© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 578.833.1.083.2

С.В. Альховский, Д.К. Львов, М.Ю. Щелканов, А.М. Щетинин, П.Г. Дерябин, Е.И. Самохвалов, А.К. Гительман, А.Г. Ботиков

Таксономия вируса Иссык-Куль (Issyk-Kul virus, ISKV; *Bunyaviridae*, *Nairovirus*), возбудителя Иссык-Кульской лихорадки, изолированного от летучих мышей (*Vespertilionidae*) и клещей *Argas* (*Carios*) *vespertilionis* (Latreille, 1796)

ФГБУ "НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского" Минздрава России, 123098, Москва

Вирус Иссык-Куль (Issyk-Kul – ISKV) – этиологический агент Иссык-Кульской лихорадки (ИКЛ) впервые был выделен в Киргизии от летучих мышей *Nyctalus noctula* Schreber, 1774 (*Chiroptera: Vespertilionidae*) и их облигатных паразитов – клещей *Argas* (*Carios*) *vespertilionis* Latreille, 1796 (*Parasitiformes: Argasidae*). Спорадическую заболеваемость и эпидемические вспышки ИКЛ регистрируют в странах Средней Азии с 1979 г. В настоящей работе геном ISKV был секвенирован *de novo* с использованием технологии полногеномного секвенирования. На основании проведенного молекулярно-генетического и филогенетического анализа ISKV отнесен к новой группе рода *Nairovirus* (сем. *Bunyaviridae*). Полученные данные, помимо решения фундаментальных задач, связанных с описанием генетического разнообразия и таксономии вирусов, могут быть использованы для разработки молекулярно-генетических методов детекции ISKV (ПЦР) с целью мониторинга и диагностики ИКЛ на эндемичных территориях.

Ключевые слова: *буньявирусы; наировирусы; арбовирусы, вирус Иссык-Куль; Иссык-Кульская лихорадка; полногеномное секвенирование; летучие мыши; аргасовы клещи.*

S. V. Alkhovsky, D. K. Lvov, M. Yu. Shchelkanov, A. M. Shchetinin, P. G. Deryabin, E. I. Samokhvalov, A. K. Gitelman, A. G. Botikov

The taxonomy of the Issyk-Kul virus (ISKV, Bunyaviridae, Nairovirus), the etiologic Agent of the Issyk-Kul fever isolated from bats (*Vespertilionidae*) and ticks *Argas* (*Carios*) vespertilionis (Latreille, 1796)

D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

The Issyk-Kul virus (etiological agent of the Issyk-Kul fever) was originally isolated from bats (*Nyctalus* noctula Schreber, 1774 (*Chiroptera: Vespertilionidae*)) and their parasites ticks (Argas (Carios) vespertilionis Latreille, 1796 (*Parasitiformes: Argasidae*)) in Kirghizia. Sporadic cases and epidemics of the Issyk-Kul fever are observed in Central Asia since 1979. The ISKV genome was *de novo* sequenced using the next-generation sequencing technology. According to the molecular-genetic and phylogenetic analysis, the ISKV is a member of a novel group in the genus *Nairovirus* (*Bunyaviridae*). Based on the data obtained, molecular-genetic methods can be used for ISKV detection (PCR) for the Issyk-Kul fever monitoring and diagnosis in the endemic areas.

Key words: *bunyaviruses; nairoviruses; arboviruses; Issyk-Kul virus; Issyk-Kul fever; next generation sequencing; bats; argasidae ticks.*

Введение

Вирус Иссык-Куль (Issyk-Kul; ISKV) – этиологический агент Иссык-Кульской лихорадки (ИКЛ) впервые был выделен в 1973 г. в Киргизии от летучих мышей *Nyctalus noctula* Schreber, 1774 (*Chiroptera: Vespertilionidae*) и их облигатных паразитов – клещей *Argas* (*Carios*) *vespertilionis* Latreille, 1796 (*Parasitiformes: Argasidae*) [1, 2]. Позднее ISKV выделяли и от других видов летучих мышей, птиц, комаров, а также от заболевших ИКЛ людей [3–7].

Спорадическую заболеваемость и эпидемические вспышки ИКЛ регистрируют в странах Средней Азии с 1979 г. Уровень иммунной прослойки к ISKV у населения Киргизии составляет до 1,5% (в Чуйской долине). В Таджикистане иммунная прослойка составляет в среднем 2,7%, достигая 7,8% в южных районах [5]. В западной части Туркмении антитела к ISKV выявлены у 9% населения. Случаи заболеваемости ИКЛ, как правило, связаны с обитанием в жилых помещениях летучих мышей, а заражение ISKV может происходить респираторным, алиментарным или трансмиссивным путем [5–7].

Основным природным резервуаром ISKV являются рукокрылые (*Chiptera*), прежде всего сем. *Vespertionidae* – рыжая вечерница (*N. noctula*), поздний кожан (*Vespertilio serotinus* Schreber, 1774), нетопырь карлик (*Pipistrellus pipistrellus* Schreber, 1774), остроухая ночница (*Myotis blythi* Tomes, 1857; *Myotis oxygnathus* Monticelli, 1885) и др., а также аргасовы клещи комплекса *Argas (Carios) verspertilionis*. Некоторое значение в циркуляции ISKV имеют комары *Aedes spp*., *Anopheles spp.* и *Culex pipiens* [4].

На основании морфологии вириона ISKV отнесен к семейству *Bunyaviridae*, более точная классификация (до рода) оказалась невозможной в связи с отсутствием антигенных связей с известными буньявирусами [1]. В результате ISKV причислен к группе неклассифицированных буньявирусов, к которым отнесены около 40 вирусов [8].

В настоящей работе геном ISKV был секвенирован *de novo* с использованием технологии полногеномного секвенирования. На основании проведенного молекулярно-генетического и филогенетического анализа ISKV отнесен к роду *Nairovirus* (сем. *Bunyaviridae*).

Контактная информация:
Альховский Сергей Владимирович, e-mail: salkh@ya.ru

Материалы и методы

Использованные вирусы и выделение РНК. Вирус Иссык-Куль (штамм LEIV-315K) был получен из Государственной коллекции вирусов РФ ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздрава России в виде лиофилизированной мозговой суспензии. Восстановленной суспензией (0,2 мл) проводили интрацеребральное заражение новорожденных беспородных белых мышей. После развития симптомов поражения ЦНС (2–4-е сутки) мышей забивали в соответствии с правилами содержания и использования лабораторных животных, одобренных комиссией института по этике экспериментов с животными. Фрагменты мозга (около 50 мг) помещали в 350 мкл лизирующего буфера RLT (QIAGEN, Германия) и гомогенизировали в гомогенизаторе TyssueLyser LT той же фирмы. Далее РНК была выделена набором RNeasy mini kit (QIAGEN, Германия) на автоматической станции QIAcube (QIAGEN, Германия) в соответствии с инструкцией. Концентрацию РНК измеряли с использованием флюориметра Qubit ("Invitrogen", США).

Подготовка библиотек и секвенирование. 100 нг тотальной РНК фрагментировали в 15 мкл реакционной смеси для обратной транскриптазы (50 мМ Tris-HCl (pH 8,3, при 25°C), 50 мМ KCl, 4 мМ $MgCl_2$, 10 мМ DTT, dNTP (1 мМ каждого) и гексапраймер (0,2 мкг)) при 85ºС в течение 5 мин, после чего помещали в лед. К фрагментированной РНК добавляли 200 ед. фермента RevertAid Premium ("Thermo Scintific", США) и 20 ед. ингибитора РНКаз RNasin ("Promega", США). Инкубировали при 25ºС в течение 10 мин, далее при 42ºС в течение 60 мин. Реакцию останавливали прогреванием при 70ºС в течение 10 мин. Синтез второй цепи кДНК проводили с использованием набора "NEBNext® mRNA Second Strand Synthesis Module" (NEB, США) в соответствии с инструкцией. Полученную дцДНК очищали с использованием набора "MinElute PCR Purification Kit" (QIAGEN, Германия) на автоматической станции QIAcube.

Для получения ДНК библиотек из дцДНК использовали набор "TruSeq DNA Sample Prep Kits v2" ("Illumina", США) в соответствии с инструкцией. Полученные библиотеки визуализировали на станции автоматического электрофореза QIAxcel Advanced System (QIAGEN, Германия). Молярность полученных библиотек измеряли с помощью метода ПЦР в реальном времени (2-кратно SsoFast EvaGreen Supermix ("Bio-Rad", США), прибор Bio-Rad CFX1000) согласно рекомендациям, изложенным в руководстве "Sequencing Library qPCR Quantification Guide" ("Illumina", США).

Таблица 1

Уровень (в %) идентичности полноразмерных последовательностей белков ISKV с вирусами рода *Nairovirus*

Вирус	RdRp (L-сегмент)	Gc/Gn (M-сегмент)	N (S-сегмент)
ККГЛ (CCHF)	44	35	36
Болезнь овец Найроби (NSDV)	43	33	35
Дугбе (DUGV)	47	34	34
Купе (KUV)	47	35	35
Хазара (HAZV)	43	37	34
Ерве (ERVEV)	41	32	35

Секвенирование ДНК-библиотек проводили на приборе MiSeq ("Illumina", США) с использованием набора MiSeq Reagent Kits V2 (300PE) в соответствии с инструкцией производителя.

Биоинформационный анализ. Обработку данных полногеномного секвенирования, сборку контигов и картирование ридов осуществляли, используя программу "CLC Genomics Workbench 5.5" ("CLC bio", США). Предварительный поиск гомологичных последовательностей проводили с помощью сервиса BLASTX (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov). Для подбора праймеров, множественного выравнивания, анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей использовали пакет программ Lasergene Core Suite ("DNAstar", США). Выравнивание последовательностей выполняли по алгоритму ClustalW [9]. Филогенетический анализ и построение дендрограмм осуществляли, применяя программу MEGA 5. Поиск сайтов гликозилирования, сайтов нарезания сигнального пептида и трансмембранных доменов проводили с использованием on-line ресурсов NetNGlyc1.0, SignalP и TMHMM2.0 соответственно (сайт CBS Prediction Servers http://www.cb.sdtu.dk/services).

Результаты и обсуждение

Индексированная ДНК-библиотека, полученная на матрице суммарной РНК из материала, который содержал ISKV (ткани мозга зараженных мышей-сосунков), была секвенирована в мультиплексном формате. Возможность такого подхода для полногеномного секвенирования РНК-вирусов показана нами ранее [10]. В результате de novo сборки коротких ридов (от англ. reads)

Таблица 2

Уровень (в %) идентичности частичной последовательности (118 а.о.) каталитического центра RdRp наировирусов

Вирус		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ISKV	1	***	75,7	71,6	70,9	75,7	69,6	66,9	74,6	68,9	66,9	68,9	66,9
Tillamook	2		***	75,0	76,4	74,3	75,0	72,3	73,9	75,0	72,3	75,7	68,9
Abu hammad	3			***	89,2	76,4	76,4	74,3	76,8	75,0	70,3	70,9	67,6
Abu mina	4				***	75,0	77,0	74,3	76,8	77,0	70,9	70,9	68,2
Bandia	5					***	72,3	73,0	94,2	72,3	68,2	70,3	67,6
Farallon	6						***	91,9	71,0	97,3	70,9	75,7	70,3
Punta Salinas	7							***	71,7	91,9	70,9	71,6	71,6
Qalyub	8								***	69,6	65,9	68,8	64,5
Raza	9									***	70,3	73,6	70,3
DUGV	10										***	85,8	73,6
CCHFV	11											***	75,7
ERVEV	12												***

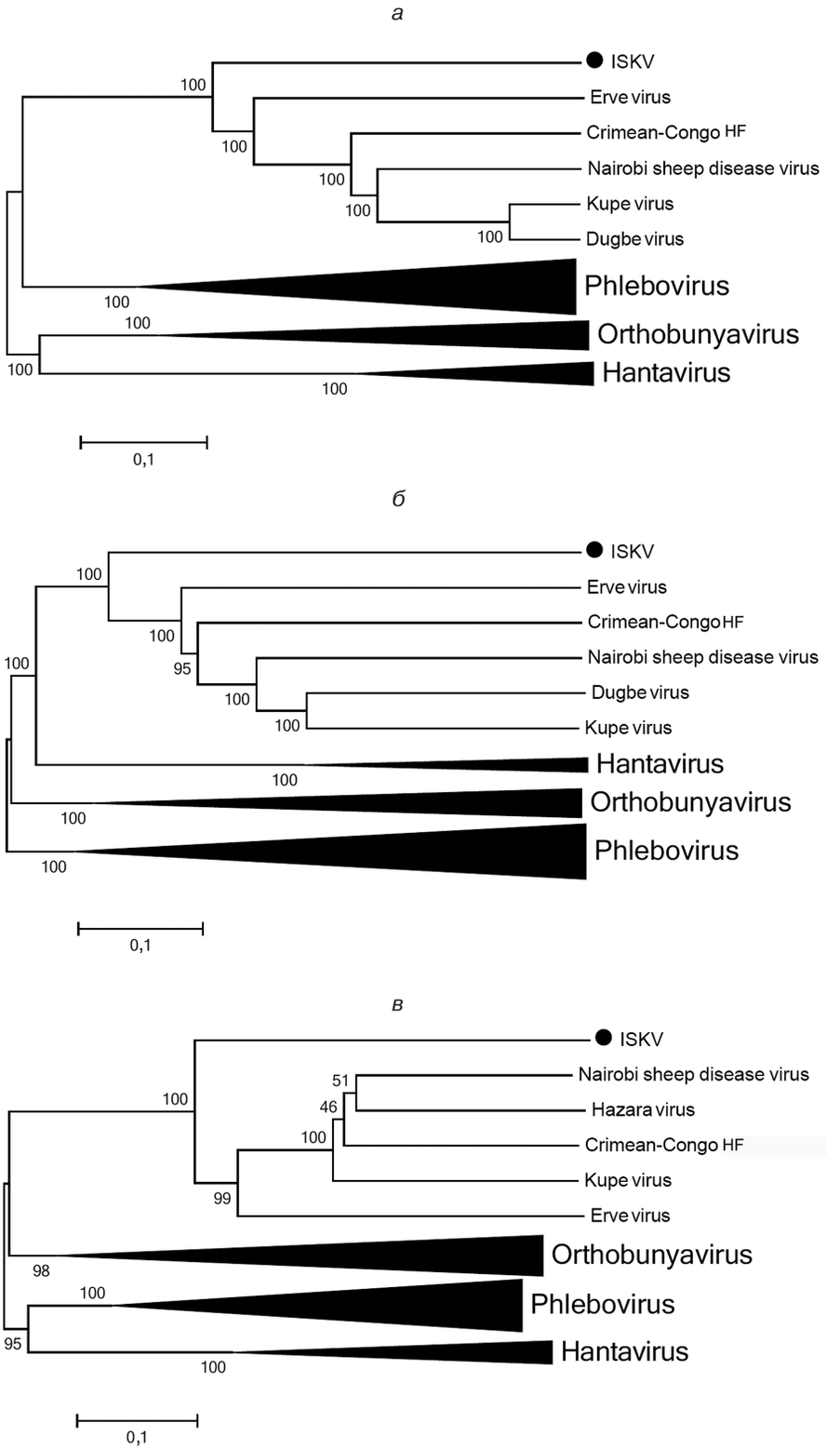

Рис. 1. Дендрограммы, построенные на основе сравнения полноразмерных аминокислотных последовательностей белков буньявирусов животных.

а – RdRp; *б* – структурные белки оболочки Gc/Gn; *в* – белок нуклеокапсида N.

получили протяженные последовательности длиной от 250 до 12 238 нуклеотидных остатков (н.о.), которые проанализировали, используя on-line сервис BLASTX с ограничением поиска по таксону "viruses (taxid 10239)". Три последовательности (длиной 12 238, 5297 и 1754 н.о.) были определены как содержащие открытые рамки считывания (ОРС) белков, обладающих гомологией с белками вирусов рода *Nairovirus* семейства *Bunyaviridae*. Таким образом, большая часть генома ISKV, состоящего из трех сегментов РНК (L, M и S) негативной полярности, была секвенирована. Структура генома ISKV является характерной для наировирусов. L-сегмент кодирует РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp). M-сегмент кодирует полипротеин-предшественник двух структурных оболочечных гликопротеидов (Gc и Gn). S-сегмент кодирует структурный белок нуклеокапсида (N) [8].

L-сегмент ISKV содержит одну ОРС длиной 11 877 н.о., которая кодирует белок RdRp длиной 3958 аминокислотных остатков (а.о.). Расчетная масса RdRp составляет 452 кД. Размер RdRp ISKV соответствует другим найровирусам, у которых он может варьировать от 3863 (вирус Эрве (ERVEV)) до 4050 а.о. (вирус Дугбе (DUGV)). Уровень идентичности полноразмерного RdRp ISKV с наировирусами составляет в среднем 45% (от 41% для ERVEV до 47% для DUGV) (табл. 1).

M-сегмент ISKV кодирует полипротеин-предшественник длиной 1631 а.о. (у других наировирусов от 1296 (ERVEV) до 1684 а.о. (вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки (CCHFV)). В полипротеине (с использованием программы SignalP) найден сигнальный пептид, который состоит из первых 29 а.о., а сайт его нарезания представлен последовательностью AWC/GD. Предполагаемый сайт нарезания зрелых белков Gn/Gc в виде PVQ/GL определен в позиции 952/953 (по полипротеину). Это подтверждается расположением трансмембранных доменов в С-концевой части зрелых белков Gc и Gn, выявленных с использованием программы TMHMM 2.0. Уровень идентичности полипротеина-предшественника Gn/Gc ISKV с наировирусами составляет от 32 до 37% (см. табл. 1).

S-сегмент наировирусов имеет одну ОРС, кодирующую структурный белок нуклеокапсида. Его длина варьирует от 482 (CCHFV) до 630 (ERVEV) а.о. Длина белка N у ISKV составляет 485 а.о., а уровень его идентичности с известными наировирусами в среднем достигает 35% (см. табл. 1).

В род *Nairovirus* включены 35 вирусов, которые объединены в 7 серогрупп: CCHF, DUGV, Тиафора (Tiafora – TFAV), Дера Гази Хан (Dera Ghazi Khan – DGKV), Хьюз (Hughes – HUGV), Сахалин (Sakhalin – SAKHV) и Калюб (Qalyub – QYBV) [8]. Полные последовательности генома сегодня известны только для вирусов групп CCHF и DUGV, а также для ERVEV (группа TFAV) [11–14]. Поэтому возможности сравнительного молекулярно-генетического и филогене-

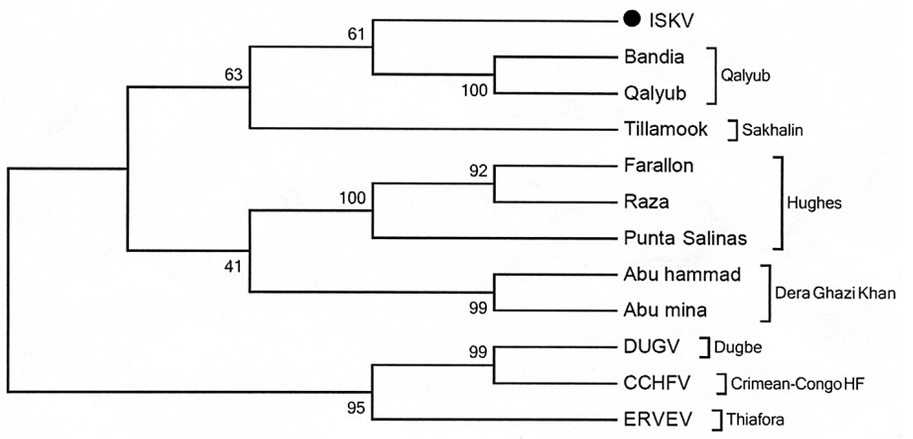

Рис. 2. Дендрограмма, построенная на основе сравнения консервативного участка (118 а.о.) каталитического центра RdRp наировирусов.

Справа указаны антигенные группы.

тического анализа полноразмерных белковых последовательностей наировирусов ограничены. Уровень идентичности белков среди наировирусов указанных серогрупп составляет от 35 до 68%. Наиболее консервативным белком наировирусов, как и всех буньявирусов, является RdRp [8]. Так, уровень идентичности RdRp между вирусами группами CCHFV и DUGV составляет около 65%. ERVEV обладает с вирусами CCHFV и DUGV около 46% идентичности [11].

Геномные данные о вирусах рода *Nairovirus* других серогрупп ограничены частичными последовательностями (118 а.о.) консервативного участка каталитического центра RdRp [15]. Уровень гомологии между наировирусами разных серогрупп на данном участке RdRp составляет от 65 до 75% (табл. 2). Максимальный уровень идентичности ISKV здесь составляет 75,7% с вирусом Тиламук (Tillamook, TILV; серогруппа SAKHV) и Бандиа (Bandia, BDAV; серогруппа QYBV). С остальными вирусами ISKV уровень идентичности составляет от 65 (DUGV) до 74% (QYBV).

Идентичность структурных оболочечных белков Gn/Gc у наировирусов с секвенированным геномом составляет от 40 до 50%. ERVEV обладает наименьшим уровнем идентичности с вирусами групп CCHFV и DUGV по оболочечным белкам (33–39%). Такая гетерогенность связана с давлением иммунного ответа, направленного в первую очередь на внешнюю часть оболочечных белков, несущих основные антигенные детерминанты. ISKV по уровню идентичности (32-37%) оболочечных белков является равноудаленным от наировирусов серогрупп CCHFV, DUGV и TFAV.

Идентичность белка нуклеокапсида N среди наировирусов варьирует от 56 до 63%, при этом ERVEV также является наиболее гетерогенным среди них (41–44% идентичности) [11]. Таким образом, хотя наиболее консервативным белком является RdRp, уровень дивергенции белка N в целом совпадает с уровнем, характерным для RdRp. Однако уровень идентичности белка N ISKV с наировирусами практически совпадает со значениями, полученными для полипротеина Gn/Gc, и не превышает 37%.

Филогенетический анализ провели методом "присоединения соседей" (neighbor-joining) на основе выровненных (ClustalW) полноразмерных белковых последовательностей всех трех сегментов буньявирусов животных (рис. 1). На построенных дендрограммах видно, что ISKV наиболее близко группируется с вирусами рода *Nairovirus*. Структура генома ISKV, уровень идентичности белков и результаты филогенетического анализа позволяют отнести ISKV к роду *Nairovirus*. При анализе полноразмерных последовательностей ISKV формирует внешнюю по отношению к CCHVF, DUGV и TFAV ветвь и является, таким образом, наиболее дивергентным из наировирусов, для которых известны полные последовательности генома. При анализе частичных последовательностей RdRp (рис. 2) ISKV также формирует самостоятельную ветвь, которая соответствует новой группе, наиболее близкой (но равноудаленной) от вирусов групп SAKHV и QYBV.

ISKV экологически связан с мигрирующими рукокрылыми. Предполагаемый ареал ISKV охватывает обширные территории Африки, Австралии и Океании и совпадает с ареалом облигатных паразитов рукокрылых – клещей комплекса A. (*Carios*) *verspertilionis*, являющихся основным переносчиком и, возможно, резервуаром ISKV в природе. Это подтверждается выделением в Малайзии антигенно близкого вируса Кетерах [16]. Полученные нами данные, помимо решения фундаментальных задач, связанных с описанием генетического разнообразия и таксономии вирусов, могут быть использованы для разработки молекулярно-генетических методов детекции ISKV (ПЦР) в целях мониторинга и диагностики ИКЛ на эндемичных территориях.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 13-04-01749 "а".

ЛИТЕРАТУРА

1. *Lvov D. K., Karas F. R., Timofeev E. M., Tsyrkin Y. M., Vargina S. G., Veselovskaya O. V.* et al. "Issyk-Kul" virus, a new arbovirus isolated from bats and Argas (Carios) vespertilionis (Latr., 1802) in the Kirghiz S.S.R. Brief report. Arch. Ges. Virusforsch. 1973; 42(2): 207–9.
2. ISSYK-KUL. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. 3rd ed. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 461.
3. *Львов Д. К., Костюков М. А., Пак Т. П., Громашевский В. Л.* О выделении арбовируса, антигенно родственного вирусу Иссык-Куль, из крови больного человека. Вопросы вирусологии. 1980; (1): 61–2.
4. *Костюков М. А.* Изучение экологии вируса Иссык-Куль. В кн.: Гайдамович С.Я., ред. Арбовирусы. М.; 1981: 78–82.
5. *Львов Д. К.* Арбовирусные инфекции в субтропиках и на юге умеренного пояса СССР. В кн.: Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я., ред. Арбовирусы и арбовирусные инфекции. М.: Медицина; 1989: 235–49.
6. *Львов Д. К.* Лихорадка Иссык-Куль. В кн.: Львов Д.К., ред. Медицинская вирусология. М.: МИА; 2008: 566–8.
7. *Lvov D. K.* Issyk-Kul virus disease. In: Monath T.P., ed. The Arboviruses: ecology and epidemiology. Boca Raton, FL: CRS Press; 1988: 53–62.
8. *Plyusnin A., Beaty B. J., Elliot R. M., Goldbach R., Kormelink R., Lundkvist A.* et al. Family Bunyaviridae. In: King A.M., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. Virus taxonomy: Ninth report of the international committee of taxonomy of viruses. London: Elsevier; 2012: 725–41.
9. *Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J.* CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucl. Acids Res. 1994; 22 (22): 4673–80.
10. *Альховский С. В., Львов Д. К., Щелканов М. Ю., Щетинин А. М., Краснослободцев К. Г., Дерябин П. Г.* и др. Молекулярно-генетическая характеристика вирусов Бханджа (BHAV) и Раздан (RAZV) (Bunyaviridae, Phlebovirus), изолированных от иксодовых клещей Rhipicephalus Bursa Canestrini & Fanzago, 1878, и Dermacentor Marginatus Sulzer, 1776 в Закавказье. Вопросы вирусологии. 2013; 58(4): 14–9.

11. *Dilcher M., Koch A., Hasib L., Dobler G., Hufert F. T., Weidmann M.* Genetic characterization of Erve virus, a European Nairovirus distantly related to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. Virus Genes. 2012; 45 (3): 426–32.
12. *Chastel C., Main A. J., Richard P., Le Lay G., Legrand-Quillien M. C.Beaucournu J. C*. Erve virus, a probable member of Bunyaviridae family isolated from shrews (Crocidura russula) in France. Acta Virol. 1989; 33 (3): 270–80.
13. *Deyde V. M., Khristova M. L., Rollin P. E., Ksiazek T. G., Nichol S. T.* Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genomics and global diversity. J. Virol. 2006; 80 (17): 8834–42.
14. *Crabtree M. B., Sang R., Miller B. R.* Kupe virus, a new virus in the family bunyaviridae, genus nairovirus, Kenya. Emerg. Infect. Dis. 2009; 15 (2): 147–54.
15. *Honig J. E., Osborne J. C., Nichol S. T.* The high genetic variation of viruses of the genus Nairovirus reflects the diversity of their predominant tick hosts. Virology. 2004; 318 (1): 10–6.
16. *Varma M. G., Converse J. D.* Keterah virus infections in four species of Argas ticks (Ixodoidea: Argasidae). J. Med. Entomol. 1976; 13(1): 65–70.

REFERENCES

1. *Lvov D. K., Karas F. R., Timofeev E. M., Tsyrkin Y. M., Vargina S. G., Veselovskaya O. V.* et al. "Issyk-Kul" virus, a new arbovirus isolated from bats and Argas (Carios) vespertilionis (Latr., 1802) in the Kirghiz S.S.R. Brief report. Arch. Ges. Virusforsch. 1973; 42 (2): 207–9.
2. ISSYK-KUL. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses incuding certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 461.
3. *L'Vov D K., Kostiukov M. A., Daniiarov O. A., Tukhtaev T. M.Sherikov B. K.* Outbreak of arbovirus infection in the Tadzhik SSR due to the Issyk-Kul virus (Issyk-Kul fever). Voprosy virusologii. 1984; 29 (1): 89–92 (in Russian).
4. *Kostyukov M. A.* Study of Issyk-Kul virus ecology. In: Gaidamovich S.Y., ed. Arboviruses. Moscow: 1981: 78–82 (in Russian).
5. *Lvov D. K.* Arbovirus infections in the subtropics and on the South of temperate zone of USSR In: Lvov D.K., Klimenko S.M.Gaidamovich S.Y., eds. Arboviruses and arbovirus infections. Moscow: Meditsina; 1989: 235–49 (in Russian).
6. *Lvov D. K.* The Issyk-kul fever. In: Lvov D.K., eds. Medical virology. Moscow: MIA; 2008: 566–8 (in Russian).
7. *Lvov D. K.* Issyk-Kul virus disease. In: Monath T.P., ed. The Arboviruses: ecology and epidemiology. Boca Raton, FL: CRS Press; 1988: 53–62.
8. *Plyusnin A., Beaty B. J., Elliot R. M., Goldbach R., Kormelink R., Lundkvist A.* et al. Family Bunyaviridae. In: King A.M., Adams M.J., Carstens E.B.Lefkowitz E.J., eds. Virus taxonomy: Ninth report of the international committee of taxonomy of viruses. 1st ed. London: Elsevier; 2012: 725–41.
9. *Thompson J. D., Higgins D. G., Gibson T. J.* CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucl. Acids Res. 1994; 22 (22): 4673–80.
10. *Alkhovsky S.V., Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Shchetinin A.M., Krasnoslobodtsev K.G., Deryabin P.G.* et al. Molecular – Genetic Characterization Of Bhanja Virus (Bhav) And Razdan Virus (Razv) (Bunyaviridae, Phlebovirus), Isolated From Ixodes Tiks Rhipicephalus Bursa Canestrini & Fanzago, 1878, And Dermacentor Marginatus Sulzer, 1776, In Transcaucasus. Voprosy virusologii. 2013; 58(4): 14–9 (in Russian).
11. *Dilcher M., Koch A., Hasib L., Dobler G., Hufert F. T., Weidmann M.* Genetic characterization of Erve virus, a European Nairovirus distantly related to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. Virus Genes. 2012; 45 (3): 426–32.
12. *Chastel C., Main A. J., Richard P., Le Lay G., Legrand-Quillien M. C., Beaucournu J. C.* Erve virus, a probable member of Bunyaviridae family isolated from shrews (Crocidura russula) in France. Acta Virol. 1989; 33 (3): 270–80.
13. *Deyde V. M., Khristova M. L., Rollin P. E., Ksiazek T. G., Nichol S. T.* Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genomics and global diversity. J Virol. 2006; 80 (17): 8834–42.
14. *Crabtree M. B., Sang R., Miller B. R.* Kupe virus, a new virus in the family bunyaviridae, genus nairovirus, Kenya. Emerg. Infect. Dis. 2009; 15 (2): 147–54.
15. *Honig J. E., Osborne J. C., Nichol S. T.* The high genetic variation of viruses of the genus Nairovirus reflects the diversity of their predominant tick hosts. Virology. 2004; 318 (1): 10–6.
16. *Varma M. G., Converse J. D*. Keterah virus infections in four species of Argas ticks (Ixodoidea: Argasidae). J. Med. Entomol. 1976; 13 (1): 65–70.

Поступила 23.05.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 578.833.1.083.2

С.В. Альховский, Д.К. Львов, М.Ю. Щелканов, А.М. Щетинин, П.Г. Дерябин, Е.И. Самохвалов, А.К. Гительман, А.Г. Ботиков

Таксономия вируса Хасан (Khasan, KHAV) – нового вируса рода *Phlebovirus* (сем. *Bunyaviridiae*), изолированного из клещей *Haemaphysalis longicornis* (Neumann, 1901) в Приморском крае (Россия)

ФГБУ "НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского" Минздрава России, 123098, Москва

Вирус Хасан (Khasan virus – KHAV) был изолирован в Хасанском районе Приморского края в 1971 г. из клещей *Haemophysalis longicornis* (Neumann, 1901), собранных с пятнистых оленей *Cervus nippon* Temmink, 1838. На основании биологических свойств и морфологии вириона KHAV был отнесен к неклассифицированным вирусам сем. *Bunyaviridae*. В настоящей работе для уточнения таксономического положения KHAV геном вируса был частично секвенирован с использованием технологии секвенирования следующего поколения (next-generation sequencing). На основании филогенетического анализа частичных последовательностей всех трех сегментов генома KHAV был отнесен нами к роду *Phlebovirus*. Филогенетически KHAV наиболее близко группируется с вирусами группы UUKV и обладает с ними на анализируемых участках генома до 62% идентичности. Максимальный уровень идентичности наблюдается для фрагментов последовательности РНК-зависимой РНК-полимеразы (RdRp). Уровень гомологии KHAV с клещевыми вирусами группы UUKV составляет от 50 до 62%, тогда как с москитными флебовирусами это значение не превышает 30%.

Ключевые слова: *вирус Хасан; буньявирусы; флебовирусы; арбовирусы; полногеномное секвенирование; иксодовые клещи.*

Контактная информация:
Альховский Сергей Владимирович, e-mail: salkh@ya.ru