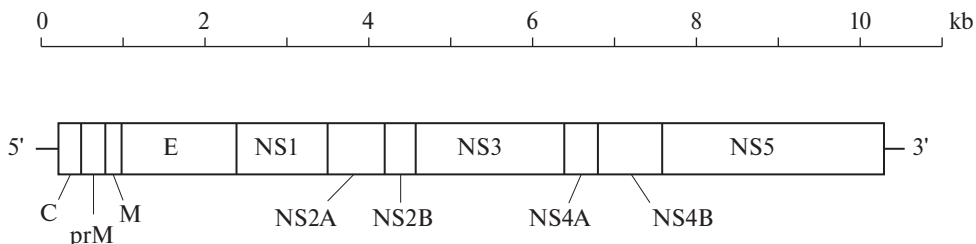
Нуклеокапсид представляет собой комплекс белка С с геномной одноцепочечной РНК. По данным электронной микроскопии, диаметр нуклеокапсидов флавивирусов составляет 20–30 нм, а толщина вирусной оболочки 6–10 нм [7]. Этот комплекс достаточно прочен, в то время как прочных контактов между белками оболочки вирионов и нуклеокапсидом обнаружить не удалось [8–10].

Рис. 1. Схема строения незрелого и зрелого вирионов флавивирусов [1]

Недавно была определена структура очищенных частиц ВКЭ при разрешении 3,9 Å с использованием реконструкции изображения, полученного при криоэлектронной микроскопии [5]. Исследование показало относительно гладкую внешнюю поверхность вириона, и что белки E и M организованы аналогично таковым у других флавивирусов. Поверхность вириона покрыта небольшими выступами, образованными гликанами, прикрепленными к молекулам белка E.

## Организация генома вируса клещевого энцефалита

Геном ВКЭ представлен одноцепочечной «плюс»-РНК длиной около 10,5 тысяч нуклеотидов и состоит из 5'- и 3'- некодирующих областей и кодирующей области между ними (рис. 2) [11]. На 5'-конце генома флавивирусов располагается кэп I типа m7GpppAmpN1pN2 [10, 12]. Ранее считалось, что РНК некоторых штаммов ВКЭ содержит полиА-тракт на 3'-конце, но позже было показано, что данный фрагмент является внутренней частью варибельного участка 3'-некодирующей области генома [13, 14].

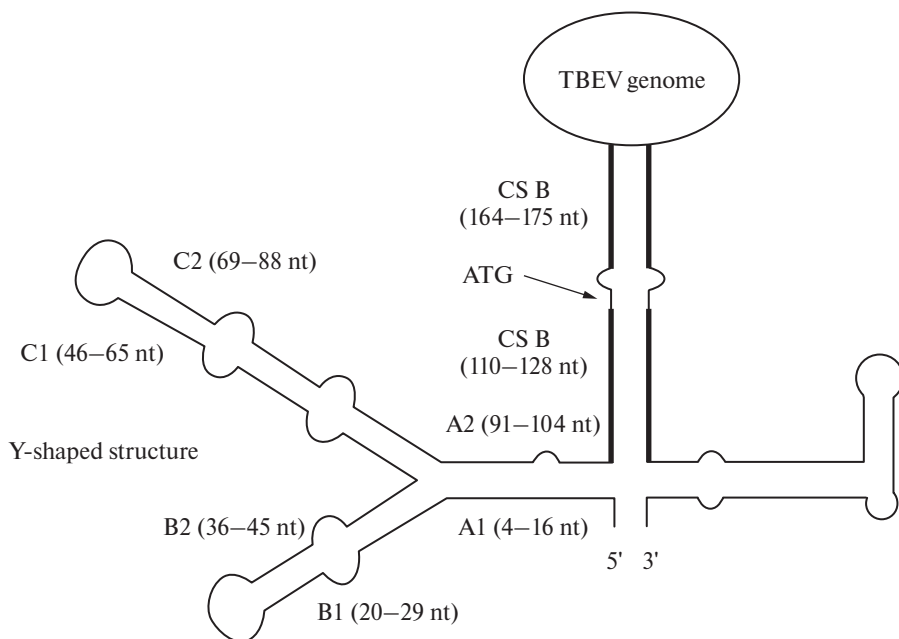


**Рис. 2.** Схема организации генома вируса клещевого энцефалита

Прямоугольниками обозначена кодирующая часть генома с обозначением генов. Сверху указана шкала с длиной в нуклеотидных остатках

Длина 5'-некодирующей области РНК ВКЭ составляет около 130 нуклеотидов, а 3'-некодирующей области – 350–750 нуклеотидов [13–16]. Размеры и последовательности этих районов варьируют среди различных штаммов ВКЭ, однако они имеют выраженную вторичную структуру, которая, возможно, играет роль *cis*-элемента при репликации или трансляции геномной РНК или ее упаковке в вирион [17–19]. Также считается, что один из механизмов адаптации репликации вируса в различных хозяевах может быть связан со вторичной структурой 5'- и 3'-некодирующих областей, которые взаимодействуют друг с другом и участвуют в циркулизации генома, требуемой для репликации [20–22].

На рис. 3 [23] показаны важные элементы вторичной структуры 5'-некодирующей области генома ВКЭ: Y-образная структура (Y-shaped structure), 2 области консервативных последовательностей (CS) и кодон инициации трансляции [17, 24, 25]. Считается, что Y-образная структура служит промотором для вирусной РНК-полимеразы [26]. Фрагменты CS A и CS B вместе с соответствующими участками в 3'-некодирующей области необходимы для циклизации генома и формирования структуры «сковорода с ручкой» («panhandle») [24].



**Рис. 3.** Предсказанная вторичная структура генома ВКЭ, вычисленная с помощью программы MFold [23]

При анализе последовательностей 5'-некодирующих областей ВКЭ, выявленных в клещах *I. ricinus* на территории Швейцарии и в клещах *I. persulcatus* и *I. pavlovskiyi* на территории Западной Сибири, была выявлена высокая вариабельность определенных участков, которые ответственны за взаимодействие с вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразой и, вероятно, за адаптацию вируса к различным хозяевам [23, 27].

В 3'-некодирующей области генома гетерогенность по длине наблюдалась в вариабельном районе, следующем за стоп-кодоном, в то время как 350 нуклеотидов на 3'-конце формировали высококонсервативный участок, содержащий несколько потенциально важных мотивов и элементов вторичной структуры. Также в последовательностях 3'-некодирующих областей различных флавивирусов, переносимых клещами, были выявлены короткие прямые повторы длиной около 25–70 нуклеотидов [13, 14, 17]. При исследованиях зависимости влияния строения 3'-некодирующей области на биологические свойства вируса было показано, что корреляции между длиной этого участка генома и титрами гемагглютинации не было найдено, тем не менее для штаммов ВКЭ с короткими (менее 200 нуклеотидных остатков) последовательностями 3'-некодирующей части геномов инкубационный период при заражении вирусом мышей-сосунков существенно удлинялся [28].

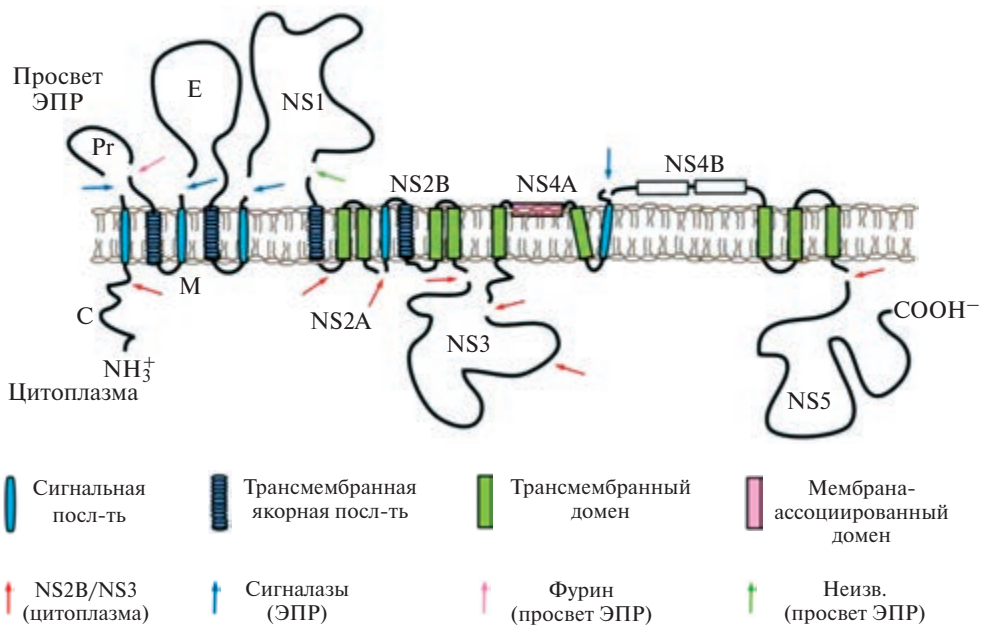
Кодирующая часть геномной РНК ВКЭ содержит одну открытую рамку считывания, которая начинается с иницирующего AUG кодона (позиция нуклеотидов 133–135), заканчивается стоп-кодоном UAA (10375–10377 нуклеотиды) и кодирует полипротеин-предшественник длиной 3412 аминокислот-

ных остатков (для штамма *Софьин*) [11]. В основном длина кодирующей области генома ВКЭ является одинаковой для всех известных штаммов вируса, хотя были описаны единичные штаммы дальневосточного субтипа ВКЭ, имеющие короткие делеции в кодирующей области генома [29]. Гены структурных белков С, ргМ и Е находятся в 5'-концевой четверти генома, в то время как в 3'-концевой части генома расположены гены неструктурных белков NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B и NS5 (рис. 2).

## Молекулярно-генетическая характеристика белков ВКЭ

### Процессинг полипротеина

После процесса трансляции вирусной РНК на клеточных рибосомах полипротеин подвергается ко- и посттрансляционному процессингу вирусными и клеточными протеазами с образованием индивидуальных структурных и неструктурных вирусных белков [6, 30]. Так, в цистернах эндоплазматического ретикулума процессинг полипротеина происходит с участием клеточных протеаз (сигнализ) с образованием N-концов белков ргМ, Е, NS1 и NS4B, и там же происходит расщепление между белками NS1 и NS2A с помощью невыявленной клеточной протеазы (рис. 4) [6, 31]. Процессинг других флавиовирусных белков происходит в цитоплазме под действием вирусной протеазы – комплекса белков NS2B/NS3 [32–34]. Также при созревании вирионов в процессе перемещения через эндоплазматическую сеть и аппарат Гольджи гликопротеин ргМ дополнительно гидролизуется фурином (сериновой протеазой клеток, расположенной в аппарате Гольджи) с образованием белка М [6, 35, 36].



**Рис. 4.** Схема ко- и посттрансляционного процессинга полипротеина флавиовирусов [6]. Стрелками указаны клеточные и вирусные протеазы

## Структурные белки вириона

### *Белок капсида С.*

Белок С имеет молекулярную массу около 12–15 кДа [9, 30] и является одним из наиболее варьируемых белков флавивирусов [11]. Множество его копий в виде димеров и одна копия геномной вирусной РНК образуют нуклеокапсид [37–39]. На С- и N-концах белка находятся участки, обогащенные положительно заряженными остатками основных аминокислот (до 20–25%), вероятно, необходимых для взаимодействия с вирусной РНК при формировании нуклеокапсида вириона [30, 40]. В центральной части белка содержится кластер незаряженных аминокислотных остатков, который, по всей видимости, играет важную роль в сборке и формировании вирионных частиц и обеспечивает связь нуклеокапсида с липопротеиновой оболочкой вириона [41].

Незрелая форма белка С содержит полипептид СТНД (C-terminal hydrophobic domain), состоящий из 20 а.о. Было обнаружено, что в ходе процессинга полипротеина он отщепляется клеточной сериновой протеазой (рис. 4) [42]. Было показано, что модификация сайтов протеолиза в этом районе может влиять на скорость созревания вирусных частиц в инфицированных клетках.

До недавнего времени считалось, что у различных штаммов ВКЭ длина белка С является неизменной. Тем не менее при исследованиях штаммов, выделенных из крови людей с бессимптомным (инаппарантным) течением заболевания, в позиции 111 а.о. полипротеина была обнаружена делеция [29]. Ранее экспериментально было установлено, что после внесения в последовательность белка С делеций возможно получить жизнеспособный вирус со сниженной нейроинвазивностью и нейровирулентностью [40, 43–46]. Обширные делеции в белке С нарушают процесс сборки инфекционных вирусов и приводят к значительному снижению продукции вируса в клеточной культуре, в результате чего из клетки выходят бескапсидные неинфекционные вирусные частицы [40]. Тем не менее жизнеспособность вируса может быть восстановлена при спонтанном появлении дополнительных (secondsite) мутаций [40–45].

### *Мембранный белок М.*

Белок М имеет молекулярную массу около 8 кДа и образуется путем протеолитического расщепления клеточными протеазами своего предшественника-полипептида рgМ, следующего в полипротеине после белка С [30, 35, 47, 48]. Было показано, что варьируемость последовательностей белка М для различных видов флавивирусов составляет 70–80% [11]. N-конец белка рgМ содержит сайты гликозилирования и шесть консервативных остатков цистеина, формирующих три внутримолекулярных S-S мостика [48, 49].

На первых стадиях сборки в клетке вирион существует в виде внутриклеточной незрелой вирусной частицы, содержащей белок-предшественник рgМ, заякоренный С-терминальным концом в вирусной мембране и формирующий гетеродимерный комплекс с белком оболочки вириона Е в соотношении 1 : 1 [6, 47, 48, 50–52]. Совместный синтез белков рgМ и Е необходим для правильного сворачивания, ориентации в пространстве, ассоциации с мембраной и эффективной секреции белка Е флавивирусов, так как одной из функций белка рgМ является защита белка Е от необратимых конформационных изменений во время транспорта гетерокомплекса рgМ-Е через ЭПР и аппарат Гольджи (АГ) [47, 48, 51–53]. Созревание неинфекционных вирусных частиц

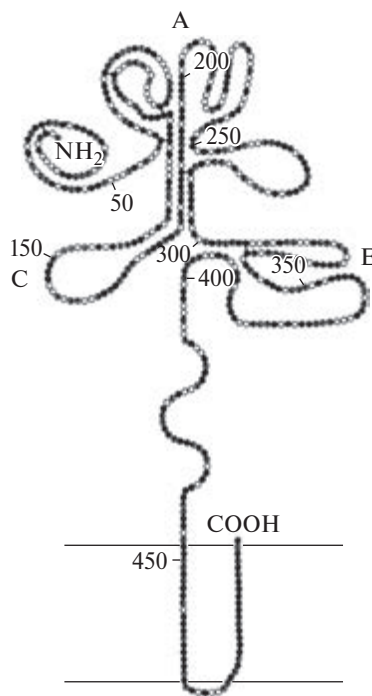
происходит в компартментах АГ в результате процессинга белка ргМ клеточной сигнальной (фурином) (рис. 4), при котором в составе вириона остается его С-конец (белок М) [54, 55]. Расщепление ргМ сопровождается изменением конформации поверхностного белка оболочки вириона Е, после чего происходит созревание вириона, и он приобретает способность инфицировать клетку [6, 10, 47, 50, 54, 55].

*Белок оболочки вириона Е.*

Белок Е имеет молекулярную массу около 50 кДа и является основным структурным гликопротеином оболочки ВКЭ, который опосредует связывание ВКЭ с клеточными рецепторами, определяет тропизм, вирулентность и обеспечивает образование вируснейтрализующих антител [5]. N и С-концы белка образуются под действием сигнальной пептидазы клетки (рис. 4) [30, 56]. Уровень гомологии белка Е составляет 93–96% среди различных штаммов одного вида (ВКЭ) и 36–40% для различных видов флавивирусов (77%–80% гомологии для вирусов, переносимых клещами, и около 40% между флавивирусами, переносимыми клещами и комарами) [11, 56, 57]. При исследованиях штаммов, выделенных с разницей в 14 лет в одном из природных очагов в Австрии, с помощью панели моноклональных антител к белку Е в нем не были выявлены антигенные изменения, что указывает на стабильность основного гликопротеина оболочки вирионов Е в вирусной популяции в течение многих лет [58].

Белок Е состоит из большой вневирионной части, трансмембранного якоря и короткого пептида, находящегося под липидной оболочкой вириона (рис. 5) [59]. Его последовательность содержит 12 остатков цистеина, образующих 6 внутримолекулярных дисульфидных мостиков, стабилизирующих пространственную структуру белка Е, причем их расположение, по-видимому, является консервативным для различных флавивирусов [49].

У большинства флавивирусов белок Е является гликопротеином с N-гликозидным типом связи белок-углевод. Сайты гликозилирования белка Е не являются консервативными, но в ряде случаев наблюдается сходство в их количестве и расположении [60]. С другой стороны, было показано, что для некоторых флавивирусов гликозилирование белка Е не является необходимым; так, основной белок оболочки зрелых вирионов вирусов Западного Нила и Кунжин негликозилирован [61, 62]. Более того, для ВКЭ было продемонстрировано, что при заражении им культур эукариотических клеток белок Е



**Рис. 5.** Двухмерная модель белка Е ВКЭ [59]

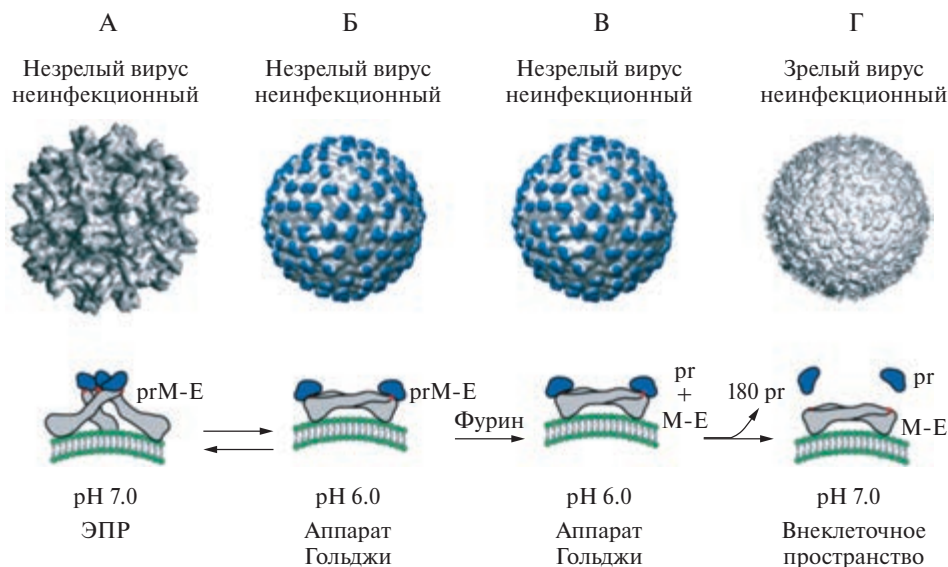
Цифрами обозначены позиции а.о. в белке Е. Дисульфидные мостики обозначены короткими толстыми линиями. Две горизонтальные линии – билипидная мембрана вирионов. А, В, С – антигенные домены



обнаруживается как в гликозилированной, так и в негликозилированной формах [63]. Было показано, что дегликозилирование белка Е не влияет на его биологические свойства, такие как инфекционность при внутримозговом заражении лабораторных животных и агглютинация эритроцитов [60, 64], так же как и присоединение олигосахаридов не влияет на конформацию эпитопов белка Е флавиовирусов [65]. Было сделано предположение, что гликозилирование белка Е в ряде случаев необходимо для транспортировки его через мембраны ЭПР и АГ при сборке и созревании вирионов [66].

Поверхностный гликопротеин оболочки вириона Е ВКЭ принимает участие в связывании вириона с клеточным рецептором и слиянии вирусной мембраны с клеточной с последующим рецептор-опосредованным эндоцитозом [67]. В качестве рецепторов клеток для проникновения ВКЭ были описаны ламининсвязывающий белок человека и  $\alpha_3\beta_1$  интегрин [68, 69]. Так как гликопротеин Е обладает сродством к интегринам на поверхности клеток, то следствием этого наблюдается его способность вызывать агглютинацию эритроцитов.

Оболочка вириона состоит из белков Е и ргМ, причем в незрелых и зрелых вирусных частицах эти белки имеют различную конформацию. В незрелых вирионах белки ргМ и Е находятся в виде гетеродимеров, формирующих 60 тримерных выступов на поверхности вирусной частицы (рис. 6, А) [6, 70]. В зрелых вирионах белок Е представлен в виде 90 гомодимеров, располагающихся вдоль поверхности вирусной частицы и формирующих «гладкую» оболочку вириона (рис. 6, Г), а белок М, образующийся в процессе созревания из ргМ, остается в виде трансмембранного белка под оболочкой из гликопротеина Е. Такие структурные трансформации от незрелой к зрелой форме вирионных частиц



**Рис. 6.** Конформационные изменения гетерокомплекса белков ргМ и Е в процессе созревания вирусной частицы [6]

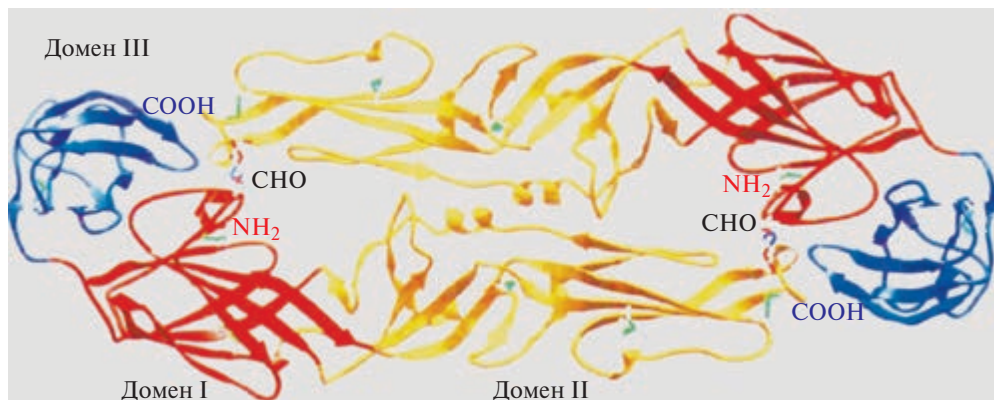


(рис. 6, А–Г) связаны с конформационными изменениями в белке Е и происходят в результате транспорта через мембраны аппарата Гольджи [6]. Показано, что эти конформационные изменения в белке Е происходят под действием кислых рН (~5.8–6.0) в эндосомах и действия фуриновой протеазы на белок ргМ в процессе созревания вириона (рис. 6, Б). После действия протеазы пептид рг остается ассоциированным с гетеродимером М–Е (рис. 6, В) до выхода зрелой вирусной частицы во внеклеточное пространство с нейтральными рН, где происходит его окончательная диссоциация. Предполагают, что пептид рг играет роль кэп-подобной структуры, защищающей вирионы от слияния с мембранами до выхода вирусных частиц из клеток [71].

В настоящее время существует несколько структурных моделей белка Е флавивирусов. На основании модели, полученной путем установления расположения 6 S–S связей внутри молекулы белка Е [49] и анализа конкурентного связывания двух панелей моноклональных антител к белку Е, была предложена двумерная молекулярная модель белка Е ВКЭ на примере штамма *Найдорф* [64, 72]. В соответствии с этими моделями в молекуле белка Е выделяются антигенные домены А, В и С, гидрофобный трансмембранный участок и короткий гидрофильный внутривирусный пептид (рис. 5). Домен А состоит из двух полипептидных цепей, локализованных в районах 50–125 а.о. белка Е (содержит три S–S мостика) и 200–250 а.о. (содержит один S–S мостик). Домен В образован одной полипептидной цепью, локализован в районе 301–395 а.о. белка Е и содержит один дисульфидный мостик. Домен С является самым вариабельным для флавивирусов районом, содержащим большинство подтип-специфичных детерминант, и так же, как и домен В, образован одной полипептидной цепью. В домене С был обнаружен сайт N-гликозилирования, расположенный в позиции 434 а.о. полипротеина, являющийся единственным в белке Е; два других потенциальных сайта были обнаружены в позициях 641 и 754 а.о. полипротеина, гликозилирование по которым, вероятно, затруднено вследствие местонахождения в последовательности белка [11].

Методами рентгеноструктурного анализа были получены структуры для растворимой части белка Е (sE) [73] (рис. 7) и гетеродимера ргМ–Е ВКЭ [48]. Было показано, что в полипептидной цепи sE выделяют три отдельных домена: центральный цилиндр (домен I), вытянутый район димеризации (домен II) и С-концевой иммуноглобулиноподобный район (домен III). Домен I состоит из трех сегментов (районы 1–51, 137–189 и 285–302 а.о. в последовательности белка Е), домен II из 2 сегментов (районы 52–136 и 190–284 а.о.), а домен III не фрагментирован (район 303–395 а.о.). В соответствии с двумерной моделью [64, 72] домены I, II и III соответствуют антигенным доменам С, А и В [73]. Было показано, что точечные мутации, приводящие к снижению нейроинвазивности и нейровирулентности флавивирусов, находятся во всех трех доменах белка Е, которые, как считается, затрагивают процессы присоединения вируса к мембранам клеток и рН-зависимое слияние в эндосомах, что было показано в том числе и для ВКЭ [29, 74–81].

Также было показано, что домен II содержит так называемый «пептид слияния» – фрагмент белка Е, опосредующий проникновение вируса в клетку [73, 82, 83]. До сих пор нет однозначного мнения о границах этого пептида, но считается, что N-концу пептида слияния соответствует 98 а.о., а С-конец представлен 110 а.о. [84], 113 а.о. [73], 116 а.о. [85] или 120 а.о. [86]. Обнаружено,



**Рис. 7.** Схема структуры димерной формы полипептидной цепи растворимой части белка E (sE) ВКЭ. Вид димера представлен в направлении, соответствующем наружной стороне вирусной частицы [73]

что последовательность пептида слияния является высококонсервативной для большого числа флавивирусов, переносимых как клещами, так и комарами. Так, было показано, что пептид 98–113 а.о. представляет собой последовательность DRGWGNXCGXFGKGGXX, где XX – переменные а.о. [83]. В позиции 104 а.о. у флавивирусов, переносимых комарами, находится остаток глицина (G), у переносимых клещами – остаток гистидина (H), а в позиции 107 а.о. большинство флавивирусов содержат остаток лейцина (L), за исключением вируса Повассан, у которого в данной позиции обнаружен остаток фенилаланина (F). Также было показано, что ряд мутаций в позициях 104 а.о., 106 а.о. и 107 а.о. влияют на размножение вируса или его способность слияния с клеткой [82, 87, 88], а также нейроинвазивность [89].

Поверхностный гликопротеин оболочки вириона E играет важную роль в развитии протективного иммунного ответа при флавивирусной инфекции, и иммунизация им людей или лабораторных животных приводит к образованию вируснейтрализующих антител [90]. Помимо В-клеточных эпитопов в белке E различных флавивирусов были обнаружены линейные и конформационные эпитопы для Т-хелперов и один эпитоп для цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+ [91–93].

### Неструктурные белки ВКЭ

#### *Белок NS1.*

Белок NS1 является одним из консервативных белков флавивирусов: уровень гомологии последовательностей между разными видами этого семейства составляет 37–44% [11, 59]; между штаммами из различных популяций одного вида около 90% сходства [11]. N-конец белка NS1 образуется под действием сигнальной пептидазы хозяйской клетки, а С-конец – под действием еще не известного фермента, находящегося в ЭПР (рис. 4) [30, 31, 94]. Молекулярная масса белка NS1 составляет около 46 кДа [94], что отличается от теоретически вычисленной, вероятно, вследствие его гликозилирования. Было

показано, что у различных флавивирусов белок NS1 содержит от одного до трех сайтов гликозилирования N-типа [11, 30]. По всей видимости, гликозилирование является необходимым условием для олигомеризации и стабилизации олигомерной формы белка NS1, а также для эффективной репликации РНК, так как было показано, что соответствующие мутации в белке NS1 приводили к значительным изменениям в репликации и продукции вируса [95–97]. Также гликопротеин NS1 содержит 12 консервативных остатков цистеина, которые формируют внутримолекулярные дисульфидные связи [30, 98].

Показано, что гликопротеин NS1 может существовать в эукариотических клетках в трех формах: внутриклеточной, связанной с мембраной в димерной форме [99, 100]; форме, связанной с внешней поверхностью мембраны клетки [101]; секретируемой из клеток форме [30]. Внутриклеточная форма NS1 существует в виде моно- и димеров, на поверхности клеток – в виде димеров, в то время как внеклеточные формы белка представляют собой мультимерные комплексы [63, 101–103]. Было установлено, что внутриклеточный NS1 связан с белками NS3, NS5, NS4A и двуцепочечной РНК в составе репликативного комплекса и требуется на ранней стадии репликации для синтеза минус-цепи РНК [25, 104–109]. Также было показано, что из клеток [110] и культуральной жидкости инфицированных клеток [111] можно выделить комплекс белков E и NS1.

Вследствие нахождения одной из форм гликопротеина NS1 на поверхности хозяйских клеток данный белок является хорошим иммуногеном и вызывает индукцию гуморального иммунного ответа, являющегося протективным, в течение развития инфекции [101, 112]. Иммунизация белком NS1 либо использование различных гетерологичных систем для экспрессии гена NS1 при введении в организм обеспечивали защиту животных от летальных доз вирусов [113–117].

#### *Малые неструктурные белки NS2A, NS2B, NS4A и NS4B.*

Малые неструктурные белки NS2A (18–25 кДа), NS2B (14 кДа), NS4A (16–31 кДа), NS4B (12–27 кДа) являются наименее консервативными среди белков флавивирусов (уровень гомологии 18–36%) [11].

Белок NS2A является гидрофобным белком и образуется в результате расщепления полипротеина неизвестным ферментом в ЭПР (N-конец) и вирусной протеазой NS2B-NS3 в цитоплазме (C-конец) (рис. 4) [6, 30, 31, 94]. Вероятно, белок NS2A играет важную роль в процессах сборки вирусных частиц, формирования индуцированных вирусом мембран и выходе вирионов из клетки [118–120]. Также предполагается его участие в транспорте РНК после репликации для сборки вирусных частиц [119, 121] и в процессе ингибирования действия интерферона [122–124].

Белок NS2B существует в клетке в виде мембраносвязанного белка и образуется в результате расщепления полипротеина вирусной протеазой NS2B-NS3 (рис. 4) [6]. За счет водородных связей белок формирует комплекс с белком NS3, обеспечивая ему правильную конформацию, и действует как кофактор вирусной сериновой протеазы NS2B-NS3 [6, 125, 126]. Также было обнаружено, что белок NS2B, как и NS2A, локализован в местах синтеза вирусной РНК и способен к взаимодействию с белком NS5 и с 3'-некодирующей областью генома, что предполагает его участие в репликации вирусного генома [109, 121, 126].

Белок NS4A является гидрофобным белком, пронизывающим мембрану ЭПР несколько раз (рис. 4) [6, 127]. C- и N- концы белка располагаются в ци-

топлазме и образуются в результате действия вирусной сериновой протеазы с отщеплением короткого пептида 2K [107]. Показано, что белок NS4A связан с белком NS2A и белками NS1, NS2B, NS3, NS5, обеспечивая, по всей видимости, мембранную локализацию репликативного комплекса [107, 109, 121, 128].

Белок NS4B является гидрофобным белком, несколько раз пронизывающим мембраны ЭПР, и так же, как и белок NS2A, находится в районе сайтов репликации вирусной РНК [121, 129, 130]. Было показано, что, несмотря на высокую вариабельность последовательности данного белка среди различных видов флавивирусов, его топология остается неизменной, вероятно, свидетельствуя о его консервативной функции в жизненном цикле флавивирусов [131]. N-конец белка образуется в результате действия клеточной сигналызы в ЭПР, а С-конец – в результате расщепления полипротеина вирусной протеазой NS2B-NS3 (см. рис. 4) [6, 129]. Показано, что в зараженных вирусом клетках белок NS4B локализован вместе с белком NS3 в перинуклеарном пространстве, взаимодействуя с ним и оказывая влияние на репликацию вируса. Белок NS4B диссоциирует вирусную хеликазу NS3 с одноцепочечной РНК, в результате чего происходит усиление хеликазной активности NS3 [132].

#### *Белок NS3.*

Уровень гомологии последовательностей неструктурного белка NS3 среди различных флавивирусов составляет 44,5% [11]. Показано, что этот мультифункциональный белок является сериновой протеазой, РНК-стимулируемой нуклеозид-трифосфатазой и РНК-геликазой [6, 133, 134].

Протеазный домен находится на N-конце белка и участвует в протеолизе полипротеина флавивирусов по нескольким сайтам (рис. 4) [6]. Показано, что протеазная активность белка NS3 сильно зависит от присутствия ко-фактора – белка NS2B, формирующего часть активного центра протеазы и ответственного за закрепление комплекса белков NS2B-NS3 в мембране ЭПР [125, 135, 136].

Геликазный домен белка NS3 состоит из трех субдоменов, имеющих высокую консервативность по последовательностям и структурам у различных флавивирусов и содержащих семь структурных мотивов, схожих с таковыми у геликаз суперсемейства II [137]. Протеазный и геликазный домены белка NS3 связаны междоменным линкером, последовательность которого, как было показано, является вариабельной среди различных флавивирусов, но играет важную роль во взаимодействии этих двух доменов [6].

В С-концевой части белка NS3 обнаружен домен с РНК-трифосфатазной активностью, что предполагает его участие в синтезе «кэпа» на 5'-концах геномных РНК флавивирусов, происходящем в цитоплазме без участия клеточных ферментов [133].

#### *Белок NS5.*

Неструктурный белок NS5 является самым большим белком флавивирусов и имеет уровень гомологии 55,8% для различных видов этого семейства [11]. На N-конце белка NS5 располагается метилтрансферазный домен, на С-конце – домен РНК-зависимой-РНК-полимеразы [6]. Было обнаружено, что точечные мутации в различных участках белка NS5 влияют на вирулентность флавивирусов, вероятно, вследствие воздействия на процесс репликации [80, 138, 139].

Методами рентгеноструктурного анализа было показано, что полимеразный домен представляет собой структуру, сходную с другими известными РНК-зависимыми-РНК-полимеразами и подобную «правой руке» («right hand

conformation») с субдоменами «ладонь» («palm»), «пальцы» («fingers») и «большой палец» («thumb») [6, 140, 141]. Показано, что синтез РНК под действием полимеразы NS5 происходит у флавивирусов по праймер-независимому механизму с использованием одноцепочечной РНК в качестве матрицы [142–144]. В репликации вирусного генома белок NS5 участвует вместе с другими вирусными (NS1, NS2A, NS3, NS4A, NS4B) и некоторыми клеточными белками, формируя репликативный комплекс [139, 145, 146]. Также было показано, что белок NS5 флавивирусов так же, как и NS4B, способен влиять на индукцию иммуномедиаторов включая ингибирование действия интерферона путем блокирования компонентов сигнальных путей [147–149].

### **Короткие полипептиды ВКЭ**

При процессинге вирусного полипротеина образуются 3 коротких полипептида: СТНД (С-terminalhydrophobicdomain) (20 а.о.), Рг (89 а.о.) и 2К (23 а.о.). Первые два полипептида, как было указано выше, являются лидерными последовательностями для структурных белков С и М, соответственно, и, по всей видимости, определяют транспортировку полипептидов внутри клетки, правильность сборки и созревания вириона.

Полипептид 2К образуется в результате процессинга белков NS4A и NS4B. Его последовательность практически одинакова у большинства известных вирусов комплекса клещевого энцефалита, и только для вирусов Алькхурма и киасанурской лесной болезни показаны множественные аминокислотные замены в нем [16]. Было показано, что мутация V9M в 2К-полипептиде вируса Западного Нила обеспечивает устойчивость к ликорину, ингибирующему развитие инфекции в клетках, а также приводит к образованию вируса, устойчивого к индуцируемой интерфероном 2',5'-олигоаденилат-синтетазе 1b (Oas1b), которая ингибирует развитие инфекции вируса путем предотвращения накопления вирусной РНК в клетке [150, 151]. Также было показано, что интермедиат полипептида 2К и белка NS2B существенно усиливает индукцию иммуномедиаторов белком NS4B вируса Денге, играя синергическую роль для него [152]. В экспериментах по суперинфекционному исключению (под суперинфекцией понимается повторное заражение в условиях незавершившегося инфекционного процесса) с вирусом Западного Нила было показано, что полипептид 2К способен участвовать в регуляции репликации, по всей видимости, путем взаимодействия с клеточными факторами хозяйской клетки [153].

### **Вариабельность нуклеотидных и белковых последовательностей вируса клещевого энцефалита**

Исследования последних лет и, в частности, появление достаточно большого количества полногеномных последовательностей ВКЭ различных субтипов позволили произвести обновленную оценку уровней отличий между различными субтипами ВКЭ (табл. 1).



**Таблица 1.** Уровни сходства нуклеотидных последовательностей кодирующей части генома различных субтипов ВКЭ и последовательностей, кодируемых ими полипротеинов

Уровень сходства, %		Кодирующая часть генома					
		ВКЭ-Сиб	ВКЭ-ДВ	ВКЭ-Евр	ВКЭ-Бай	178-79	ВКЭ-Гим
Полипротеин	ВКЭ-Сиб	88-100	85-86	84-86	86-87	85-86	85
		96-100					
	ВКЭ-ДВ	94-95	94-100	83-84	87-88	89	84
			98-100				
	ВКЭ-Евр	94-95	93-94	91-100	84-85	84	84
				98-100			
	ВКЭ-Бай	94-96	96-97	94	99-100	88	85
99-100							
178-79	93-96	96-97	94	97	100	84-85	
ВКЭ-Гим	92-94	93	93	94	94	100	

*Примечание.* ВКЭ-Сиб – сибирский субтип ВКЭ; ВКЭ-ДВ – дальневосточный субтип ВКЭ; ВКЭ-Евр – европейский субтип ВКЭ; предполагаемые новые субтипы ВКЭ: ВКЭ-Бай – байкальский субтип ВКЭ; 178-79 – субтип с прототипным штаммом 178-79; ВКЭ-Гим – гималайский субтип ВКЭ

Было продемонстрировано, что сибирский субтип ВКЭ является наиболее варибельным, и границы внутрисубтиповой изменчивости у него находятся близко к границам разделения субтипов (уровень сходства по нуклеотидной последовательности 88%). Данное явление наблюдается благодаря открытой в недавнее время генетической линии Обская, найденной в Новосибирской и Кемеровской областях [154], которая, как было показано, относится к сибирскому субтипу ВКЭ, является наиболее древней из генетических линий внутри данного субтипа и существенно отличается по нуклеотидной последовательности генома от других представителей данного субтипа. Не исключено, что накапливающиеся данные по генетическому разнообразию ВКЭ в дальнейшем приведут к дополнительной корректировке границ разделения субтипов и генетических линий внутри них.

## Литература

1. Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J. et al., editors. Virus Taxonomy. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego, London: Elsevier Academic Press, 2005.
2. Knipe D.M., Howley P.M., editors. Fields Virology, 6th edition. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business, 2013.
3. Kitano T., Suzuki K., Yamaguchi T. Morphological, chemical and biological characterization of Japanese encephalitis virus virion and its hemagglutinin // J. Virol. 1974. Vol. 14. No 3. P. 631–639.

4. *Trepo C., Vierling J., Zeytin F.N.* et al. The first Flaviviridae symposium // *Intervirology*. 1997. Vol. 40. P. 279–288. doi: 10.1159/000150559.
5. *Füzik T., Formanová P., Růžek D.* et al. Structure of tick-borne encephalitis virus and its neutralization by a monoclonal antibody // *Nat. Commun.* 2018. Vol. 9. No 1. 436. doi: 10.1038/s41467-018-02882-0
6. *Perera R., Kuhn R.J.* Structural Proteomics of Dengue Virus // *Curr. Opin. Microbiol.* 2008. Vol. 11. No 4. P. 369–377. doi: 10.1016/j.mib.2008.06.004
7. *Zhang X., Ge P., Yu X.* et al. Cryo-EM structure of the mature dengue virus at 3.5-Å resolution // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2013. Vol. 20. No 1. P. 105–110. doi: 10.1038/nsmb.2463
8. *Westaway E.G., Reedman B.M.* Proteins of the group B arbovirus Kunjin // *J. Virol.* 1969. Vol. 4. No 5. P. 688–693.
9. *Heinz F.X., Kunz C.* Isolation of dimeric glycoprotein subunits from tick-borne encephalitis virus // *Intervirology*. 1980. Vol. 13. No 1. P. 169–177.
10. *Wengler G., Wengler G., Nowak T.* et al. Analysis of the influence of proteolytic cleavage on the structural organization of the surface of the West Nile flavivirus leads to the isolation of a protease-resistant E protein oligomer from the viral surface // *Virology*. 1987. Vol. 160. No 1. P. 210–219. doi: 10.1016/0042-6822(87)90062-6
11. *Pletnev A.G., Yamshchikov V.F., Blinov V.M.* Nucleotide sequence of the genome and complete amino acid sequence of the polyprotein of tick-borne encephalitis virus // *Virology*. 1990. Vol. 174. P. 250–263. doi: 10.1016/0042-6822(90)90073-z
12. *Liu L., Dong H., Chen H.* et al. Flavivirus RNA cap methyltransferase: structure, function, and inhibition // *Front. Biol.* 2010. Vol. 5. No 4. P. 286–303. doi: 10.1007/s11515-010-0660-y
13. *Добрикова Е.Ю., Плетнев А.Г.* Анализ 5'- и 3'-концевых некодирующих областей генома // *Биоорганическая химия*. 1995. Т. 21, № 7. С. 528–534.
14. *Wallner G., Mandl C.W., Kunz C.* et al. The flavivirus 3'-noncoding region: extensive size heterogeneity independent of evolutionary relationships among strains of tick-borne encephalitis virus // *Virology*. 1995. Vol. 213. No 1. P. 169–178. doi: 10.1006/viro.1995.1557
15. *Gritsun T.S., Lashkevich V.A., Gould E.A.* Tick-borne encephalitis // *Antiviral Res.* 2003. Vol. 57. P. 129–146. doi: 10.1016/s0166-3542(02)00206-1
16. *Локтев В.Б., Терновой В.А., Немцов С.В.* Молекулярно-генетическая характеристика вируса клещевого энцефалита // *Вопросы вирусологии*. 2007. Т. 52, № 5. С. 10–16.
17. *Gritsun T. S., Venugopal K., Zanolto P.M.* et al. Complete sequence of two tick-borne flaviviruses isolated from Siberia and the UK: analysis and significance of the 5' and 3'-UTRs // *Virus Research*. 1997. Vol. 49. No 1. P. 27–39. doi: 10.1016/s0168-1702(97)01451-2
18. *Proutski V., Gould E.A., Holmes E.C.* Secondary structure of the 3' untranslated region of flaviviruses: similarities and differences // *Nucleic Acids Res.* 1997. Vol. 25. P. 1194–1202. doi: 10.1093/nar/25.6.1194
19. *Rauscher S., Flamm C., Mandl C.W.* et al. Secondary structure of the 3'-noncoding region of flavivirus genomes: comparative analysis of base pairing probabilities // *RNA*. 1997. Vol. 3. P. 779–791.
20. *Thurner C., Witwer C., Hofacker I.L.* et al. Conserved RNA secondary structures in Flaviviridae genomes // *J. Gen. Virology*. 2004. Vol. 85. Pt. 5. P. 1113–1124. doi: 10.1099/vir.0.19462-0
21. *Gritsun T. S., Gould E.A.* The 3' untranslated region of tick-borne flaviviruses originated by the duplication of long repeat sequences within the open reading frame // *Virology*. 2006. Vol. 354. No 1. P. 217–223. doi: 10.1016/j.virol.2006.03.052
22. *Gritsun T.S., Gould E.A.* Origin and evolution of flavivirus 5'UTRs and panhandles: trans-terminal duplications? // *Virology*. 2007. Vol. 366. P. 8–15. doi: 10.1016/j.virol.2007.04.011
23. *Chausov E.V., Ternovoi V.A., Protopenova E.V.* et al. Variability of the tick-borne encephalitis virus genome in the 5' noncoding region derived from ticks *Ixodes persulcatus* and *Ixodes pavlovskyi* in Western Siberia // *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010. Vol. 10. No 4. P. 365–375. doi: 10.1089/vbz.2009.0064

24. Mandl C.W., Holzmann H., Kunz C. et al. Complete genomic sequence of Powassan virus: evaluation of genetic elements in tick-borne versus mosquito-borne flaviviruses // *Virology*. 1993. Vol. 194. P. 173–184. doi: 10.1006/viro.1993.1247
25. Khromykh A.A., Meka H., Guyatt K.J. et al. Essential role of cyclisation sequences in flavivirus RNA replication // *J. Virology*. 2001. Vol. 75. P. 6719–6728. doi: 10.1128/JVI.75.14.6719-6728.2001
26. Filomatori C.V., Lodeiro M.F., Alvarez D.E. et al. A 5' RNA element promotes dengue virus synthesis on a circular genome // *Genes Dev*. 2006. Vol. 20. P. 2238–2249. doi: 10.1101/gad.1444206
27. Casati S., Gern L., Piffaretti J.-C. Diversity of the population of Tick-borne encephalitis virus infecting *Ixodes ricinus* ticks in an endemic area of central Switzerland (Canton Bern) // *J. Gen. Virol*. 2006. Vol. 87. P. 2235–2241. doi: 10.1099/vir.0.81783-0
28. Morozova O.V., Bakhvalova V.N., Morozov I.V. Heterogeneity of 3'-Untranslated Region of Genome RNA of the Tick-Borne Encephalitis Virus (TBEV) Strains Isolated from Ticks in the Western Siberia, Russia // *Int. J. of Biomed. Sci*. 2007. Vol. 3, No 3. P. 206–210.
29. Belikov S.I., Kondratov I.G., Potapova U.V. et al. The relationship between the structure of the tick-borne encephalitis virus strains and their pathogenic properties // *PLoS One*. 2014. Vol. 16. No 9 (4). e94946. doi: 10.1371/journal.pone.0094946
30. Chambers T.J., Hahn C.S., Galler R. et al. Flavivirus genome organization, expression, and replication // *Annu. Rev. Microbiol*. 1990. Vol. 44. P. 649–688. doi: 10.1146/annurev.mi.44.100190.003245
31. Falgout B., Markoff L. Evidence that Flavivirus NS1-NS2A Cleavage is mediated by a membrane-bound host protease in the endoplasmic reticulum // *J. Virol*. 1995. Vol. 69. No 11. P. 7232–7243.
32. Chambers T.J., Grakoui A., Rice C.M. Processing of yellow fever virus nonstructural polyprotein: a catalytically active NS3 proteinase domain and NS2B are required for cleavage at dibasic sites // *J. Virol*. 1991. Vol. 65. P. 6042–6050.
33. Arias C.F., Preugschat F., Strauss J.H. Dengue 2 virus NS2B and NS3 form a stable complex that can cleave NS3 within the helicase domain // *Virology*. 1993. Vol. 193. P. 888–899. doi: 10.1006/viro.1993.1198
34. Kondo M.Y., Oliveira L.C., Okamoto D.N. et al. Yellow fever virus NS2B/NS3 protease: hydrolytic properties and substrate specificity // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2011. Vol. 407. No 4. P. 640–644. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.03.054
35. Nowak T., Farber P., Wengler G. Analysis of the terminal sequences of West Nile virus structural proteins and of the in vitro translation of these proteins allow the proposal of a complete scheme of the proteolytic cleavage involved in their synthesis // *Virology*. 1989. Vol. 169. No 2. P. 365–376. doi: 10.1016/0042-6822(89)90162-1
36. Randolph V.B., Winkler G., Stollar V. Acidotropic amines inhibit proteolytic processing of flavivirus prM protein // *Virology*. 1990. Vol. 174. No 2. P. 450–458. doi: 10.1016/0042-6822(90)90099-d
37. Jones C.T., Ma L., Burgner J.W. et al. Flavivirus capsid is a dimeric alpha-helical protein // *J. Virol*. 2003. Vol. 77. No 12. P. 7143–7149. doi: 10.1128/jvi.77.12.7143-7149.2003.
38. Dokland T., Walsh M., Mackenzie J.M. et al. West Nile virus core protein: tetramer structure and ribbon formation // *Structure*. 2004. Vol. 12. No 7. P. 1157–1163. doi: 10.1016/j.str.2004.04.024
39. Ma L., Jones C.T., Groesch T.D. et al. Solution structure of dengue virus capsid protein reveals another fold // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. Vol. 101. No 10. P. 3414–3419. doi: 10.1073/pnas.0305892101
40. Patkar C. G., Jones C.T., Chang Y.H. et al. Functional requirements of the yellow fever virus capsid protein // *J. Virol*. 2007. Vol. 81. No 12. P. 6471–6481. doi: 10.1128/JVI.02120-06
41. Markoff L., Falgout B., Chang A.A. Conserved internal hydrophobic domain mediates the stable membrane integration of the dengue virus capsid protein // *Virology*. 1997. Vol. 233. P. 105–117. doi: 10.1006/viro.1997.8608
42. Yamshchikov V.F., Compans R.W. Regulation of the late events in flavivirus protein processing and maturation // *Virology*. 1993. Vol. 192. P. 38–51. doi: 10.1006/viro.1993.1006



43. *Stocks C.E., Lobigs M.* Signal peptidase cleavage at the flavivirus C-prM junction dependence on the viral NS2b-3 protease for efficient processing requires determinants in C, the signal peptide, and prM // *J. Virol.* 1998. Vol. 72. P. 2141–2149.
44. *Kofler R.M., Heinz F.X., Mandl C.W.* Capsid protein C of tick-borne encephalitis virus tolerates large internal deletions and is a favorable target for attenuation of virulence // *J. Virol.* 2002. Vol. 76, No 7. P. 3534–3543. doi: 10.1128/jvi.76.7.3534–3543.2002
45. *Kofler R. M., Leitner A., O’Riordain G.* et al. Spontaneous mutations restore the viability of tick-borne encephalitis virus mutants with large deletions in protein C // *J. Virol.* 2003. Vol. 77. No 1. P. 443–451. doi: 10.1128/jvi.77.1.443-451.2003
46. *Mandl C.W.* Steps of the tick-borne encephalitis virus replication cycle that affect neuropathogenesis // *Virus Res.* 2005. Vol. 111. No 2. P. 161–174. doi: 10.1016/j.virusres.2005.04.007
47. *Allison S. L., Stadler K., Mandl C.W.* et al. Synthesis and secretion of recombinant tick-borne encephalitis virus protein E in soluble and particulate form // *J. Virol.* 1995. Vol. 69. No 9. P. 5816–5820.
48. *Li L., Lok S.-M., Yu I.-M.* et al. The flavivirus precursor membrane-envelope protein complex: structure and maturation // *Science.* 2008. Vol. 319. No 5871. P. 1830–1834. doi: 10.1126/science.1153263
49. *Nowak T., Wengler G.* Analysis of disulfides present in the membrane proteins of the West Nile flavivirus // *Virology.* 1987. Vol. 156. No 1. P. 333–346. doi: 10.1016/0042-6822(87)90443-0
50. *Wengler G., Wengler G.* Cell-associated West Nile flavivirus is covered with E+prM protein heterodimers which are destroyed and reorganized by proteolytic cleavage during virus release // *J. Virol.* 1989. Vol. 63. No 6. P. 2521–2526.
51. *Heinz F. X., Stiasny K., Puschner-Auer G.* et al. Structural changes and functional control of tick-borne encephalitis virus glycoprotein E by heterogimeric association with protein prM // *Virology.* 1994. Vol. 198. No 1. P. 109–117. doi: 10.1006/viro.1994.1013
52. *Lorenz I. C., Allison S.L., Heinz F.X.* et al. Folding and dimerization of tick-borne encephalitis virus envelope proteins prM and E in the endoplasmic reticulum // *J. Virol.* 2002. Vol. 76. No 11. P. 5480–5491. doi: 10.1128/jvi.76.11.5480-5491.2002
53. *Konishi E., Mason P.W.* Proper maturation of the Japanese encephalitis virus envelope glycoprotein requires cosynthesis with the premembrane protein // *J. Virol.* 1993. Vol. 67, No 3. P. 1672–1675.
54. *Stadler K., Allison S.L., Schalich J.* et al. Proteolytic activation of tick-borne encephalitis virus by furin // *J. Virol.* 1997. Vol. 71. No 11. P. 8475–8481.
55. *Elshuber S., Allison S.L., Heinz F.X.* et al. Cleavage of protein prM is necessary for infection of BHK-21 cells by tick-borne encephalitis virus // *J. Gen. Virol.* 2003. Vol. 84. Pt. 1. P. 183–191. doi: 10.1099/vir.0.18723-0
56. *Mandl C.W., Heinz F.X., Kunz C.* Sequence of the structural proteins of tick-borne encephalitis virus (Western subtype) and comparative analysis with other flaviviruses // *Virology.* 1988. Vol. 166. P. 197–205. doi: 10.1016/0042-6822(88)90161-4
57. *Venigopal K., Gritsun T., Lashkevich V.A.* et al. Analysis of the structural protein gene sequence shows Kyasanur Forest disease virus as a distinct member in the tick-borne encephalitis virus serocomplex // *J. Gen. Virol.* 1994. Vol. 75. No 2. P. 227–232. doi: 10.1099/0022-1317-75-1-227
58. *Guirackhoo F., Radda A.C., Heinz F.X.* et al. Evidence for antigenic stability of tick-borne encephalitis virus by the analysis of natural isolates // *J. Gen. Virology.* 1987. Vol. 68. P. 859–864. doi: 10.1099/0022-1317-68-3-859
59. *Heinz F. X., Mandl C.W.* The molecular biology of tick-borne encephalitis virus. Review article // *APMIS.* 1993. Vol. 101. P. 735–745. doi: 10.1111/j.1699-0463.1993.tb00174.x
60. *Winkler G., Heinz F.X., Kunz C.* Studies on the glycosylation of flavivirus E proteins and the role of carbohydrate in antigenic structure // *Virology.* 1987. Vol. 159. No 2. P. 237–243. doi: 10.1016/0042-6822(87)90460-0
61. *Nowak T., Farber P., Wengler G.* Analysis of the terminal sequences of West Nile virus structural proteins and of the in vitro translation of these proteins allow the proposal of

- a complete scheme of the proteolytic cleavage involved in their synthesis // *Virology*. 1989. Vol. 169. No 2. P. 365–376. doi: 10.1016/0042-6822(89)90162-1
62. Trent D.W., Naeve C.W. Biochemistry and replication. In: *Monath T.*, editor. St. Louis Encephalitis. Washington: Amer. Public. Health. Assoc., 1980. P. 159–199.
63. Ляпустин В.Н., Грищун Т.С., Машкевич В.А. Гликозилированные и негликозилированные белки вируса клещевого энцефалита, синтезирующиеся в перевиваемых клетках почки эмбриона свиньи // Вопросы вирусологии. 1987. Т. 32, № 3. С. 337–342.
64. Guirakhoo F., Heinz F.X., Kunz C. Epitope model of tick-borne encephalitis virus envelope glycoprotein E: Analysis of structural properties, role of carbohydrate side chain and conformational changes occurring at acidic pH // *Virology*. 1989. Vol. 169. No 1. P. 90–99. doi: 10.1016/0042-6822(89)90044-5
65. Vorndam V., Mathews J.H., Barrett A.D.T. Molecular and biological characterization of a non-glycosylated isolate of Saint Louis encephalitis virus // *J. Gen. Virol.* 1993. Vol. 74. P. 2653–2660. doi: 10.1099/0022-1317-74-12-2653
66. Stephenson J.R., Crooks A.J., Lee J.M. The synthesis of immunogenic polypeptides encoded by tick-borne encephalitis virus // *J. Gen. Virol.* 1987. Vol. 68. No 5. P. 1307–1316. doi: 10.1099/0022-1317-68-5-1307
67. Stiasny K., Allison S.L., Marchler-Bauer A. et al. Structural requirements for low-pH-induced rearrangements in the envelope glycoprotein of tick-borne encephalitis virus // *J. Virol.* 1996. Vol. 70. No 11. P. 8142–8147.
68. Протопопова Е.В., Коновалова С.Н., Локтев В.Б. Выделение клеточного рецептора для вируса клещевого энцефалита при помощи антиидиотипических антител // Вопросы вирусологии. 1997. Т. 42, № 6. С. 264–268.
69. Малыгин А.А., Бондаренко Е.И., Иванисенко В.А. и др. Картирование рецепторного домена для вирусов венесуэльского энцефалита лошадей и клещевого энцефалита на С-конце ламининсвязывающего белка человека // *Биохимия*. 2009. Т. 74. Вып. 12. С. 1631–1641.
70. Stiasny K., Bressanelli S., Lepault J. et al. Characterization of a membrane-associated trimeric low-pH-induced Form of the class II viral fusion protein E from tick-borne encephalitis virus and its crystallization // *J. Virol.* 2004. Vol. 78. No 6. P. 3178–3183. doi: 10.1128/jvi.78.6.3178-3183.2004
71. Yu I.-M., Zhang W., Holdaway H.A. et al. Structure of immature dengue virus at low pH primes proteolytic maturation // *Science*. 2008. Vol. 319. No 5871. P. 1834–1837. doi: 10.1126/science.1153264
72. Mandl C.W., Guirakhoo F., Holzmann H. et al. Antigenic structure of the flavivirus envelope protein E at the molecular level, using tick-borne encephalitis virus as a model // *J. Virol.* 1989. Vol. 63. No 2. P. 564–571.
73. Rey F.A., Heinz F.X., Mandl C. et al. The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2A resolution // *Nature*. 1995. Vol. 375. P. 291–298. doi: 10.1038/375291a0
74. Holzmann H., Heinz F.X., Mandl C.W. et al. A single amino acid substitution in envelope protein E of tick-borne encephalitis virus leads to attenuation in the mouse model // *J. Virol.* 1990. Vol. 64. No 10. P. 5156–5159.
75. Holzmann H., Stiasny K., Ecker M. et al. Characterization of monoclonal antibody-escape mutants of tick-borne encephalitis virus with reduced neuroinvasiveness in mice // *J. Gen. Virol.* 1997. Vol. 78. Pt. 1. P. 31–37. doi: 10.1099/0022-1317-78-1-31
76. Labuda M., Jiang W.R., Kaluzova M. et al. Change in phenotype of tick-borne encephalitis virus following passage in *Ixodes ricinus* ticks and associated amino acid substitution in the envelope protein // *Virus Res.* 1994. Vol. 31. No 3. P. 305–315. doi: 10.1016/0168-1702(94)90024-8
77. Mandl C.W., Allison S.L., Holzmann H. et al. Attenuation of tick-borne encephalitis virus by structure-based site-specific mutagenesis of a putative flavivirus receptor binding site // *J. Virol.* 2000. Vol. 74. No 20. P. 9601–9609.
78. Mandl C.W., Kroschewski H., Allison S.L. et al. Adaptation of tick-borne encephalitis virus to BHK-21 cells results in the formation of multiple heparan sulfate binding sites in the envelope protein and attenuation in vivo // *J. Virol.* 2001. Vol. 75. No 12. P. 5627–5637.

79. Goto A., Hayasaka D., Yoshii K. et al. A BHK-21 cell culture-adapted tick-borne encephalitis virus mutant is attenuated for neuroinvasiveness // *Vaccine*. 2003. Vol. 21. No 25–26. P. 4043–4051. doi: 10.1016/s0264-410x(03)00269-x
80. Hayasaka D., Gritsun T.S., Yoshii K. et al. Amino acid changes responsible for attenuation of virus neurovirulence in an infectious cDNA clone of the Oshima strain of tick-borne encephalitis virus // *J. Gen. Virol.* 2004. Vol. 85. Pt. 4. P. 1007–1018. doi: 10.1099/vir.0.19668-0
81. Romanova L.Iu., Gmyl A.P., Dzhivanian T.I. et al. Microevolution of tick-borne encephalitis virus in course of host alternation // *Virology*. 2007. Vol. 362. No 1. P. 75–84. doi: 10.1016/j.virol.2006.12.013
82. Allison S.L., Schlich J., Stiasny K. et al. Mutational evidence for an internal fusion peptide in flavivirus envelope protein E // *J. Virol.* 2001. Vol. 75. No 9. P. 4268–4275. doi: 10.1128/JVI.75.9.4268-4275.2001
83. Seligman S.J. Constancy and diversity in the flavivirus fusion peptide // *Virology J.* 2008. Vol. 5, 27. doi:10.1186/1743–422X-5-27
84. Roehrig J.T., Johnson A.J., Hunt A.R. et al. Antibodies to dengue 2 virus E-glycoprotein synthetic peptides identify antigenic conformation // *Virology*. 1990. Vol. 177. P. 668–675. doi: 10.1016/0042-6822(90)90532-v
85. Ledizet M., Kar K., Foellmer H.G. et al. Antibodies Targeting Linear Determinants of the Envelope Protein Protect Mice against West Nile Virus // *J. Infect. Dis.* 2007. Vol. 196. P. 1741–1748. doi: 10.1086/523654
86. Roehrig J.T., Hunt A.R., Johnson A.J. et al. Synthetic peptides derived from the deduced amino acid sequence of the E-glycoprotein of Murray Valley encephalitis virus elicit antiviral antibody // *Virology*. 1989. Vol. 171. P. 49–60. doi: 10.1016/0042-6822(89)90509-6
87. Pletnev A.G., Bray M., Lai C.J. Chimeric tick-borne encephalitis and dengue type 4 viruses: effects of mutations on neurovirulence in mice // *J. Virol.* 1993. V. 67. P. 4956–4963.
88. Trainor N.B., Crill W.D., Roberson J.A. et al. Mutation analysis of the fusion domain region of St. Louis encephalitis virus envelope protein // *Virology*. 2007. Vol. 360. P. 398–406. doi: 10.1016/j.virol.2006.10.033
89. Zhang S., Li L., Woodson S.E. et al. A mutation in the envelope protein fusion loop attenuates mouse neuroinvasiveness of the NY99 strain of West Nile virus // *Virology*. 2006. Vol. 353. P. 35–40. doi: 10.1016/j.virol.2006.05.025
90. Heinz F.X., Stiasny K. The molecular and antigenic structure of TBEV. Chapter 2b. In: *Dobler G., Erber W., Bröker M.* et al., editors. *The TBE Book*. 2nd ed. Singapore: Global Health Press, 2019. doi: 10.33442/978-981-14-0914-1-2b
91. Tsekhanovskaya N.A., Matveev L.E., Rubin S.G. et al. Epitope analysis of tick-borne encephalitis (TBE) complex viruses using monoclonal antibodies to envelope glycoprotein of TBE virus (persulcatus subtype) // *Virus Res.* 1993. Vol. 30. P. 1–16. doi: 10.1016/0168-1702(93)90011-b
92. Brinton M.A., Kurane I., Mathew A. et al. Immune mediated and inherited defences against flaviviruses // *Clin. Diagn. Virol.* 1998. Vol. 10. No 2–3. P. 129–139. doi: 10.1016/s0928-0197(98)00039-7
93. Волкова Т.Д., Вольпина О.М., Иванова В.Т. и др. Изучение антигенной структуры вируса клещевого энцефалита с помощью синтетических пептидов // *Биоорганическая химия*. 1998. Т. 24, № 2. С. 100–111.
94. Falgout B., Chanock R., Lai C.J. Proper processing of dengue virus nonstructural glycoprotein NS1 requires the N-terminal hydrophobic signal sequence and the downstream nonstructural protein NS2a // *J. Virol.* 1989. Vol. 63. No 5. P. 1852–1860.
95. Pryor M.J., Wright P.J. Glycosylation mutants of dengue virus NS1 protein // *J. Gen. Virol.* 1994. Vol. 75. Pt. 5. P. 1183–1187. doi: 10.1099/0022-1317-75-5-1183
96. Pryor M.J., Wright P.J. The effects of site-directed mutagenesis on the dimerization and secretion of the NS1 protein specified by dengue virus // *Virology*. 1993. Vol. 194. No 2. P. 769–780.
97. Muylaert I.R., Chambers T.J., Galler R. et al. Mutagenesis of the N-linked glycosylation sites of the yellow fever virus NS1 protein: effects on virus replication and mouse neurovirulence // *Virology*. 1996. Vol. 222. No 1. P. 159–168. doi: 10.1006/viro.1996.0406

98. Wallis T.P., Huang C.Y., Nimkar S.B. et al. Determination of the Disulfide Bond Arrangement of Dengue Virus NS1 Protein // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. No 20. P. 20729–20741. doi: 10.1074/jbc.M312907200
99. Winkler G., Maxwell S.E., Ruemmler Ch. et al. Newly synthesized Dengue-2 virus nonstructural protein NS1 is a soluble protein but becomes partially hydrophobic and membrane-associated after dimerization // *Virology.* 1989. Vol. 171. No 1. P. 302–305. doi: 10.1016/0042-6822(89)90544-8.
100. Mackenzie J.M., Jones M.K., Young P.R. Immunolocalization of the Dengue virus nonstructural glycoprotein NS1 suggests a role in viral RNA replication // *Virology.* 1996. Vol. 220. No 1. P. 232–240.
101. Schlesinger J.J., Brandriss M.W., Putnak J.R. et al. Cell surface expression of yellow fever virus non-structural glycoprotein NS1: consequences of interaction with antibody // *J. Gen. Virol.* 1990. Vol. 71. Pt. 3. P. 593–599.
102. Lee J.M., Crooks A.G., Stefenson J.R. The synthesis and maturation of a nonstructural extracellular antigen from TBEV and its relationship to the intracellular NS1 protein // *J. Gen. Virol.* 1989. Vol. 70. No 2. P. 335–343.
103. Crooks A.J., Lee J.M., Easterbrook L.M. et al. The NS1 protein of tick-borne encephalitis virus forms multimeric species upon secretion from the host cell // *J. Gen. Virol.* 1994. Vol. 75. No 5. P. 3453–3460. doi: 10.1099/0022-1317-75-12-3453
104. Muylaert I.R., Chambers T.J., Galler R. et al. Mutagenesis of the N-linked glycosylation sites of the yellow fever virus NS1 protein: effects on virus replication and mouse neurovirulence // *Virology.* 1996. Vol. 222. No 1. P. 159–168. doi: 10.1006/viro.1996.0406
105. Muylaert I.R., Galler R., Rice C.M. Genetic analysis of the yellow fever virus NS1 protein: identification of a temperature-sensitive mutation which blocks RNA accumulation // *J. Virol.* 1997. Vol. 71. No 1. P. 291–298.
106. Lindenbach B.D., Rice C.M. Trans-Complementation of yellow fever virus NS1 reveals a role in early RNA replication // *J. Virol.* 1997. Vol. 71. No 12. P. 9608–9617.
107. Lindenbach B.D., Rice C.M. Genetic interaction of flavivirus nonstructural proteins NS1 and NS4A as a determinant of replicase function // *J. Virol.* 1999. Vol. 73. No 6. P. 4611–4621.
108. Mackenzie J.M., Jones M.K., Young P.R. Immunolocalization of the Dengue virus nonstructural glycoprotein NS1 suggests a role in viral RNA replication // *Virology.* 1996. Vol. 220. No 1. P. 232–240. doi: 10.1006/viro.1996.0307
109. Westaway E.O., Mackenzie J.M., Kenney M.T. et al. Ultrastructure of Kunjin virus-infected cells: colocalization of NS1 and NS3 with double-stranded RNA, and of NS2B with NS3, in virus-induced membrane structures // *J. Virol.* 1997. Vol. 71. No 9. P. 6650–6661.
110. Blitvich B. J., Mackenzie J.S., Coelen R.J. et al. A novel complex formed between the flavivirus E and NS1 proteins: analysis of its structure and function // *Arch. Virol.* 1995. Vol. 140. No 5. P. 145–156. doi: 10.1007/bf01309729
111. Pressman E.K. Heterocomplexes of TBEV structural and non-structural proteins // *FEBS Letters.* 1993. Vol. 333. No 3. P. 268–270. doi: 10.1016/0014-5793(93)80667-j
112. Patarapotikul J., Pothipunya S., Wanotayan R. et al. Western blot analysis of antigens specifically recognized by natural immune responses of patients with Japanese encephalitis infections // *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 1993. Vol. 24. No 2. P. 269–276.
113. Schlesinger J. J., Brandriss M.W., Cropp C.B. et al. Protection against yellow fever in monkeys by immunization with yellow fever virus nonstructural protein NS1 // *J. Virol.* 1986. Vol. 60. No 3. P. 1153–1155.
114. Falgout B., Bray M., Schlesinger J.J. et al. Immunization of mice with recombinant vaccinia virus expressing authentic dengue virus nonstructural protein NS1 protects against lethal dengue virus encephalitis // *J. Virol.* 1990. Vol. 64. No 9. P. 4356–4363.
115. Jacobs S.C., Stephenson J.R., Wilkinson W.G. Protection elicited by a replication-defective adenovirus vector expressing the tick-borne encephalitis virus non-structural glycoprotein NS1 // *J. Gen. Virol.* 1994. Vol. 75. P. 2399–2402. doi: 10.1099/0022-1317-75-9-2399
116. Lin Y.L., Chen L.K., Liao C.L. et al. DNA immunization with Japanese encephalitis virus nonstructural protein NS1 elicits protective immunity in mice // *J. Virol.* 1998. Vol. 72. No 1. P. 191–200.



117. *Timofeev A.V., Butenko V.M., Stephenson J.R.* Genetic vaccination of mice with plasmids encoding the NS1 non-structural protein from tick-borne encephalitis virus and dengue 2 virus // *Virus Genes*. 2004. Vol. 28. No 1. P. 85–97. doi: 10.1023/B: VIRU.0000012266.04871.ce
118. *Kümmerer B.M., Rice C.M.* Mutations in the Yellow Fever Virus Nonstructural Protein NS2A Selectively Block Production of Infectious Particles // *J. Virol.* 2002. Vol. 76. No 10. P. 4773–4784. doi: 10.1128/jvi.76.10.4773-4784.2002
119. *Liu W. J., Chen H.B., Khromykh A.A.* Molecular and functional analyses of Kunjin virus infectious cDNA clones demonstrate the essential roles for NS2A in virus assembly and for a nonconservative residue in NS3 in RNA replication // *J. Virol.* 2003. Vol. 77. No 14. P. 7804–7813. doi: 10.1128/jvi.77.14.7804-7813.2003
120. *Leung J. Y., Pijlman G.P., Kondratieva N.* et al. Role of nonstructural protein NS2A in flavivirus assembly // *J. Virol.* 2008. Vol. 82. No 10. P. 4731–4741. doi: 10.1128/JVI.00002-08
121. *Mackenzie J. M., Khromykh A.A., Jones M.K.* et al. Subcellular localization and some biochemical properties of the flavivirus Kunjin nonstructural proteins NS2A and NS4A // *Virology*. 1998. Vol. 245. No 2. P. 203–215. doi: 10.1006/viro.1998.9156
122. *Muñoz-Jordan J.L., Laurent-Rolle M., Ashour J.* et al. Inhibition of Alpha/Beta interferon signaling by the NS4B protein of flaviviruses // *J. Virol.* 2005. Vol. 79. No 13. P. 8004–8013. doi: 10.1128/JVI.79.13.8004-8013.2005
123. *Liu W. J., Chen H.B., Wang X.J.* et al. Analysis of adaptive mutations in Kunjin virus replicon RNA reveals a novel role for the flavivirus nonstructural protein NS2A in inhibition of beta interferon promoter-driven transcription // *J. Virol.* 2004. Vol. 78. No 22. P. 12225–12235. doi: 10.1128/JVI.78.22.12225-12235.2004
124. *Liu W. J., Wang X.J., Clark D.C.* et al. A single amino acid substitution in the West Nile virus nonstructural protein NS2A disables its ability to inhibit alpha/beta interferon induction and attenuates virus virulence in mice // *J. Virol.* 2006. Vol. 80. No 5. P. 2396–2404. doi: 10.1128/JVI.80.5.2396-2404.2006
125. *Falgout B., Pethel M., Zhang Y.M.* et al. Both nonstructural proteins NS2B and NS3 are required for the proteolytic processing of Dengue virus nonstructural proteins // *J. Virol.* 1991. Vol. 65. No 5. P. 2467–2475.
126. *Chambers T.J., Nestorowicz A., Amberg S.M.* et al. Mutagenesis of the yellow fever virus NS2B protein: effects on proteolytic processing, NS2B-NS3 complex formation, and viral replication // *J. Virol.* 1993. Vol. 67. No 11. P. 6797–6807.
127. *Miller S., Kastner S., Krijnse-Locker J.* et al. The nonstructural protein 4A of dengue virus is an integral membrane protein inducing membrane alterations in a 2K-regulated manner // *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282. No 12. P. 8873–8882. doi: 10.1074/jbc.M609919200
128. *Ambrose R.L., Mackenzie J.M.* A Conserved Peptide in West Nile Virus NS4A Protein Contributes to Proteolytic Processing and Is Essential for Replication // *J. Virol.* 2011. Vol. 85. No 21. P. 11274–11282. doi: 10.1128/JVI.05864-11
129. *Lin C., Amberg S.M., Chambers T.J.* et al. Cleavage at a novel site in the NS4A region by the Yellow Fever virus NS2B-3 proteinase is a prerequisite for processing at the downstream 4A/4B signalase site // *J. Virol.* 1993. Vol. 67. No 4. P. 2327–2335.
130. *Miller S., Sparacio S., Bartenschlager R.* Subcellular localization and membrane topology of the dengue virus type 2 nonstructural protein 4B // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281. No 13. P. 8854–8863. doi: 10.1074/jbc.M512697200
131. *Lundin M., Monne M., Widell A.* et al. Topology of the membrane-associated hepatitis C virus protein NS4B // *J. Virol.* 2003. Vol. 77. P. 5428–5438. doi: 10.1128/jvi.77.9.5428-5438.2003
132. *Umareddy I., Chao A., Sampath A.* et al. Dengue virus NS4B interacts with NS3 and dissociates it from single-stranded RNA // *J. Gen. Virol.* 2006. Vol. 87. Pt. 9. P. 2605–2614. doi: 10.1099/vir.0.81844-0
133. *Wengler G., Wengler G.* The NS3 nonstructural protein of flaviviruses contains an RNA triphosphatase activity // *Virology*. 1993. Vol. 197. P. 265–273.
134. *Raviprakash K., Sinha M., Hayes C.G.* et al. Conversion of dengue virus replicative form RNA (RF) to replicative intermediate (RI) by nonstructural proteins NS-5 and NS-3 // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998. Vol. 58. No 1. P. 90–95. doi: 10.4269/ajtmh.1998.58.90

135. *Amberg S.M., Nestorowicz A., McCourt D.W.* et al. NS2B-3 proteinase-mediated processing in the yellow fever virus structural region: *in vitro* and *in vivo* studies // *J. Virol.* 1994. Vol. 68. No 6. P. 3794–3802.
136. *Chambers T. J., Nestorowicz A., Rice C.M.* Mutagenesis of the Yellow Fever virus NS2B/3 cleavage site: determinants of cleavage site specificity and effects on polyprotein processing and viral replication // *J. Virol.* 1995. Vol. 69. No 3. P. 1600–1605.
137. *Wu J., Bera K., Kuhn R.J.* et al. Structure of the flavivirus helicase: implications for catalytic activity, protein interactions, and proteolytic processing // *J. Virol.* 2005. Vol. 79. P. 10268–10277. doi: 10.1128/JVI.79.16.10268-10277.2005
138. *Gritsun T.S., Desai A., Gould E.A.* The degree of attenuation of tick-borne encephalitis virus depends on the cumulative effects of point mutations // *J. Gen. Virol.* 2001. Vol. 82. Pt. 7. P. 1667–1675. doi: 10.1099/0022-1317-82-7-1667
139. *O'Reilly E. K., Kao C.C.* Analysis of RNA-dependent RNA polymerase structure and function as guided by known polymerase structures and computer predictions of secondary structure // *Virology.* 1998. Vol. 252. No 2. P. 287–303.
140. *Ferrer-Orta C., Arias A., Escarmis C.* et al. A comparison of viral RNA-dependent RNA polymerases // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2006. Vol. 16. P. 27–34. doi: 10.1016/j.sbi.2005.12.002.
141. *Malet H., Egloff M.-P., Selisko B.* et al. Crystal Structure of the RNA Polymerase Domain of the West Nile Virus Non-structural Protein 5 // *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282. No 14. P. 10678–10689. doi: 10.1074/jbc.M607273200
142. *Морозова О.В.* Состав и функции белков репликативного комплекса вируса клещевого энцефалита: Дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 1991.
143. *Kao C.C., Singh P., Ecker D.J.* De novo initiation of viral RNA-dependent RNA synthesis // *Virology.* 2001. Vol. 287. No 2. P. 251–260. doi: 10.1006/viro.2001.1039
144. *Selisko B., Dutartre H., Guillemot J.C.* et al. Comparative mechanistic studies of de novo RNA synthesis by flavivirus RNA-dependent RNA polymerases // *Virology.* 2006. Vol. 351. No 1. P. 145–158. doi: 10.1016/j.virol.2006.03.026
145. *Chen C.J., Kuo M.D., Chien L.J.* et al. RNA-protein interactions: involvement of NS3, NS5, and 3' noncoding regions of Japanese encephalitis virus genomic RNA // *J. Virol.* 1997. Vol. 71. No 5. P. 3466–3473.
146. *De Nova-Ocampo M., Villegas-Sepulveda N., del Angel R.M.* Translation elongation factor-1alpha, La, and PTB interact with the 3' untranslated region of dengue 4 virus RNA // *Virology.* 2002. Vol. 295. No 2. P. 337–347. doi: 10.1006/viro.2002.1407
147. *Best S.M., Morris K.L., Shannon J.G.* et al. Inhibition of interferon-stimulated JAK-STAT signaling by a tick-borne flavivirus and identification of NS5 as an interferon antagonist // *J. Virol.* 2005. Vol. 79. No 20. P. 12828–12839.
148. *Lin R.J., Chang B.L., Yu H.P.* et al. Blocking of interferon-induced jak-stat signaling by Japanese encephalitis virus NS5 through a protein tyrosine phosphatase-mediated mechanism // *J. Virol.* 2006. Vol. 80. No 12. P. 5908–5918.
149. *Werme K., Wigerius M., Johansson M.* Tick-borne encephalitis Virus NS5 associates with membrane protein scribble and impairs interferon-stimulated JAK-STAT signaling // *Cell. Microbiol.* 2008. Vol. 10. No 3. P. 696–712.
150. *Zou G., Puig-Basagoiti F., Zhang B.* et al. A single-amino acid substitution in West Nile virus 2K peptide between NS4A and NS4B confers resistance to lycorine, a flavivirus inhibitor // *Virology.* 2009. Vol. 384. No 1. P. 242–252. doi: 10.1016/j.virol.2008.11.003
151. *Mertens E., Kajaste-Rudnitski A., Torres S.* et al. Viral determinants in the NS3 helicase and 2K peptide that promote West Nile virus resistance to antiviral action of 2',5'-oligoadenylate synthetase 1b // *Virology.* 2010. Vol. 399. No 1. P. 176–185. doi: 10.1016/j.virol.2009.12.036
152. *Kelley J.F., Kaufusi P.H., Volper E.M.* et al. Maturation of dengue virus nonstructural protein 4B in monocytes enhances production of dengue hemorrhagic fever-associated chemokines and cytokines // *Virology.* 2011. Vol. 418. No 1. P. 27–39. doi: 10.1016/j.virol.2011.07.006
153. *Zou G., Zhang B., Lim P.-Y.* et al. Exclusion of West Nile Virus Superinfection through RNA Replication // *J. Virol.* 2009. Vol. 83. No 22. P. 11765–11776. doi: 10.1128/JVI.01205-09
154. *Tkachev S.E., Chicherina G.S., Golovljova I.* et al. New genetic lineage within the Siberian subtype of tick-borne encephalitis virus found in Western Siberia, Russia // *Infect. Genet. Evol.* 2017. Vol. 56. P. 36–43. doi: 10.1016/j.meegid.2017.10.020

Научное издание

## **Клещевой энцефалит в XXI веке**

Редактор *Е.Ю. Федорова*  
Художник *П.Э. Палей*  
Корректоры *А.Ю. Обод, С.О. Розанова*

Подписано к печати 15.04.2021. Формат 70×100<sup>1</sup>/<sub>16</sub>  
Гарнитура Ньютон. Печать офсетная  
Усл.печ.л. 38,4. Уч.-изд.л. 37,5  
Тип. зак.

ФГУП Издательство «Наука»  
117997, Москва, Профсоюзная ул., 90  
E-mail: [info@naukaran.com](mailto:info@naukaran.com)  
<https://naukapublishers.ru>  
<https://naukabooks.ru>

ФГУП Издательство «Наука»  
(Типография «Наука»)  
121099, Москва, Шубинский пер., 6