



УДК 575+578+51–76

## Верификация метода мультилокусного зондирования геномов вируса клещевого энцефалита для определения генетических расстояний с помощью компьютерного моделирования

Ю. С. Букин<sup>1</sup>, Ю. П. Джигоев<sup>2</sup>, А. И. Парамонов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Лимнологический институт СО РАН, Иркутск

<sup>2</sup> Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН, Иркутск

E-mail: [bukinyura@mail.ru](mailto:bukinyura@mail.ru)

**Аннотация.** Мультилокусное гибридизационное зондирование в биочиповом исполнении в последнее десятилетие стало использоваться для генодиагностики возбудителей многих вирусных инфекций. В данной работе предлагается мера генетических дистанций, рассчитываемая на основе результатов мультилокусного генетического зондирования. С помощью методов компьютерного моделирования показаны границы применимости гибридизационных тестов при оценке генетических расстояний. Установлено, что на некотором временном участке независимого существования двух штаммов вирусов генетическая дистанция, оценённая с помощью гибридизационного теста, возрастает по линейному закону. Показано, что для получения адекватного результата в гибридизационном тесте необходимо использовать не менее 25 зондов. Обсуждается возможность применения разработанной меры генетических расстояний в популяционных, эволюционных и эпидемиологических исследованиях разных вирусов.

**Ключевые слова:** вирусы, штаммы, олигонуклеотидные зонды, гибридизационные тесты, генетические расстояния, компьютерное моделирование.

### Введение

Данные молекулярно-генетических анализов широко используются при изучении различных процессов, происходящих в вирусных популяциях. При проведении эволюционных и популяционных исследований штаммы вируса сравниваются между собой с помощью различных генетических характеристик. К подобным генетическим характеристикам вирусов можно отнести последовательности аминокислотных остатков в белках вирусных частиц, первичные расшифрованные последовательности ДНК или РНК некоторых генов или полных геномов вирусов [18; 21], электрофоретическую подвижность вирусных нуклеотидных последовательностей [20]. При сравнении штаммов по этим показателям между собой можно получить меру, которая будет в численной форме выражать количество генетических отличий между исследуемыми штаммами. В последнее время получили распространение методы, позволяющие обнаруживать несовпадающие позиции в нуклеотидных последовательностях вирусов [11]. Эта информация непосредственно используется для численного описания степени родства между штаммами.

Все современные молекулярно-генетические методы в конечном варианте дают информацию, позволяющую реконструировать филогению вирусов, с этой целью созданы компьютерные программные технологии, основанные на теории генетического дрейфа и гипотезе молекулярных часов [5; 16–18; 21]. С момента отделения от общего предка любые два штамма вируса, независимо существующие во времени, будут накапливать нуклеотидные замены в результате мутаций. Чем больше времени прошло с момента дивергенции штаммов от общего предка, тем больше будет наблюдаться несовпадающих позиций в последовательностях. Результаты исследования аминокислотных различий в белках, данные SNP (single nucleotide polymorphisms, однонуклеотидные полиморфизмы) анализа и электрофоретической подвижности ДНК и РНК будут коррелировать с долей нуклеотидных замен в геномах вирусов.

Основной проблемой, которая возникает при использовании того или иного современного метода оценки генетических дистанций, является достаточная трудоёмкость и высокая стоимость исследований. Несмотря на быстрое развитие методов секвенирования ДНК и РНК, использование их результатов при популяци-

онном анализе больших выборок штаммов вирусов представляет достаточно затратное по времени и средствам исследование. С другой стороны, при популяционном анализе точность метода прямого секвенирования ДНК для определения генетических расстояний является избыточной. Недостатки методов с меньшей разрешающей способностью могут компенсироваться анализом большого количества штаммов вирусов.

В последнее десятилетие в связи с накоплением базы данных о первичных последовательностях ДНК и РНК полных геномов вирусов большое значение приобретает генодиагностика многих вирусов с помощью олигонуклеотидных зондов (так называемые биочиповые технологии) [2; 6; 10; 13]. Данная методика легко осуществима, обладает достаточной простотой, высокой специфичностью и надёжностью. Часто для анализа используется большое количество зондов, комплементарных различным участкам вирусного генома – так называемое мультилокусное генетическое зондирование [2–4; 12; 13; 15]. Гибридизационные тесты стали применять для определения генетической вариабельности в достаточно больших популяционных выборках штаммов вируса. Например, в работах по исследованию генетической вариабельности вируса клещевого энцефалита применялся 41 олигонуклеотидный зонд, а размер выборки составлял 273 штамма вируса клещевого энцефалита [2–4; 15].

В данной работе предлагается математический подход для определения меры генетического расстояния между штаммами, основанный на сравнении результатов мультилокусной гибридизации с панелью генотипспецифичных олигозондов, комплементарных участкам полных геномов штаммов вируса клещевого энцефалита [3; 4]. Предпосылкой для создания данной меры генетических расстояний является то, что результаты гибридизационного теста напрямую связаны с первичной геномной последовательностью вирусной ДНК или РНК. Чем больше различий имеется в геномах сравниваемых штаммов вирусов, тем больше должны различаться для них результаты мультилокусного зондирования. Преимуществом предлагаемой методики оценки генетических расстояний будет то, что она наследует простоту, малую времязатратность, специфичность, высокую достоверность результатов и доступность синтезирования любого набора олигонуклеотидных зондов. Далее в работе генетическую дистанцию, оцененную на основе результатов мультилокусного зондирования, мы

будем называть зондовой мерой генетических расстояний (ЗМГР) или дистанций.

Целью данной работы является описание и теоретическое обоснование возможностей применения ЗМГР между штаммами вирусов для популяционных, эволюционных, эпидемиологических и других исследований. Применяется универсальный метод компьютерного моделирования популяционных процессов, с помощью которого исследуются закономерности накопления различий по ЗМГР между штаммами вирусов. Предлагаемый подход может быть использован не только при исследовании вирусов, но и при генетическом анализе других групп быстро эволюционирующих организмов.

### *Материалы и методы*

Предположим, что каждый штамм вируса подвергнулся гибридизации с несколькими зондами, специфичными различным участкам вирусной РНК. Для каждого зонда гибридизация заканчивается либо связыванием (положительный исход гибридизации) с нуклеотидной последовательностью, либо отсутствием такового (отрицательный исход гибридизации). В подобном эксперименте может использоваться различное количество зондов, которое мы обозначим  $k$ , индекс конкретного зонда обозначим  $j$ . Генетический признак вируса  $x$  при этом будет вектором с размерностью  $k$ . Каждая размерность может находиться в двух состояниях: 0 (если  $j$ -тый зонд не связался с вирусной РНК или ДНК) и 1 (если  $j$ -й зонд связался с вирусной РНК или ДНК). Если всего проанализировано  $n$  штаммов вируса, то для  $i$ -го штамма будет составлена генетическая характеристика, представляющая собой вектор следующего вида:  $x_i(0_1, 1_2, 0_3, 1_4, \dots, 1_k)$ . Общая схема гибридизационного эксперимента и составления характеристики штаммов вируса приведена на рис. 1.

Используя генетическую характеристику  $x_i$ , можно определить различие между двумя штаммами. Для  $i$  и  $j$  штамма необходимо сравнить попарно все позиции в векторах – характеристиках вирусов  $x_i$  и  $x_j$ , т. е. первую позицию с первой, вторую со второй, третью с третьей и т. д. Затем необходимо подсчитать количество несовпадающих позиций или координат  $N_g$  в векторах, характеризующих рассматриваемые штаммы вирусов. Если рассматриваемая координата в векторах совпадает, это определяет сходство между штаммами: зонд либо гибридизовался, либо не гибридизовался

с обеими нуклеотидными последовательностями. В случае если координата в векторах не совпадает, это показывает различие между штаммами вируса: зонд гибридизовался только с одним из штаммов. Мера различия (генетическая дистанция) между двумя штаммами вируса  $P_{ij}$  будет определяться следующим образом:

$$P_{ij} = \frac{N_g}{k}, \quad (1)$$

здесь  $N_g$  – количество несовпадающих позиций (координат) в векторах  $x_i$  и  $x_j$ ,  $k$  – количество используемых зондов или координат в векторе – генетической характеристике штамма вируса. Величина  $P_{ij}$  может меняться в пределах от 0 до 1. Чем ближе  $P_{ij}$  к нулю, тем более генетически сходны рассматриваемые штаммы вируса и наоборот, чем ближе  $P_{ij}$  к 1, тем менее похожи штаммы вируса.

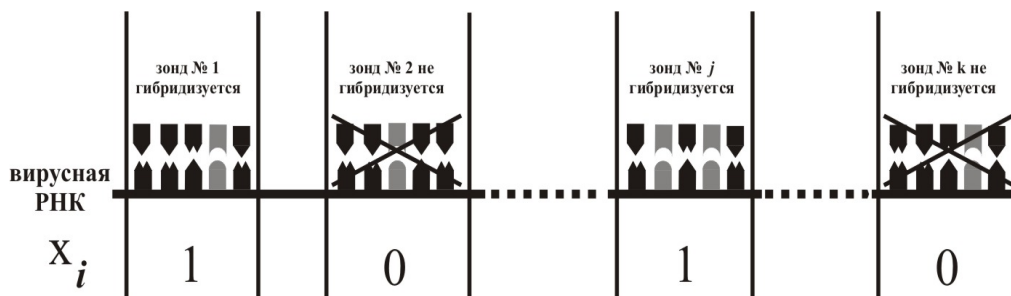


Рис 1. Схема мультилокусного гибридного теста для вируса, в нижней части рисунка приведены значения для компонент (координат) вектора  $x_i$ . Различными геометрическими фигурами показаны основания РНК или ДНК

Для того чтобы доказать применимость подобной методики для оценки генетических расстояний между штаммами, необходимо показать, что в популяции вируса происходит постепенное нарастание средней генетической дистанции штаммов от первоначального генотипа. То есть  $P_{ij}$  является возрастающей функцией времени для двух независимо существующих штаммов вируса. Для доказательства этого можно применить компьютерную модель, описывающую популяцию вирусов, передающих свои нуклеотидные последовательности из поколения в поколение с определённой вероятностью мутации. В подобной модели можно подтвердить или опровергнуть предположение об увеличении ЗМГР с течением времени.

Предположим, что мы располагаем некоторой группой вирусов, содержащих нуклеотидные последовательности ДНК или РНК определённой длины. Общее число вирусов в группе будет  $N$ . При размножении вирусы передают свою нуклеотидную последовательность потомству с вероятностными мутациями, которые в модели являются постоянной величиной. Каждый штамм вируса в модели даёт определённое количество потомков  $a$ . Общее количество потомков составит  $aN$ . Из всего количества вновь образовавшихся штаммов к следующему репродуктивному циклу переходят только  $N$  случайных штаммов из числа вновь появившихся. В данной модели мы имеем последова-

тельность репродуктивных циклов, состоящих из воспроизведённого вирусного потомства и случайным выбором определённого фиксированного количества «индивидуумов» для следующего поколения. Таким образом, мы имитируем репродуктивные процессы в популяциях вирусов, в которых происходит генетический дрейф с накоплением замен в последовательностях ДНК или РНК.

При передаче нуклеотидной последовательности от родителя к потомку с вероятностью  $W$  может происходить мутация. Мутация при этом есть замена буквы в произвольной позиции в последовательности на одну из четырёх случайных букв генетического кода. Согласно закону дрейфа генов доказано, что в процессе длительного накопления нуклеотидных замен в популяциях ведущую роль будет играть вероятность мутации  $W$ , размер же популяции  $N$  будет играть второстепенную роль [5; 8; 16; 17].

В предлагаемой модели все первоначальные нуклеотидные последовательности вирусов были одинаковыми, данная общая последовательность являлась первоначальным или предковым генотипом. Общая длина последовательности составляла 1000 букв генетического кода. Количество штаммов вирусов  $N = 1000$  экземпляров, скорость размножения  $a = 3$ , вероятность мутации  $W = 0,01$ . Для создания гибридных зондов мы использовали

первоначальный генотип. Если в модели проводится гибридизационный тест с числом зондов, равным  $k$ , то из первоначальной последовательности мы запоминали  $k$  участков длиной в 25 нуклеотидов, расположенных на одинаковом расстоянии равномерно по всей длине последовательности (см. рис. 1). Проводя такой гибридизационный тест, мы сможем определять генетическое расстояние между вирусами в модели от начального генотипа и проследить динамику накопления генетических отличий от поколения к поколению. Длина зонда в модели выбиралась в соответствии с опубликованной информацией [2; 4; 6; 13]. Алгоритм модели, в том числе вычисления гибридизационных дистанций, были реализованы на языке программирования C++ в свободно распространяемой среде программирования DevC++ v. 4.9.9. Более подробную информацию о моделях накопления замен в генетических последовательностях можно найти в наших предыдущих публикациях [9; 14; 19].

### Результаты и обсуждение

Для того чтобы оценить динамику накопления генетических дистанций, определённых с помощью ЗМГР, проводился численный модельный эксперимент со следующими параметрами: число зондов  $k = 30$ , продолжительность существования популяции вирусов 20 тыс. поколений. Каждые 100 поколений для вирусов модели определялись среднее значение ЗМГР и средняя доля замен в последовательности от начального генотипа. В результате было установлено (рис. 2), что генетическая дистанция, определённая с помощью зондов в модели, постепенно увеличивалась до значений, близких к единице, параллельно росла и доля замен в нуклеотидных последовательностях. Анализируя рис. 2, можно сделать вывод, что ЗМГР возрастает практически линейно только до определённого предела, что соответствует определённой доле замен в последовательности ДНК или РНК вируса. Для того чтобы оценить предел линейного возрастания ЗМГР, по описанной выше схеме были проведены 60 численных модельных экспериментов.

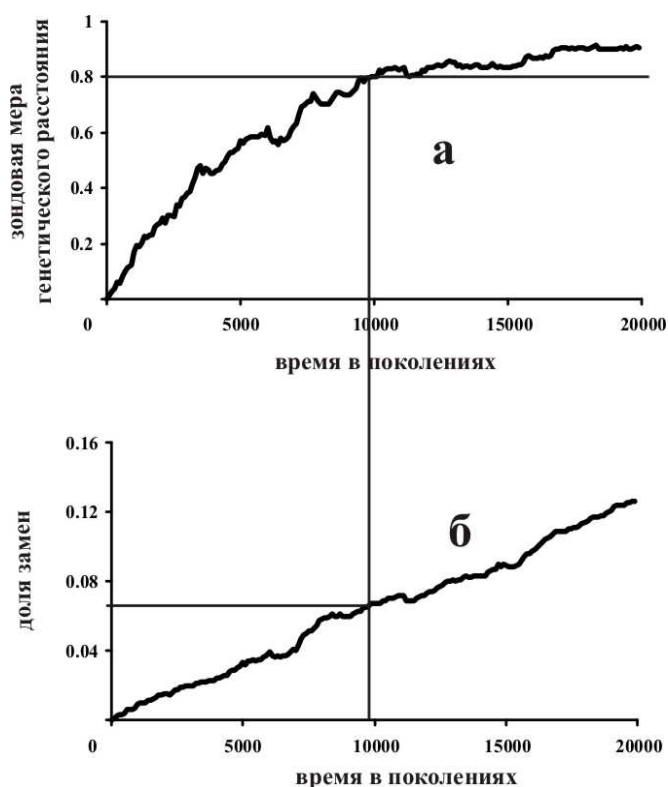


Рис. 2. Динамика накопления среднего количества генетических отличий от предкового генотипа, оценённая с помощью зондовой меры генетических дистанций (ЗМГР) (а) и по доле замен в последовательности нуклеотидов (б). Линейный рост ЗМГР наблюдался до значения порядка 0,8, что для данного численного эксперимента приблизительно соответствует доле накопленных замен в 0,07 на графике а

В результате оказалось, что линейный рост ЗМГР наблюдается до значения 0,8. Среднее значение доли замен, накопленное нуклеотидной последовательностью от общего генотипа, при этом составило 0,06. При длине зонда в 25 нуклеотидов и доле замен в последовательности, равной 0,06, на один зонд будет приходиться в среднем 1,5 замены. Адекватная оценка генетических дистанций с помощью зондовой меры возможна в том случае, если расстояние между двумя штаммами вируса не превышает 0,8. На участке от 0 до 0,8 ЗМГР увеличивается прямо пропорционально времени, прошедшему с момента независимого существования двух исследуемых штаммов.

Следует подчеркнуть, что вышеуказанный результат делает главным фактором применимости ЗМГР долю замен или долю не совпадающих нуклеотидов в последовательностях вирусов. Параметр «вероятность мутации» как в модели, так и в реальной популяции будет определять долю замен, накапливающихся от общего предка, в единицу времени. Иными словами, если для какого-либо вируса вероятность мутации больше, то временной промежуток в количестве поколений, в течение которого работоспособна ЗМГР, будет меньше и наоборот.

Следующей важной проблемой, которая решалась в ходе исследования, была адекватность оценки генетических дистанций и количество зондов, используемых в гибридизационном тесте. Для этого проводили следующий вычислительный эксперимент: в разных модельных опытах для гибридизационного теста использовалось разное количество зондов, менявшееся от 5 до 35 включительно с шагом в 5. С каждым выбранным значением количества зондов проводили 60 численных экспериментов. Каждый эксперимент проводился до тех пор, пока ЗМГР не выходила на уровень насыщения, т. е. не достигала значения 0,8.

Через каждые сто поколений в модели мы проводили гибридизационный тест для определения ЗМГР и оценивали среднее количество замен, накопленных штаммами вирусной популяции от начального генотипа. В полученных итоговых результатах для каждого численного эксперимента мы оценивали корреляцию между долей замен в вирусной ДНК или РНК и соответствующих этим долям замен ЗМГР. Зависимости ЗМГР от доли замен в последовательности представлены на рис. 3. В результате было установлено, что при увеличении количества зондов выраженность линей-

ной связи между долей замен и ЗМГР возрастала, приближаясь к прямой линии.

Как уже отмечалось выше, для каждого выбранного количества зондов проводились 60 численных испытаний. В каждом из них мы подсчитывали коэффициент линейной корреляции [7] между долей замен и ЗМГР. В результате среднее значение коэффициента корреляции для 5 зондов составило 0,908, а для 35 – 0,974 (рис. 4). Анализируя график, можно сделать вывод, что по мере увеличения количества используемых зондов подсчитываемый коэффициент корреляции возрастает лишь до определенного предела, примерно равного 0,97. При количестве зондов в 25 и более коэффициент корреляции между ЗМГР и долей замен в последовательностях перестаёт расти и выходит на уровень насыщения. Это говорит о том, что применение ЗМГР оказывается корректным, если для гибридизационного теста используются не менее 25 зондов. Это подтверждают и изменения среднеквадратичного отклонения от среднего значения подсчитанного коэффициента корреляции при разном числе зондов (см. рис. 4), которое при количестве зондов 25 и более также выходит на уровень насыщения.

Подводя итог, можно утверждать, что ЗМГР даёт адекватные оценки генетическим дистанциям между двумя штаммами вирусов, если её значение не превышает допустимого порога в 0,8. В этих условиях для получения более точного результата необходимо использовать 25 и более гибридизационных зондов.

Следует заметить, что все производимые вычисления относятся к случаю, когда длина зонда составляет 25 нуклеотидов. В принципе в гибридизационном тесте могут использоваться зонды различной длины. Если средняя длина используемых зондов составит 25 нуклеотидов, то все перечисленные выводы будут относиться и к этому случаю. Как уже отмечалось ранее, на один зонд длиной в 25 нуклеотидов при ЗМГР, равной 0,8, будет приходиться в среднем 1,5 замены в гомологичном участке последовательности. Следовательно, при использовании зондов с другой длиной на один зонд при достижении порога чувствительности гибридизационного теста должны приходиться 1,5 замены в гомологичном участке нуклеотидной последовательности вируса. Это означает, что при использовании более коротких зондов порог чувствительности будет достигаться при большей доле замен в последовательности, чем при использовании длинных.

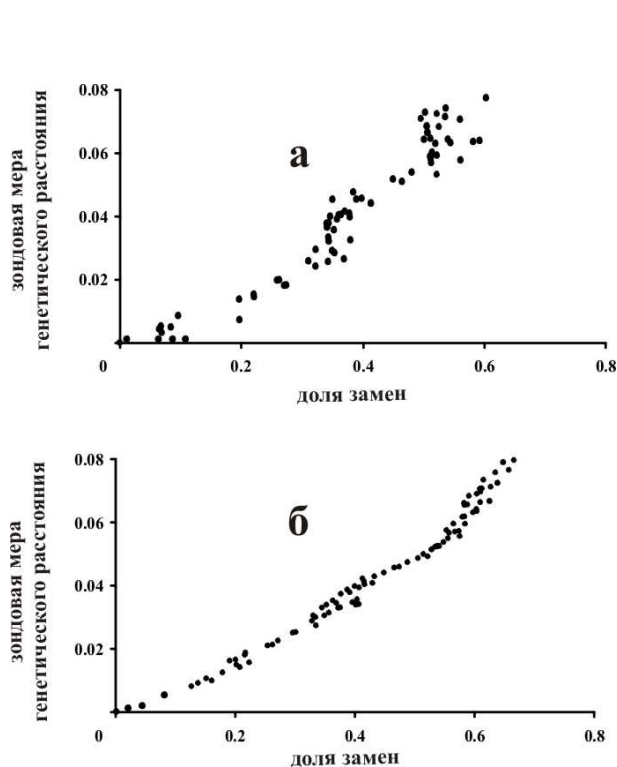


Рис. 3. Зависимость зондовой меры генетического расстояния от доли замен в последовательностях ДНК или РНК вирусов при разном количестве зондов, используемых для гибридационного теста: а – 5 зондов, б – 35 зондов

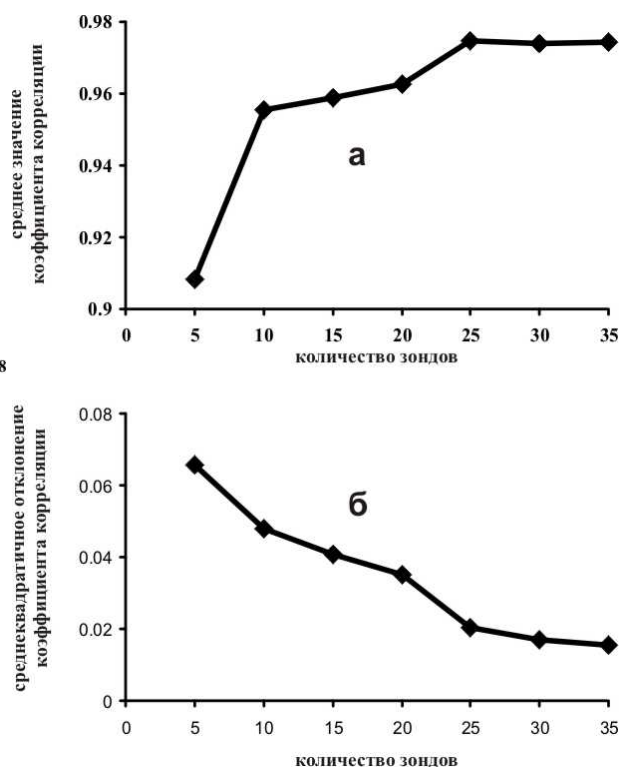


Рис. 4. а – среднее значение коэффициента корреляции между долей замен в последовательности вирусной ДНК или РНК и ЗМГР при различном количестве зондов; б – среднее квадратичное отклонение коэффициента корреляции от среднего значения при различном количестве зондов

Например, при длине зонда в 19 нуклеотидов порог чувствительности гибридационного теста достигается при доле замен в 0,079, а при длине в 30 нуклеотидов порог чувствительности будет составлять 0,05. Таким образом, использование более коротких зондов позволяет использовать гибридационный тест на большем отрезке времени независимого существования двух рассматриваемых штаммов вируса. С другой стороны, использование коротких зондов влечёт за собой опасность некомплементарного связывания их с нуклеотидной последовательностью вируса, что может привести к сбою в работе гибридационного теста при определении генетических расстояний. Необходимо поддерживать определённый компромисс между длиной зонда и чувствительностью гибридационного теста.

Несмотря на то что описываемая в работе мера генетических дистанций обладает меньшей разрешающей способностью, чем непосредственное секвенирование ДНК и РНК, популяционная генетика вирусов является перспективным направлением. Как уже отмеча-

лось, достаточная дешевизна мультилокусного гибридационного теста и меньшие временные затраты позволят анализировать большие выборки штаммов вирусов из различных очагов циркуляции инфекций. Всё это может дать адекватную статистически достоверную информацию о многих процессах, происходящих на уровне вирусных популяций.

В частности, с использованием гибридационной меры генетического расстояния можно сравнивать эффективные размеры популяций вирусов из различных ареалов и потоки генетической информации из одной популяции в другую. Этот же подход может быть эффективным при оценке патогенности штаммов вируса. Если исследуемый штамм согласно результатам теста окажется близок к штамму, проявляющему высокую инфекционную способность, то проявления похожих свойств можно ожидать и от искомого штамма.

В преддверии бурного развития методов генодиагностики, использующих биочиповые технологии, применимая практически для любых биологических объектов математическая

верификация метода мультилокусного зондирования может служить достоверно обосновывающим аргументом при анализе популяционно-генетических данных, одновременном типировании разных вариантов микроорганизмов в одном образце, а также скрининге вариантов генов и геномов живых объектов для их целенаправленного секвенирования.

### Литература

1. Букин Ю. С. Использование результатов мультилокусных гибридизационных тестов для оценки потоков генов между популяциями вируса клещевого энцефалита / Ю. С. Букин, Ю. П. Джиоев // Журн. инфекц. патологии. – 2010. – Т. 17, № 3. – С. 11–15.
2. Генетическая вариабельность и генотипирование вируса клещевого энцефалита с помощью дезоксирибонуклеотидных зондов / Т. В. Демина [и др.] // Вопр. вирусологии. – 2009. – № 3. – С. 33–42.
3. Генотипирование вируса клещевого энцефалита в природных и антропоургических очагах Евразии по результатам мультилокусной гибридизации / Т. В. Демина [и др.] // Инфекции, передаваемые клещами в сибирском регионе / ред. В. В. Власов [и др.]. – Новосибирск : Изд. СО РАН, 2011. – Гл. 4. – С. 139–153.
4. Итоги скрининга геномов вируса клещевого энцефалита с помощью дифференцирующего набора олигонуклеотидов / Т. В. Демина [и др.] // Журн. инфекц. патологии. – 2010. – Т. 17, № 3. – С. 167–168.
5. Кимура М. Молекулярная эволюция: теория нейтральности / М. Кимура. – М. : Мир, 1985. – 399 с.
6. Молекулярные зонды для генетического типирования вируса клещевого энцефалита / В. И. Злобин [и др.] // Вопр. вирусологии. – 2001. – № 1. – С. 16–21.
7. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Минск. : Высш. шк., 1973. – 320 с.
8. Свиричев Ю. М. Основы математической генетики / Ю. М. Свиричев, В. П. Песков. – М. : Наука, 1982. – 512 с.
9. Семовский С. В. Модели симпатрического видообразования в изменяющихся условиях среды / С. В. Семовский, Ю. С. Букин, Д. Ю. Щербаков // Сиб. экол. журн. – 2004. – Т. 5. – С. 621–627.
10. Специфическая реактивность кДНК – и дезоксирибонуклеотидных зондов, комплементарных геному вируса клещевого энцефалита, с РНК штаммов различного географического происхождения / В. И. Злобин [и др.] // Вопр. вирусологии. – 1992. – № 5–6. – С. 248–252.
11. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics / A. Vignal [et al.] // Genet. sel. evol. – 2002. – Vol. 34. – P. 275–305.
12. Bukin Yu. S. Analysis of the results of multilocus hybridization tests to estimate the population structure of tick-borne virus / Yu. S. Bukin, Yu. P. Dzhiyev // X International Jena Symposium on tick-borne Diseases (USTD-X 2009). Poster presentation-P-56 (19–21 March 2009). – 2009. – P. 134.
13. Differentiation of strains of tick-borne encephalitic virus by means of RNA-DNA hybridization / V. A. Shamanin [et al.] // J. Gen. virol. – 1990. – Vol. 71. – P. 1505–1515.
14. Genetic Flows in a Structured One-Dimensional Population: Simulation and Real Data on Baikalian Polychaetes M. Godlewskii / Ju. S. Bukin [et al.] // In Sili-co Biology. – 2007. – Vol. 7, N 3. – P. 277–284.
15. Genetic variability research and genotyping of tick-borne encephalitis virus by means of desoxyribo-nucleotide probes / T. V. Demina [et al.] // J. of Medical Virology. – 2010. – Vol. 82, N 6. – P. 965–976.
16. Kimura M. Random genetic drift in multi-allelic locus / M. Kimura // Evolution. – 1955. – Vol. 9, N 4. – P. 145–159.
17. Kimura M. The average number of generation until fixation of a mutant gene in finite population / M. Kimura, T. Ohta // Genetics. – 1969. – Vol. 61. – P. 763–771.
18. Page D. M. Molecular Evolution: A Phylogenetic Approach / D. M. Page, E. C. Holmes. – Blackwell : Science Ltd, 1998. – 346 p.
19. Speciation and neutral molecular evolution in one-dimensional closed population / S. V. Semovski [et al.] // International J. of Modern Physics. – 2003. – Vol. 14, N 7. – P. 973–983.
20. SSCP Is Not So Difficult: The Application and Utility of Single-Stranded Conformation Polymorphism in Evolutionary Biology and Molecular Ecology / P. Sunnucks [et al.] // Molecular Ecology. – 2000. – Vol. 9. – P. 1699–710.
21. Wen-Hsiung Li Molecular Evolution / Li Wen-Hsiung. – Sinauer Associates, Inc., 1997. – 487 p.

## Verification of the method of multilocus probing of tick-borne encephalitis virus genome for genetic distances determination with the help of computer simulation

Yu. S. Bukin<sup>1</sup>, Yu. P. Dzhiyev<sup>2</sup>, A. I. Paramonov<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Limnological Institute SB RAS, Irkutsk

<sup>2</sup>Scientific Center of Family Health and Human Reproduction SB RAMS, Irkutsk

**Abstract.** Multilocus hybridization probing in biochips performance in the last decade has been being used for pathogens genodiagnosics of many viral infections. In this paper we propose a measure of genetic distance, calculated



on the basis of multilocus genetic probing. With the help of computer simulation we show the boundaries of applicability of the hybridization tests in the evaluation of genetic distances. It was established that at certain time period of independent existence of two virus strains, the genetic distance, estimated by using hybridization test increases linearly. It is shown that to obtain adequate results in the hybridization test you must use at least 25 probes. The possibility of application of the developed measures of genetic distances in populational, evolutionary and epidemiological studies of different viruses is discussed.

**Key words:** virus, strains, oligonucleotide probes, hybridization tests, genetic distances, computer simulation.

*Букин Юрий Сергеевич*  
*Лимнологический институт СО РАН*  
 664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3  
 кандидат биологических наук,  
 старший научный сотрудник  
 тел. (3952)42–29–23  
 E-mail: bukinyura@mail.ru

*Bukin Yuri Sergeevich*  
*Limnological Institute SB RAS*  
 3 Ulan-Batorskaya St., Irkutsk, 664033  
 Ph. D. in Biology  
 senior research scientist  
 phone: (3952)42–29–23  
 E-mail: bukinyura@mail.ru

*Джиоев Юрий Павлович*  
*Институт эпидемиологии и микробиологии*  
*НЦ ПЗС РЧ СО РАМН*  
 664025, Иркутск, ул. К. Маркса, 3  
 кандидат биологических наук  
 старший научный сотрудник  
 тел. (3952) 33–39–51  
 E-mail: alanir07@mail.ru

*Dhziiov Yuri Pavlovich*  
*Institute of Epidemiology and Microbiology,*  
*Scientific Centre of Family Health*  
*and Human Reproduction Problems SO RAMS*  
 3 K. Marx St., Irkutsk, 664025  
 Ph. D. in Biology, senior research scientist  
 phone: (3952) 33–39–51  
 E-mail: alanir07@mail.ru

*Парамонов Алексей Игоревич*  
*Институт эпидемиологии и микробиологии*  
*НЦ ПЗС РЧ РАМН*  
 664025, Иркутск, ул. К. Маркса, 3  
 младший научный сотрудник  
 тел. (3952) 33–39–51  
 E-mail: paramonov\_a.i@mail.ru

*Paramonov Aleksey Igorevich*  
*Institute of Epidemiology and Microbiology Scientific*  
*Centre of Family Health and Human Reproduction*  
*Problems SO RAMS*  
 3 K. Marks St., Irkutsk, 664025  
 junior research scientist  
 phone: (3952) 33–39–51  
 E-mail: paramonov\_a.i@mail.ru