

- of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 797.
13. OKHOTSKIY. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 759.
  14. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011; 28 (10): 2731–9.
  15. Ansoorge W. J. Next-generation DNA sequencing techniques. *Nat. Biotechnol.* 2009; 25 (4): 195–203.
  16. Kreuze J. F., Perez A., Untiveros M., Quispe D., Fuentes S., Barker I. et al. Complete viral genome sequence and discovery of novel viruses by deep sequencing of small RNAs: a generic method for diagnosis, discovery and sequencing of viruses. *Virology.* 2009; 388 (1): 1–7.
  17. Victoria J. G., Kapoor A., Dupuis K., Schnurr D. P., Delwart E. L. Rapid identification of known and new RNA viruses from animal tissues. *PLoS Pathog.* 2008; 4 (9): e1000163.
  18. Альховский С. В., Щетинин А. М., Львов Д. К., Щелканов М. Ю., Дерябин П. Г., Львов Д. Н. и др. Вопросы вирусологии. 2013; 58 (4): 10–3. [Alkhovskiy S.V., Shchetinin A.M., Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Deryabin P.G., Lvov D.N. et al. Khurdun virus (KHURV): a new representative of orthobunyavirus (Bunyaviridae). *Voprosy Virusologii.* 2013; 58(4): 10–3.] (in Russian).
  19. Альховский С. В., Львов Д. К., Щелканов М. Ю., Щетинин А. М., Краснослободцев К. Г., Дерябин П. Г. и др. Вопросы вирусологии. 2013; 58(4): 14–9. [Alkhovskiy 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 Ticks Rhipicephalus Bursa Canestrini & Fanzago, 1878, And Dermacentor Marginatus Sulzer, 1776, in Transcaucasus. *Voprosy Virusologii.* 2013; 58(4): 14–9.] (in Russian).
  20. 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. and Lefkowitz E.J., eds. *Virus taxonomy: Ninth report of the international committee of taxonomy of viruses*, 1st ed. London: Elsevier; 2012: 725–41.
  21. Palacios G., Savji N., Travassos da Rosa A., Guzman H., Yu X., Desai A. et al. Characterization of the uukuniemi virus group (phlebovirus: bunyaviridae): evidence for seven distinct species. *J. Virol.* 2013; 87(6): 3187–95.
  22. MANAWA. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 649–50.
  23. Darwish M. A., Hoogstraal H., Roberts T. J., Ghazi R. and Amer T. A sero-epidemiological survey for Bunyaviridae and certain other arboviruses in Pakistan. *Trans. Roy Soc. Trop. Med. Hyg.* 1983; 77 (4): 446–50.
  24. Yu X. J., Liang M. F., Zhang S. Y., Liu Y., Li J. D., Sun Y. L. et al. Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364 (16): 1523–32.
  25. Zhang Y. Z., Zhou D. J., Qin X. C., Tian J. H., Xiong Y., Wang J. B. et al. The ecology, genetic diversity, and phylogeny of Huaiyangshan virus in China. *J. Virol.* 2012; 86 (5): 2864–8.
  26. McMullan L. K., Folk S. M., Kelly A. J., MacNeil A., Goldsmith C. S., Metcalfe M. G. et al. A new phlebovirus associated with severe febrile illness in Missouri. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367 (9): 834–41.
  27. Palacios G., Tesh R., Travassos da Rosa A., Savji N., Sze W., Jain K. et al. Characterization of the Candiru antigenic complex (Bunyaviridae: Phlebovirus), a highly diverse and reassorting group of viruses affecting humans in tropical America. *J. Virol.* 2011; 85 (8): 3811–20.
  28. Reese S. M., Blitvich B. J., Blair C. D., Geske D., Beaty B. J., Black W. C. t. Potential for La Crosse virus segment reassortment in nature. *Virol. J.* 2008; 5: 164.
  29. Kirsanovs S., Klempa B., Franke R., Lee M. H., Sch onrich G., Rang A. et al. Genetic reassortment between high-virulent and low-virulent Dobrava-Belgrade virus strains. *Virus Genes.* 2010; 41 (3): 319–28.
  30. Yanase T., Kato T., Aizawa M., Shuto Y., Shirafuji H., Yamakawa M. et al. Genetic reassortment between Sathuperi and Shamonda viruses of the genus Orthobunyavirus in nature: implications for their genetic relationship to Schmallenberg virus. *Arch. Virol.* 2012; 157 (8): 1611–6.
  31. Briese T., Kapoor V., Lipkin W. I. Natural M-segment reassortment in Potosi and Main Drain viruses: implications for the evolution of orthobunyaviruses. *Arch. Virol.* 2007; 152 (12): 2237–47.

Поступила 23.05.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 578.823.1.083.2

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

## Таксономия вируса Баку (BAKV – Baku virus; *Reoviridae*, *Orbivirus*), изолированного из облигатных паразитов птиц – аграсовых клещей (*Acari: Argasidae*) в Азербайджане, Туркменистане и Узбекистане

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

Вирус Баку (BAKV – Baku virus) был выделен из клещей *Ornithodoros capensis* Neumann, 1901 (*Acari: Argasidae*), собранных весной и летом 1970 г. в гнездовье серебристых чаек *Larus argentatus* на островах Бакинского архипелага в Каспийском море, и отнесен к комплексу вируса Кемерово (KEMV), род *Orbivirus* сем. *Reoviridae*. Позднее BAKV многократно изолировали из клещей *O. coniceps Canestrini*, 1980, собранных в гнездовьях чаек *L. argentatus* и крачек *Sterna hirundo* в Туркмении и норových гнездовьях голубей *Columba livia neglecta* в предгорьях Чаткальского хребта Западного Тянь-Шаня (Ташкентский район, Узбекистан). В настоящей работе геном прототипного штамма BAKV LEIV-Azn46 был секвенирован *de novo* с использованием технологии полногеномного секвенирования (next-generation sequencing). Установлено, что белок Pо1 BAKV имеет 48,6% идентичности с вирусами группы GIV и в среднем 41% с неклещевыми орбивирусами. Идентичность белка T2 BAKV с орбивирусами составляет от 23,7 до 64,8%. Наибольший уровень (64,8%) идентичности по белку T2 BAKV имеет с клещевыми вирусами группы GIV (KEMV). На основании проведенного молекулярно-генетического и филогенетического анализа показано, что BAKV является новым видом орбивирусов, который формирует отдельную филогенетическую группу, близкую к группе GIV.

Ключевые слова: орбивирусы; группа Кемерово; арбовирусы; иксодидные клещи; полногеномное секвенирование; вирус Грейт Айленд.

Контактная информация:

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

# The taxonomy of the Baku virus (BAKV; *Reoviridae*, *Orbivirus*) isolated from the birds obligate parasites *Argasidae* ticks in Azerbaijan, Turkmenistan, and Uzbekistan

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

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

The Baku virus (BAKV) was originally isolated from the ticks *Ornithodoros capensis* Neumann, 1901 (*Acari: Argasidae*) collected from the seagull (*Larus argentatus*) seating nests on the islands of the Baku archipelago, the Caspian sea. BAKV was assigned to Kemerovo group (KEMV) (*Orbivirus*, *Reoviridae*). The BAKV was frequently isolated from the ticks *O. coniceps* Canestrini, 1980, collected from *L. argentatus* and tern (*Sterna hirundo*) nests in Turkmenia and pigeon (*Columba livia neglecta*) nests in Uzbekistan. In this work, the genome of the BAKV was sequenced using the next-generation sequencing technology. The BAKV Pol protein has 48.6% identity level with the viruses of the Great Island Virus group and at average 41% with non-tick orbiviruses. The BAKV T2 protein level identity with the orbiviruses ranges from 23.7% to 64.8%. The maximum identity level of the T2 protein (64.8%) is observed for the tick-borne viruses of the GIV (KEMV) group. According to the conducted molecular-genetic and phylogenetic analysis, the BAKV is a novel species of the genus *Orbivirus*. It forms a phylogenetic group distinctly related to the GIV group.

Key words: orbiviruses; Kemerovo group; arboviruses; ixodes ticks; next-generation sequencing, Great Island virus.

## Введение

Вирус Баку (Baku virus, BAKV) был выделен из клещей *Ornithodoros capensis* Neumann, 1901 (*Acari: Argasidae*), собранных весной и летом 1970 г. в гнездовые серебристых чаек *Larus argentatus* на островах Бакинского архипелага в Каспийском море (2,5 км от берега в районе г. Алат, Азербайджан) при выполнении программы зондирования территории государства для определения вирусного биологического фона [1–3]. АТ к BAKV у гнездящихся птиц выявлены в 15,6%. BAKV был выделен также во время эпизоотии в фазанарии (Бардинский район, Азербайджан) из органов фазанят, среди которых наблюдалась высокая смертность. Один штамм BAKV изолирован в Исмаилинском районе Азербайджана из снятых с коров клещей *Hyalomma marginatum* [4]. Позднее BAKV многократно изолировали из клещей *O. coniceps* Canestrini, 1980, собранных в гнездовых чаек *L. argentatus* и крачек *Sterna hirundo* на островах в заливе Кара-Богаз-Гол в Туркмении и норовых гнездовых голубей *Columba livia neglecta* в предгорьях Чаткальского хребта Западного Тянь-Шаня (Ташкентский район, Узбекистан) [5–8]. Данные по изоляции 69 штаммов BAKV приведены в табл. 1. На основании биологических свойств и морфологических данных (структура вириона по данным электронной микроскопии) BAKV был отнесен к комплексу вируса Кемерово (KEMV), который позднее был включен в род *Orbivirus* сем. *Reoviridae* [1, 9–12].

Семейство *Reoviridae* включает 15 родов безоболочечных вирусов животных, насекомых и растений с сегментированным геномом, представленным 10–12 молекулами двухцепочечной РНК. К роду *Orbivirus* отнесены более 160 вирусов (штаммов), которые объединены в 22 серотипа (вида). 13 орбивирусов имеют статус неклассифицированных. Орбивирусы являются арбовирусами, т.е. передаются позвоночным с укусом членистоногого переносчика. Филогенетически и антигенно орбивирусы формируют три группы (клайда), которые соответствуют их членистоногому переносчикам. К группе орбивирусов, передаваемых мокрецами (*Culicoides spp.*), относятся вирусы Синего языка (Bluetongue virus, BTV) и Африканской лихорадки лошадей (AHSV) – важные патогены домашних животных. Орбивирусы Юннань (YUOV) и Перуанской

болезни лошадей (PHSV) связаны с комарами рода *Culex*. Клещевые орбивирусы, связанные преимущественно с иксодидными (*Ixodidae*) клещами и птицами, объединены в группу Грейт айленд (Great Island virus, GIV). Значение в инфекционной патологии человека имеют клещевые орбивирусы комплекса Кемерово (KEMV; Трибеч (TRBV) и Липовник (LIPV)), широко распространенные в Северной Евразии, вызывающие поражения ЦНС в виде менингита и менингоэнцефалита [13, 14].

В настоящей работе геном прототипного штамма BAKV LEIV-Azn46 был секвенирован *de novo* с использованием технологии полногеномного секвенирования (next-generation sequencing). На основании проведенного молекулярно-генетического и филогенетического анализа установили, что BAKV является новым видом в составе рода *Orbivirus*, близким к серогруппе GIV.

## Материалы и методы

**Использованные вирусы и выделение РНК.** Вирус Баку (штамм LEIV-Azn46P) был получен из Государственной коллекции вирусов РФ ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава РФ в виде лиофилизованной мозговой суспензии. Восстановленной суспензией (0,2 мл) проводили интрацеребральное заражение новорожденных беспородных белых мышей. После развития симптомов поражения ЦНС (2–4-е сут-

Таблица 1

Изоляция штаммов вируса Баку (BAKV) из аргасовых клещей (*Acari: Argasidae*) в гнездовых колониях птиц [10]

Регион изоляции	Экосистема	Источник изоляции*	Количество штаммов
Азербайджан, о. Глиняный Бакинского архипелага в Каспийском море 49°30' в.д. 39°50' с.ш.	Гнездовья серебристых чаек <i>Larus argentatus</i> ; сухие субтропики, полупустынный ландшафт	Клещи <i>Ornithodoros capensis</i> Neumann, 1901; зараженность клещей 1:120	14 (1970 г.) 20 (1971 г.) 25 (1973 г.) Всего 59
Туркменистан, острова в заливе Кара-Богаз-Гол 53° в.д. 35° с.ш.	Гнездовья серебристых чаек <i>Larus argentatus</i> , речных крачек <i>Sterna hirundo</i> ; сухие субтропики, полупустынный ландшафт	Клещи <i>O. coniceps</i> Canestrini, 1980; зараженность клещей 1:1500	1 (1972 г.) 2 (1973 г.) Всего 3
Узбекистан, окр. г. Паркент, Ташкентская обл.; предгорья Чаткальского хребта, Западный Тянь-Шань 69°45' в.д. 40°40' с.ш.	Гнездовья Туркменского скалистого голубя <i>Columba livia neglecta</i> ; сухие субтропики, полупустынный ландшафт	Клещи <i>O. coniceps</i> Canestrini, 1980; зараженность клещей 1:130	1 (1972 г.) 2 (1973 г.) 1 (1974 г.) 2 (1975 г.) Всего 6

Примечание. \* – 1 штамм был изолирован от клещей *Hyalomma marginatum*, снятых с коров в Исмаилинском районе Азербайджана в 1973 г.

Уровень (в %) идентичности белков вируса Баку (BAKV) с орбивирусами

Вирус	Вирусные белки BAKV									
	VP1 (Pol)	T2*	VP2*	NS1	VP4	VP5	NS2	VP7 (T13)	VP6	NS3
Kemerovo	48,6	64,8	23,2	40	58	-	45	64	33	44
Tribec	48,6	64,3	26,1	40	52	-	48	64	32	43
Great_Island	47,0	63,0	22,5	40	60	-	46	64	34	28
Yunnan	44,5	46,5	9,7	26	42	54	30	38	29	н.д.
EHDV	42,3	37,4	14,2	23	46	39	27	34	28	31
African_horse_sickness	42,1	36,8	8,8	23	41	34	30	36	32	29
Bluetongue	43,7	36,8	11,4	24	46	35	25	30	26	44

Примечание. \* – белок внутреннего слоя нуклеокапсида T2 у орбивирусов, связанных с мокрецами, кодируется сегментом 3 и обозначается VP3.

Таблица 3

Уровень (в %) идентичности белка T2 орбивирусов

Вирус	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Baku	1	<b>64,8</b>	<b>64,1</b>	<b>64,3</b>	<b>63,0</b>	<b>47,3</b>	<b>45,4</b>	<b>42,4</b>	<b>37,4</b>	<b>36,8</b>	<b>36,9</b>	<b>36,8</b>	<b>34,0</b>	<b>23,7</b>
Kemerovo	2		91,0	91,1	82,8	45,5	45,7	44,3	37,3	35,2	36,3	35,7	32,0	24,5
Lipovnik	3			99,4	82,5	46,7	45,5	44,4	37,1	34,6	36,0	35,3	31,6	25,0
Tribec	4				82,6	46,7	45,6	44,4	37,0	34,8	36,2	35,3	31,7	25,0
Great_Island	5					45,6	45,7	43,8	37,4	35,5	37,7	35,1	33,5	23,8
Peruvian_horse_sickness	6						65,8	43,5	36,5	35,8	36,2	36,9	34,7	23,5
Yunnan	7							41,9	37,5	37,3	37,7	38,2	35,5	23,8
Umatilla	8								35,7	35,7	36,3	35,2	32,9	22,7
EHDV	9									58,7	69,7	77,5	49,9	22,7
African_horse_sickness	10										62,4	57,3	56,8	22,5
Eubenangee	11											68,5	52,1	22,0
Bluetongue	12												50,8	22,4
Equine_encephalosis	13													21,2
St_Croix_River	14													

Примечание. Серым цветом выделены вирусы группы GIV.

ки) 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 TissueLyser LT (QIAGEN, Германия). Далее РНК выделяли набором «RNeasy mini kit» (QIAGEN, Германия) на автоматической станции QIAcube (QIAGEN, Германия) в соответствии с инструкцией. Концентрацию РНК измеряли с использованием флуориметра Qubit (Invitrogen, США).

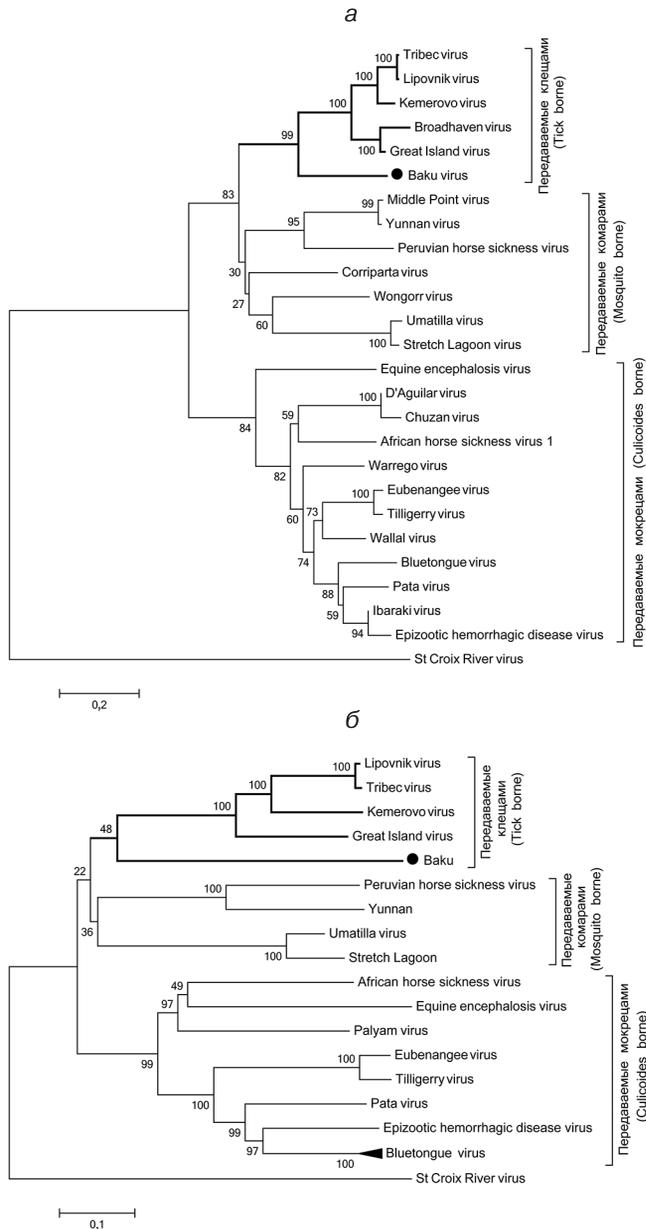
**Подготовка библиотек и секвенирование.** 100 нг тотальной РНК фрагментировали в 15 мкл реакционной смеси для обратной транскриптазы (50 mM трис-НСI (рН 8,3, температура 25°C), 50 mM КСI, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM DTT, dNTP (1 mM каждого) и гексапраймер (0,2 мкг)) при 85°C в течение 5 мин, после чего помещали в лед. К фрагментированной РНК добавляли 200 ед. фермента RevertAid Premium (Thermo Scientific, США) и 20 ед. ингибитора РНаз RNasin (Promega, США). Инкубировали при 25°C 10 мин, далее при 42°C 60 мин. Реакцию останавливали прогреванием при 70°C 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 методом полимеразно-цепной реакции в реальном времени (2x SsoFast EvaGreen Supermix (Bio-Rad, США), прибор Bio-Rad CFX1000) согласно рекомендациям, изложенным в руководстве «Sequencing Library qPCR Quantification Guide» (Illumina, США).

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 проводили с использованием программы «CLC Genomics Workbench 5.5» (CLC bio, США). Предварительный поиск гомологичных последовательностей осуществляли 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,



Дендрограммы, построенные на основе филогенетического анализа белков T2 (а) и Pol (б) орбивирусов.

США). Выравнивание последовательностей проводили по алгоритму ClustalW. Филогенетический анализ и построение дендрограмм осуществляли, используя программу MEGA5. Поиск сайтов гликозилирования, сайтов нарезания сигнального пептида и трансмембранных доменов проводили с помощью on-line ресурсов NetNGlyc1.0, SignalP и TMHMM2.0 соответственно (сайт CBS Prediction Servers <http://www.cb.sdtu.dk/services>).

### Результаты и обсуждение

В результате проведенного секвенирования определили практически полные последовательности большинства сегментов генома ВАКВ (табл. 2). Геном орбивирусов состоит из 10 сегментов двухцепочечной РНК, большинство из которых имеют 1 открытую рамку считывания. Прототипный орбивирус ВТВ кодирует 7 структурных белков и 4 неструктурных (сегмент 10 кодирует 2 белка). Наиболее консервативными белками у орбивирусов являются 2 самых крупных белка: РНК-полимераза (Pol, VP1) и белки внутреннего слоя нуклеокапсиды (белки T2 и T13). Дивергенция аминокислотной последовательности белков T2 и T13 соответствует

антигенным различиям между отдельными серотипами (видами) и может использоваться вместе с Pol для классификации новых видов орбивирусов. Белки внешнего слоя нуклеокапсиды (VP2 и VP5), которые взаимодействуют с клеточными рецепторами и находятся под давлением иммунного ответа, напротив, демонстрируют высокий уровень варибельности среди орбивирусов [13, 15, 16].

Уровень гомологии аминокислотной последовательности белка Pol у орбивирусов разных групп составляет от 34,5 до 64%. У клещевых орбивирусов группы GIV уровень идентичности Pol превышает 70%. Так, вирусы комплекса KEMV обладают с GIV 72–73% идентичности. При этом вирусы LIPV и TRBV являются практически идентичными (98,7%). Белок Pol ВАКВ имеет 48,6% идентичности с вирусами группы GIV и в среднем 41% с неклещевыми орбивирусами (см. табл. 2).

Идентичность белка T2 ВАКВ с орбивирусами составляет от 23,7 до 64,8% (табл. 3). Наибольший уровень (64,8%) идентичности по белку T2 ВАКВ имеет с клещевыми вирусами группы GIV (KEMV). С орбивирусами, связанными с комарами и мокрецами, идентичность T2 ВАКВ составляет 42,4–47,3 и 34–37,7% соответственно. Минимальный уровень идентичности T2 ВАКВ имеет с вирусом Сент-Круа-Ривер (St Croix River – SCR), который является наиболее дивергентным орбивирусом (см. рисунок). SCR был выделен из клещей *Ixodes scapularis*, однако он обладает наиболее низкой гомологией (антигенно и генетически) и с клещевыми, и с комарными орбивирусами (21–25%).

На основе сравнения белков Pol и T2 орбивирусов провели филогенетический анализ. На рисунке представлены дендрограммы, на которых видно, что орбивирусы можно разделить на три филогенетические группы, каждая из которых объединяет вирусы, связанные с определенным переносчиком – клещами, комарами и мокрецами соответственно. ВАКВ по анализируемым белкам (Pol и T2) наиболее близко группируется с клещевыми вирусами группы GIV. При этом из дендрограммы, построенной на основе Pol, следует, что ВАКВ формирует новую, отдельную филогенетическую группу, практически равноудаленную от клещевых и комарных орбивирусов.

В группу TBV входят 35 вирусов (серотипов), среди которых GIV, Бродхэвен (Broadhaven, BRDV), Сэнди-Бэй (Sandy bay, SBaV), Вад-Медани (Wad Medani; WMV), Ченуда (Chenuda; CHUV), а также вирусы комплекса Кемерово (KEMV, TRBV, LIPV и Карагыш (Karagys)). Геномные данные известны только для небольшого количества клещевых орбивирусов, что ограничивает возможности филогенетического анализа. Нужно отметить, что комплекс KEMV является достаточно обособленной группой, поскольку возможность реассортации их генома с другими вирусами группы GIV ограничена. Кроме того, вирусы KEMV способны эффективно инфицировать грызунов и людей, тогда как вирусы GIV связаны в основном с птицами. Основное значение в определении рецепторной специфичности орбивирусов принадлежит белку внешней оболочки капсиды VP2. По белку VP2 KEMV и TRBV между собой имеют 82% идентичности и только 38% с GIV. Уровень идентичности VP2 ВАКВ, который так же, как и GIV, связан с птицами, составляет 22,5–26,1% с клещевыми орбивирусами и 8–14% с остальными вирусами соответственно (см. табл. 1).

Вирусы группы GIV в основном связаны с иксодидными клещами (Ixodidae). Их многократно изолировали от клещей *Ixodes* spp., *Hyalomma* spp., *Amblyoma* spp. и *Phipicerphalus* spp., а CHUV был изолирован от аргазид

(*Argasidae*) – клещей *Argas reflexus hermanni* в Египте. Напротив, большинство штаммов ВАКВ были изолированы из аргасовых клещей *O. capensis* и *O. coniceps*. Таким образом, высокий уровень генетической дивергенции ВАКВ с другими клещевыми вирусами связан с экологическими особенностями его эволюции. На основе проведенного филогенетического анализа и с учетом особенностей экологии ВАКВ можно заключить, что ВАКВ является новым видом орбивирусов, который формирует отдельную филогенетическую группу, близкую к группе GIV.

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

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Львов Д. К., Громашевский В. Л., Сидорова Г. А., Тучкин Ю. М. Выделение нового арбовируса Баку группы Кемерово из аргасовых клещей *Ornithodoros capensis* в Азербайджане. Вопросы вирусологии. 1971; 4: 434–7.
2. Baku. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 203.
3. Gromashevsky V.L., Lvov D. K., Sidorova G. A., Tsirkin Y. M., Fomina K. B., Aristova V. A. et al. A complex natural focus of arboviruses on Glinyanyi Island, Baku Archipelago, Azerbaidzhan S.S.R. Acta Virol. 1973; 17 (2): 155–8.
4. Мирзоева Н. М. Итоги изучения арбовирусных инфекций в Азербайджане (1967–1976 гг.). Арбовирусы. 1978; 3: 27–31.
5. Lvov D. K., Timopheeva A. A., Smirnov V. A., Gromashevsky V. L., Sidorova G. A., Nikiforov L. P. et al. Ecology of tick-borne viruses in colonies of birds in the USSR. Med. Biol. 1975; 53 (5): 325–30.
6. Сидорова Г. А., Жмаева З. М., Громашевский В. Л. Изоляция вируса Баку от клещей *Ornithodoros coniceps*, собранных в гнездовых голубей в Ташкентской области. Экология вирусов. 1974; 2: 102–5.
7. Сидорова В. П., Андреев В. П. Некоторые черты экологии новых арбовирусов, выделенных в Узбекистане и Туркмении. Экология вирусов. 1980; 108–14.
8. Андреев В. Л., Громашевский В. Л., Веселовская О. В. Изоляция вируса Баку в Западной части Туркменской ССР. Экология вирусов. 1973; 96–103.
9. Саркисян Б. Г., Новохатский А. С., Львов Д. К. Орбивирусы. Успехи современной биотехнологии АН СССР. 1979; 5: 210–25.
10. Lvov D. K. Arboviruses in the USSR. In: Vasenjak-Hirjan J., Porterfield J.S., eds. Arboviruses in the mediterranean countries. 1<sup>st</sup> ed. New York: Gustav Fischer Verlag; 1980: 35–48.
11. Lvov D. K. Ecological soundings of the former USSR territory for natural foci of arboviruses. eds. Sov. Med. Rev. Virol. UK: Harwood Academ. Pub. GmbH; 1993: 1–47.
12. Lvov D. K. Natural foci of arboviruses in the USSR. In: Zhdanov V.M., eds. Sov. Med. Rev. Virol. UK: Harwood Academ. Pub. GmbH; 1987: 153–96.
13. Attoui H., Mertens P. P. C., Becnel J., Belaganahalli S., Bergoin M., Brussaard C. P. et al. Family Reoviridae. 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. 1<sup>st</sup> ed. London: Elsevier; 2012: 541–637.
14. Урываев Л. В., Львов Д. К. Реовирусы. В кн.: Львов Д.К., ред. Медицинская вирусология. М.: МИА; 2008: 202–6.
15. Dilcher M., Hasib L., Lechner M., Wieseke N., Middendorf M., Marz M. et al. Genetic characterization of Tribec virus and Kemerovo vi-

rus, two tick-transmitted human-pathogenic Orbiviruses. Virology. 2012; 423 (1): 68–76.

16. Belhouchet M., Mohd Jaafar F., Tesh R., Grimes J., Maan S., Mertens P. P. et al. Complete sequence of Great Island virus and comparison with the T2 and outer-capsid proteins of Kemerovo, Lipovnik and Tribec viruses (genus Orbivirus, family Reoviridae). J. Gen. Virol. 2010; 91 (12): 2985–93.

#### REFERENCES

1. L'vov D.K., Gromashevskii V.L., Sidorova G.A., Tsirkin Yu.M., Chervonskii V.I. Isolation of a new Baku arbovirus of the Kemerovo group from argasid *Ornithodoros coniceps* ticks in Azerbaijan. Voprosy virusologii. 1971; 4: 434–7 (in Russian).
2. Baku. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 203.
3. Gromashevsky V.L., Lvov D. K., Sidorova G. A., Tsirkin Y. M., Fomina K. B., Aristova V. A. et al. A complex natural focus of arboviruses on Glinyanyi Island, Baku Archipelago, Azerbaidzhan S.S.R. Acta Virol. 1973; 17 (2): 155–8.
4. Mirzoeva N.M. Results of study of arboviruses in Azerbaidzhan (1967–1976 гг.). Arboviruses. 1978; 3: 27–31 (in Russian).
5. Lvov D. K., Timopheeva A. A., Smirnov V. A., Gromashevsky V. L., Sidorova G. A., Nikiforov L. P. et al. Ecology of tick-borne viruses in colonies of birds in the USSR. Med. Biol. 1975; 53 (5): 325–30.
6. Sidorova G.A., Zhmaeva Z.M., Gromashevsky V.L. Isolation of Baku virus from ticks *Ornithodoros coniceps*, collected in nesting seats of pigeon in Tashkent region. Ecology of Viruses. 1974; 2: 102–5 (in Russian).
7. Sidorova G.A., Andreev V.P. Some properties of new arboviruses, isolated in Uzbekistan and Turmenistan. Ecology of Viruses. 1980; 108–14 (in Russian).
8. Andreev V.P., Gromashevsky V.L., Veselovskaya O.V. Isolation of Baku virus in Western part of Turkmen SSR. Ecology of Viruses. 1973; 96–103 (in Russian).
9. Sarkisyan B.G., Novochatsky A. C., L'vov D. K. Orbiviruses. Uspechi sovremennoi biologii AN USSR. 1979; 5: 210–25 (in Russian).
10. Lvov D. K. Arboviruses in the USSR. In: Vasenjak-Hirjan J., Porterfield J.S., eds. Arboviruses in the mediterranean countries. 1<sup>st</sup> ed. New York: Gustav Fischer Verlag; 1980: 35–48.
11. Lvov D. K. Ecological soundings of the former USSR territory for natural foci of arboviruses. eds. Sov. Med. Rev. Virol. UK: Harwood Academ. Pub. GmbH; 1993: 1–47.
12. Lvov D. K. Natural foci of arboviruses in the USSR. In: Zhdanov V.M., eds. Sov. Med. Rev. Virol. UK: Harwood Academ. Pub. GmbH; 1987: 153–96.
13. Attoui H., Mertens P. P. C., Becnel J., Belaganahalli S., Bergoin M., Brussaard C. P. et al. Family Reoviridae. 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. 1<sup>st</sup> ed. London: Elsevier; 2012: 541–637.
14. Uryvaev L.V., Lvov D.K. Reoviruses. In: Lvov D.K., ed. Medical virology. Moscow: MIA; 2008: 202–6 (in Russian).
15. Dilcher M., Hasib L., Lechner M., Wieseke N., Middendorf M., Marz M. et al. Genetic characterization of Tribec virus and Kemerovo virus, two tick-transmitted human-pathogenic Orbiviruses. Virology. 2012; 423 (1): 68–76.
16. Belhouchet M., Mohd Jaafar F., Tesh R., Grimes J., Maan S., Mertens P. P. et al. Complete sequence of Great Island virus and comparison with the T2 and outer-capsid proteins of Kemerovo, Lipovnik and Tribec viruses (genus Orbivirus, family Reoviridae). J. Gen. Virol. 2010; 91 (Pt 12): 2985–93.

Поступила 23.05.13