

- Flavivirus, Tiulenii antigenic group), isolated from Ixodes lividus ticks. *Voprosy Virusologii*. 1998 Mar-Apr; 43 (2):71-4 (in Russian).
15. 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 (in Russian).
  16. Lvov S.D. Natural virus foci in high latitudes of Eurasia. In: *Sov. Med. Rev. Sec. E: Virol. Rev.* Harwood (USA): Ac. Publ. GmbH; 1993; 3: 137-85.
  17. Lvov S.D. Arboviruses in high latitudes. In: Lvov D.K., Klimenko S.M., Gaidamovich S.Y. (reds.) *Arboviruses and arbovirus infection*. M.: Meditsina; 1989: 269-89 (in Russian).
  18. Lvov D.K., Gromashevski V.L., Skvortsova T.M., Berezina L.K., Gofman Y.P., Zhdanov V.M., et al. Arboviruses of high latitudes in the USSR. In: Kurstak E., Ed. *Arctic and tropical arboviruses*. New York, San-Francisco, London: Harcourt Brace Jovanovich Publ.; 1979; 21-38.
  19. Lvov D.K. Natural foci of arboviruses, associated with the birds in USSR. In: Lvov D.K., Ilyichev V.D. *Migration of the birds and transduction of contagium*. M.: Nauka; 1979; 37-101 (in Russian).
  20. Timofeeva A.A., Pogrebenko A.G., Gromashevskii V.L., Scherbina P.D., Evseeva T.H., Lybov D.K., Sazonov A.A. Natural foci of infection on the Iona island in Okhotsk sea. *Zoologicheskij Journal*. 1974; 53 (6): 906-11 (in Russian).
  21. Lvov D.K., Deryabin P.G., Aristova V.A., Butenko A.M., Galkina I.V., Gromashevsky V.L. et al. Atlas of distribution of natural-focal viruses infection on the territory of Russian Federation. M.: Minzdrav RF; 2001 (in Russian).
  22. Schelkanov M. Yu., Gromashevsky V. L., Lvov D.K. The role of ecovirological zoning in prediction of the influence of climatic changes on arbovirus habitats. *Vestnik Ross. Acad. Med. Nauk*. 2006; (2): 22-5 (in Russian).
  23. 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).
  24. 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).
  25. 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.
  26. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. and Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011; 28 (10): 2731-9.
  27. Clifford C.M., Yunker C.E., Thomas L.A., Easton E.R., Corwin D. Isolation of a group B arbovirus from Ixodes uriae collected on Three Arch Rocks national wildlife refuge, Oregon. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1971; 20 (3): 461-8.
  28. Balashov Yu.S., Bloodsucking ticks (Ixodoidea) – vectors of diseases of men and animals. In: Hoogstraal H., ed. *Medical zoology dep.* USA Nav. Med. Res. Unit. Cairo (Egypt); 1968.
  29. Lvov D.K. Ecology of the Viruses. In: Lvov D.K., ed. *Guidance on Virology. Viruses and viral Infections*. M.: MIA; 2013: 68-86 (in Russian).
  30. Clifford C.M. Tick-borne viruses in sea-birds. In: Kurstak E., ed. *Arctic and tropical arboviruses*. New York, San-Francisco, London: Harcourt Brace Jovanovich Publ.; 1979: 83-100.
  31. Thomas L.A., Clifford C.M., Yunker C.E., Keirans J.E., Patzer E.R., Monk G.E., Eaton E.R. Tick-borne viruses in western North America. I. Viruses isolated from Ixodes uriae in coastal Oregon in 1970. *J. Med. Entomol.* 1973;10 (2): 165-8.
  32. Berezina L.K., Smirnov V.A., Zelensky V.A. Experimental infection of birds with Tuleenii virus. In: Lvov D.K., ed. *Ecology of Viruses*. M.: Russian Acad. Med. Nauk; 1974: 13-7 (in Russian).
  33. Votyakov V.I., Voinov I.N., Samoilova T.I., Leshko S.T., Gembitskii A.S., Smirnov V.A. Isolation of arboviruses from colonial birds in Barentsev sea. In: *Proceeding of the symposium for ecology of the viruses, associated with birds*. Minsk; 1974: 42-4 (in Russian).
  34. Lvov S.D. Concept of circumpolar distribution of arboviruses. In: *Proceeding of 18 Congress of Society of Microbiologists, Epidemiologists and Parasitologists*. Alma-Ata; 1989: 224-5 (in Russian).
  35. Efremova G.A. The role of the swallows nests inhabitants in reservation of natural-focal infections. In: *Proceeding 12th All-Union conference for natural-focal illness*. Novosibirsk, 1989: 79-80 (in Russian).
  36. Babenko L.V. Ixodes lividus Koch as a representative of ixodes ticks of hole-asylum complex. In: *Cognition of Flora and Fauna of USSR*. 1956; Vol. 3: 21-105 (in Russian).
  37. Filippova N.A. Fauna of USSR. M.; L.: AS USSR; 1966; 4 (3): Arachnida. Argas ticks (Argasidae) (in Russian).
  38. Filippova N.A. Fauna of USSR. L.: Nauka; 1977: 4 (4): Arachnida. Ixodes ticks subfamily Ixodinae (in Russian).
  39. Lvov D.K., ed. *Organization of ecological-epidemiological monitoring in Russian Federation for anti-epidemic defense civilians and army*. M.: Minzdrav RF, The Federal Office of Biomedical and Extreme Problems, The D.I. Ivanovsky Institute of Virology; 1993 (in Russian).

Получила 26.09.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 578.833.11:578.5].083.2

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

## Генетическая характеристика вируса Каспий (CASV – *Caspiy virus*) (*Bunyaviridae*, *Nairovirus*), изолированного от чайковых (*Laridae* Vigors, 1825) и крачковых (*Sternidae* Bonaparte, 1838) птиц и аргасовых клещей *Ornithodoros Capensis* Neumann, 1901 (*Argasidae* Koch, 1844), на западном и восточном побережьях Каспийского моря

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

Полногеномное секвенирование вируса Каспий (CASV – *Caspiy virus*) (ID GenBank KF801658) показало его принадлежность к роду *Nairovirus* сем. *Bunyaviridae* в качестве самостоятельного вида. CASV формирует отдельную ветвь, наиболее близкую к вирусам групп Хьюз (HUGV – *Hughes virus*) и Сахалин (SAKV – *Sakhalin virus*), представители которых связаны с морскими птицами и паразитирующими на них клещами и распространены в шельфовых и островных экосистемах Северной Евразии, а также Северной и Южной Америки.

Ключевые слова: колониальные морские птицы; чайковые – *Laridae*; крачковые – *Sternidae*; *Argasidae*; *Ornithodoros*; *Bunyaviridae*; *Nairovirus*; вирус Каспий – CASV; Каспийское море; метагеномный анализ

Контактная информация:

Львов Дмитрий Константинович, акад. РАН; e-mail: dk\_lvov@mail.ru

**Genetic characterization of the *Caspiy virus* (CASV) (Bunyaviridae, Nairovirus) isolated from the Laridae (Vigors, 1825) and Sternidae (Bonaparte, 1838) birds and the Argasidae (Koch, 1844) ticks *Ornithodoros capensis* Neumann, 1901, in Western and Eastern coasts of the Caspian sea**

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

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

**Full-genome sequencing of the Caspiy virus (CASV – *Caspiy virus*) (ID GenBank KF801658) revealed its attribution to the *Nairovirus* genus of the *Bunyaviridae* family as a separate species. CASV forms separate line, which is the most close to the *Hughes virus* (HUGV) and *Sakhalin virus* (SAKV) groups containing viruses linked with seabirds and ticks parasitizing on them and distributed over the shelf and island ecosystems in the Northern Eurasia, as well as the North and South America.**

**Key words:** colonial seabirds; gulls – *Laridae*; terns – *Sternidae*; *Argasidae*; *Ornithodoros*; *Bunyaviridae*; *Nairovirus*; *Caspiy virus* – CASV; Caspian sea; metagenomic analysis

Прототипный штамм LEIV-63Az (депонент Государственной коллекции вирусов РФ № ГКВ-721; авторы Львов Д.К., Громашевский В.Л., Сидорова Г.А., Скворцова Т.М.) изолирован в 1970 г. из крови больной сеголетней серебристой чайки (*Larus argentatus* Pontoppidan, 1763), добытой на острове Глиняный Бакинского архипелага у западного побережья Каспийского моря (40°17' с.ш., 49°55' в.д.) в Азербайджане [1–4]. На основании данных электронной микроскопии и отрицательных результатов изучения антигенных связей с известными буньявирусами CASV был отнесен к неклассифицированным вирусам сем. *Bunyaviridae* [2–5]. В этот же период в этом же биоценозе были изолированы три штамма CASV из клещей *Ornithodoros capensis* Neumann, 1901 (*Argasidae* Koch, 1844) (обследовано 1479 особей). Два штамма CASV были выделены в 1974 г. из клещей *O. capensis* (обследовано 2019 особей), собранных в гнездовой колонии речных крачек (*Sterna hirundo* Linnaeus, 1758) на островах в заливе Кара-Богаз-Гол на восточном побережье Каспийского моря (41°02' с.ш., 52°53' в.д.) в Туркмении. Таким образом, всего изолировано пять штаммов CASV при уровне вирусофорности клещей *O. capensis* порядка 0,21% в Азербайджане и 0,1% в Туркмении [6, 7].

В настоящей работе мы впервые секвенировали геном прототипного штамма CASV/LEIV-63Az с использованием метода полногеномного секвенирования. В результате проведенного молекулярно-генетического и филогенетического анализа показано, что CASV является новым представителем рода *Nairovirus* сем. *Bunyaviridae*.

### **Материалы и методы**

**Прототипный штамм CASV/LEIV-63Az** 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, одобренными комиссией Института по этике экспериментов с животными.

**Выделение РНК.** Фрагменты мозга (около 10 мг) помещали в 350 мкл лизирующего буфера RLT (QIAGEN, Германия) и гомогенизировали в гомогенизаторе TissueLyser LT (QIAGEN, Германия). Далее РНК выделили 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.** Для деплеции рибосомальной РНК использовали набор GenRead rRNA depletion Kit (QIAGEN, Германия) в соответствии с инструкцией. Для получения кДНК 50 нг деплецированной РНК фрагментировали в 15 мкл реакционной смеси для обратной транскриптазы с гексапраймером 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 в течение 10 мин, далее при 42°C в течение 60 мин. Реакцию останавливали прогреванием при 70°C в течение 10 мин. Синтез второй цепи кДНК проводили с использованием набора “NEBNext<sup>®</sup> mRNA Second Strand Synthesis Module” (NEB, США) в соответствии с инструкцией. Полученную дцДНК очищали с помощью 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 определяли методом полимеразной цепной реакции 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). Секвенирование ДНК-библиотек проводили на приборе MiSeq (“Illumina”, США) с использованием набора “MiSeq Reagent Kits v2 (300PE)” по схеме, описанной ранее [8, 9].

**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, США). Последовательности выравнивали по алгоритму ClustalW [10]. Филогенетический анализ и построение дендрограмм проводили с применением программы MEGA5 по методу ближайшего соседа с 1000-кратным бутстреп-тестированием [11]. Поиск сайтов гликозилирования, сайтов нарезания сигнального пептида и трансмембранных доменов проводили с помощью on line ресурсов NetNGlyc 1.0, SignalP и TMHMM 2.0 соответственно (сайт CBS Prediction Servers <http://www.cb.sdtu.dk/services>).

## Обсуждение

При анализе данных полногеномного секвенирования CASV (с использованием сервиса BLASTX) определили три протяженные последовательности, обладающие гомологией с вирусами рода *Nairovirus* (*Bunyaviridae*). Всего обнаружили три последовательности длиной 1594, 4520 и 11 880 н.о., соответствующие трем геномным сегментам наиовирусов – S, M и L соответственно. После анализа транслируемых областей установили, что мы определили практически полную последовательность генома CASV, состоящего из трех сегментов РНК негативной полярности, каждый из которых имеет одну протяженную открытую рамку считывания (ОРС). При дальнейшем анализе определили, что размер и структура генома CASV является характерной для вирусов рода *Nairovirus* [12].

S-сегмент CASV длиной около 1594 н.о. имеет одну ОРС длиной 497 аминокислотных остатков (а.о.), которая кодирует белок нуклеокапсида (N). В ОРС S-сегмента CASV в позиции 7 расположен дополнительный стартовый кодон, который не встречается у других наиовирусов. Размер белка N CASV соответствует размеру у других наиовирусов (в среднем 480–500 а.о., за исключением размера белка N у вируса Эрве (ERVEV – *Erve virus*), у которого она составляет 630 а.о.) [13]. Идентичность аминокислотной последовательности белка N CASV с другими наиовирусами достигает 28% (табл. 1). В белке N CASV обнаружили мотив <sup>277</sup>DEVD<sub>280</sub>, который является сайтом расщепления для каспазы-3. Этот мотив консервативен для штаммов вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) и не встречается у других наиовирусов с известной последовательностью данного белка. Расщепление белка N ККГЛ каспазой-3 является необходимым для репликации ККГЛ. Нужно отметить, что каспазные сайты расщепления в нуклеокапсидном белке также нужны для репликации “человеческих” вирусов гриппа А [14, 15].

M-сегмент CASV, как и у других наиовирусов, имеет одну протяженную ОРС, кодирующую полипротеин-предшественник оболочечных белков Gn и Gc. M-сегмент CASV кодирует полипротеин длиной 1376 а.о. Согласно результатам анализа полипротеина в программе SignalP server 4.1, первые 32 а.о. являются сигнальным пептидом и отщепляются по сайту SSA/SY. Предполагаемый сайт нарезания полипротеина сигнальной пептидазой, что приводит к образованию белков ргеGn и ргеGc, определен в позиции 699 (VSG/IK). Эти данные подтверждаются расположением трансмембранных доменов в зрелых белках Gn и Gc, что определено с исполь-

Таблица 1

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

| Вирус   | RdRp (L-сегмент) | Gc/Gn (M-сегмент) | N (S-сегмент) |
|---|------------------|-------------------|---------------|
| ККГЛ (CCHFV – <i>Crimean-Congo hemorrhagic fever virus</i> )      | 41,0             | 27,3              | 28,4          |
| Болезни овец Найроби (NSDV – <i>Nairobi sheep disease virus</i> ) | 41,7             | 25,2              | 28,4          |
| Дугбе (DUGV – <i>Dugbe virus</i> )                                | 41,7             | 25,4              | 28,1          |
| Ерве (ERVEV – <i>Erve virus</i> )                                 | 38,8             | 25,9              | 26,9          |
| Иссык-Куль (ISKV – <i>Issyk-Kul virus</i> )                       | 43,0             | 27,3              | 28,7          |

зованием программы TMHMM server 2.0. В дальнейший процессинг белков Gn и Gc наиовирусов, возможно, вовлечены протеазы эндоплазматического ретикулума, в частности протеаза SKI-1. Сайт расщепления в ргеGn для SKI-1 <sup>365</sup>RKLL<sub>368</sub> у CASV имеет такую же структуру, как у вируса ККГЛ [16]. Шесть потенциальных сайтов N-гликозилирования обнаружили в белке Gn CASV и только один в белке Gc. В целом уровень идентичности полипротеина CASV составляет 25–27% с другими наиовирусами (см. табл. 1).

L-сегмент CASV имеет одну протяженную ОРС длиной 4001 а.о. L-сегмент буньявирусов кодирует фермент РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp), который является наиболее консервативным вирусным белком. Уровень идентичности полной последовательности RdRp CASV с наиовирусами составляет 38,8–43% (см. табл. 1).

Филогенетический анализ провели методом присоединения соседей на основе сравнения полноразмерных аминокислотных последовательностей белков буньявирусов. На рис. 1, а–в, видно, что CASV практически равноудален от других наиовирусов и является, таким образом, новым представителем рода *Nairovirus*.

В настоящее время полные последовательности генома определены только для наиовирусов, входящих в серогруппы ККГЛ (вирусы ККГЛ и Хазара), Дугбе (вирусы Дугбе, болезни овец Найроби, Купе) и Тиафора (Тиафора и Эрве). Также мы ранее секвенировали геном нового наиовируса Иссык-Куль, который пока не включен ни в одну серогруппу. Для остальных наиовирусов, объединенных в серогруппы Кальюб (Кальюб и Бандиа), Хьюз (Хьюз, Фараллон и Раза), Дера-Гhazi-Хан (Дера-Гhazi-Хан, Абу-Минас и Абу-Хаммад) и Сахалин (Сахалин и Тилламук) доступны только короткие (118 а.о.) последовательности каталитического центра RdRp [17]. Данный участок, помимо каталитического домена RdRp

Таблица 2

Уровень (в %) гомологии каталитического центра RdRp (118 а.о.) CASV с наиовирусами различных серогрупп

| Серогруппа  | Вирус  | Идентичность, % |
|---|--|-----------------|
| ККГЛ  | ККГЛ (CCHFV – <i>Crimean-Congo hemorrhagic fever virus</i> ) | 59,088          |
| Тиафора (TFAV – <i>Thiafora virus</i> )               | Ерве (ERVEV – <i>Erve virus</i> )                            | 53,437          |
| Дугбе   | Дугбе (DUGV – <i>Dugbe virus</i> )                           | 59,088          |
| Дера-Гhazi-Хан (DGKV – <i>Dera Ghazi Khan virus</i> ) | Абухаммад (ABUHV – <i>Abu hammad virus</i> )                 | 66,499          |
|   | Абумина (ABUMV – <i>Abu mina virus</i> )                     | 69,514          |
| Сахалин (SAKV – <i>Sakhalin virus</i> )               | Тилламук (TILLV – <i>Tillamook virus</i> )                   | 74,346          |
| Кальюб (QYBV – <i>Qalyub virus</i> )                  | Бандиа (BDV – <i>Bandia virus</i> )                          | 63,390          |
|   | Кальюб (QYBV – <i>Qalyub virus</i> )                         | 61,262          |
| Хьюз (HUGV – <i>Hughes virus</i> )                    | Фараллон (FARV – <i>Farallon virus</i> )                     | 80,741          |
|   | Пунта-Салинас (PSV – <i>Punta Salinas virus</i> )            | 78,955          |
| Иссык-Куль (ISKV – <i>Issyk-Kul virus</i> )           | Раза (RAZAV – <i>Raza virus</i> )                            | 81,622          |
|   | Иссык-Куль (ISKV – <i>Issyk-Kul virus</i> )                  | 55,736          |

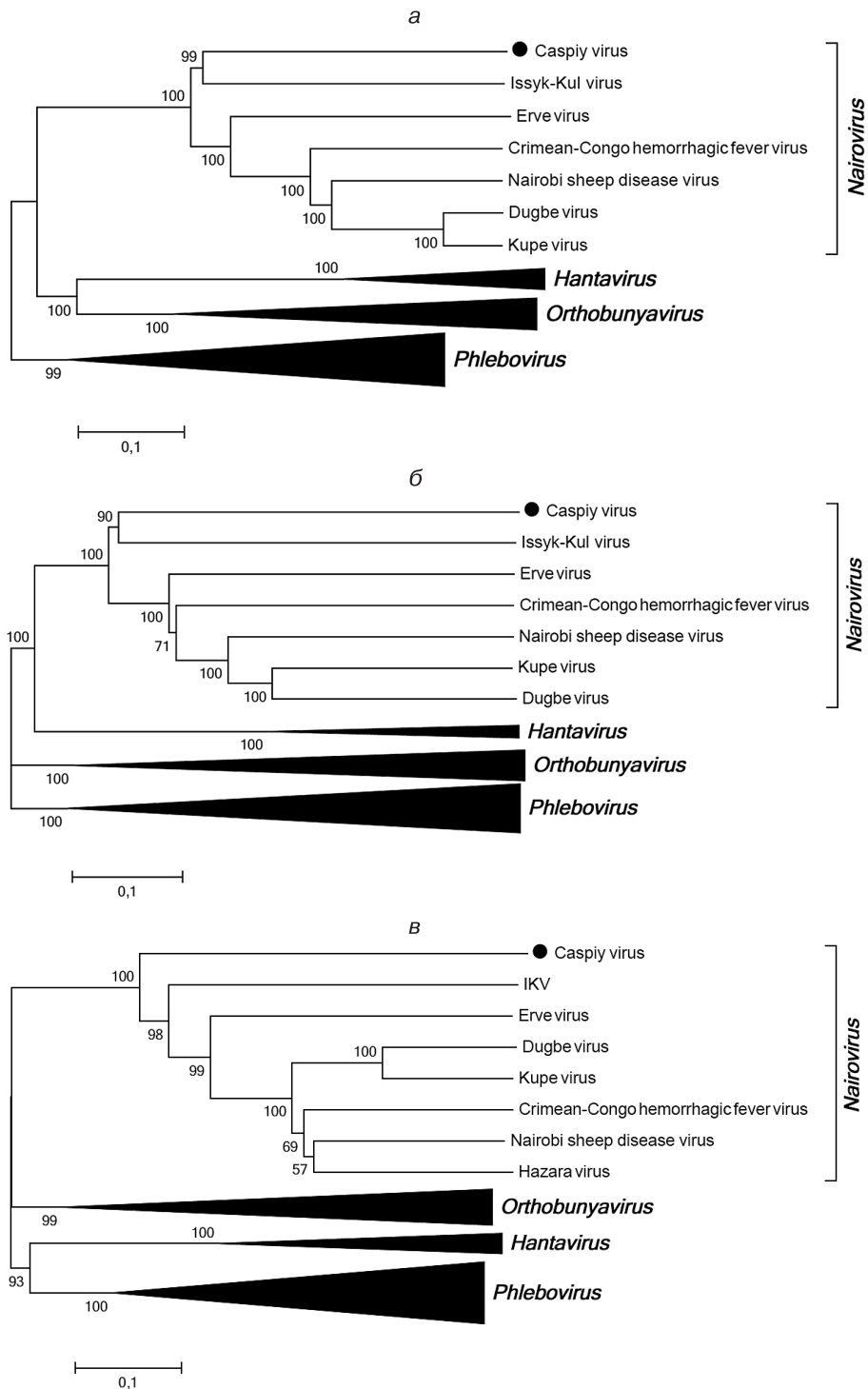


Рис. 1. Дендрогаммы, построенные на основе сравнения полноразмерных аминокислотных последовательностей белков буньявирусов животных: RdRp (а); структурных белков оболочки Ge/Gn (б); белка нуклеокапсида N (в).

у наировирусов, включает последовательность, гомологичную семейству домена опухоли яичника (OUT – от англ. ovarian tumor domain). Данный домен наировирусов обладает способностью деубиквитировать белки, что приводит к подавлению зависимых от убиквитина (Ub) сигнальных путей в инфицированной клетке. По этому механизму, вероятно, происходит подавление наировирусами системы врожденного иммунитета, основанного на продукции интерферонов 1-го типа (ИФН- $\alpha$  и ИФН- $\beta$ ) и фактора некроза опухоли (ТНФа) на ранней стадии инфекции. Данный домен у наировирусов до-

статочно консервативен [18, 19]. В данном регионе максимальным (80%) уровнем идентичности белков CASV обладает с вирусами серогруппы Хьюз (табл. 2). Также CASV близок к вирусам группы Сахалин (74%). На рис. 2, построенном на основе сравнения данного участка, видно, что разделение ветвей в целом соответствует разделению наировирусов на серогруппы, которое провели на основе перекрестных серологических реакций. CASV формирует отдельную ветвь, близкую к вирусам группы Hughes и Sakhalin (см. рис. 2). Следует отметить, что вирусы серогруппы Хьюз изолировали на террито-

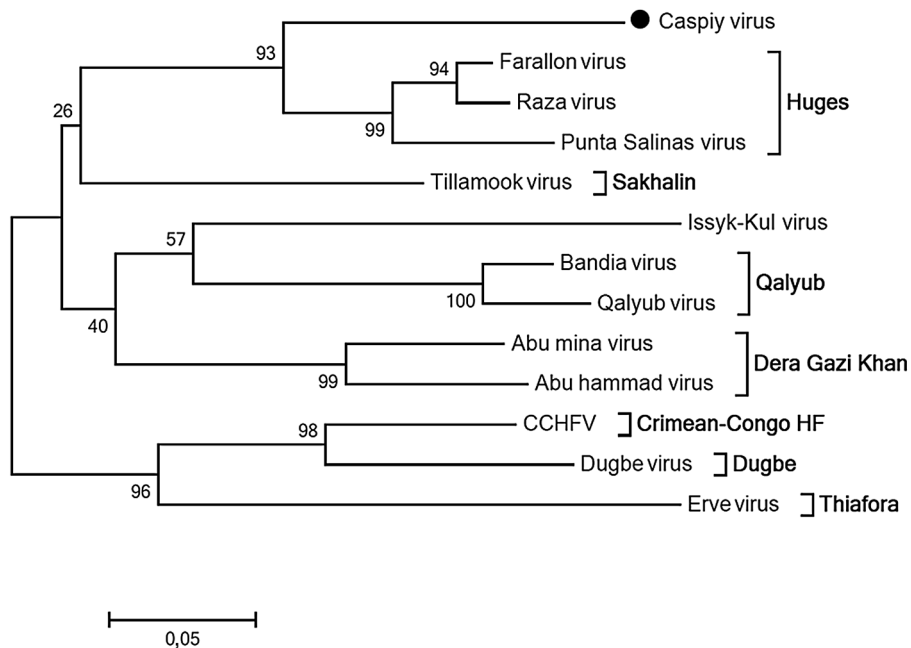


Рис. 2. Дендрограмма, построенная на основе сравнения консервативного участка (118 а.о.) каталитического центра RdRp наириовирусов. Справа указаны антигенные группы.

рии Северной и Южной Америки от клещей *Ornithodoros (Carios) spp.* (так же, как и CASV), которые связаны с морскими птицами [20, 21]. Таким образом, генетическая близость CASV к вирусам группы Хьюз отражает их общие экологические особенности и позволяет сделать вывод об их общем происхождении.

В период изоляции штаммов на островах Бакинского архипелага в 1970 г. среди серебристых чаек наблюдалась эпизоотия и CASV был изолирован от большой сеголетней особи. Для чаек характерны кормовые миграции, в том числе от западного к восточному побережью Каспийского моря. При этом вполне реален обмен вирусами, связанными с чайками и их облигатными паразитами – аргасовыми клещами.

Клещи *O. capensis* населяют побережья и острова от юга умеренного пояса до экватора бассейнов Атлантического, Индийского и Тихого океанов, а также некоторых крупных внутренних водоемов [22, 23]. Облигатные паразиты морских птиц – аргасовые клещи группы *O. capensis* (*O. amblus* Chamberlin, 1920; *O. capensis* Neumann, 1901; *O. denmarki* Kohls, Sonenshine, Clifford, 1965; *O. maritimus* Vermeil, Marguet, 1967; *O. muesebecki* Hoogstraal, 1969; *O. sawaii* Kitaoka, Suzuki, 1973) – замещают на юге умеренного пояса, в субтропиках, тропиках, субэкваториальном и экваториальном поясах иксодовых клещей *Ixodes (Ceratiixodes) uriae* White, 1852, распространенных на севере умеренного пояса, субарктике–субантарктике [22–24]. Клещи паразитируют на многих видах птиц, преимущественно на ржанкообразных (*Charadriiformes* Nuxley, 1867) – чайковых (*Laridae* Vigors, 1825) и крачковых (*Sternidae* Bonaparte, 1838), а также на пеликанообразных (*Pelecaniformes* Sharpe, 1891) – бакланов (*Phalacrocoracidae* Reichenbach, 1850) и пеликанов (*Pelecanidae* Rafinesque, 1815) [23, 24]. Цикл метаморфоза этих аргасид, включающий стадии яйца, личинки, 3–5 стадий нимфы, имаго, занимает, по данным лабораторного изучения, от 43 до 83 сут, т.е. может быть завершен на протяжении одного гнездового сезона птиц. Приведенные особенности экологии аргасовых клещей группы *O. capensis* обеспечивают стабильность

природных очагов адаптированных к этим клещам вирусов и возможность их трансконтинентального переноса [4].

К наириовирусам относятся такие важные патогены людей и животных, как возбудители ККГЛ, Иссykk-Кульской лихорадки и болезни овец Найроби. Наириовирусы, особенно связанные с птицами и летучими мышами, обладают высоким потенциалом в плане возникновения новых и вновь возвращающихся природно-очаговых инфекций. В настоящей работе охарактеризован геном CASV – нового вида в составе рода *Nairovirus* (*Bunyaviridae*). Полученные данные позволяют расширить количество известных наириовирусов до 9 (включая описанный ранее вирус Иссykk-Куль) и дополнить сведения об их генетическом разнообразии.

Зондирование территории Закавказья и Средней Азии проводили в рамках Программы по биобезопасности и изучению биоразнообразия в различных экосистемах Северной Евразии [4, 5, 25, 26].

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

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Львов Д.К., Громашевский В.Л., Сидорова Г.А., Скворцова Т.М., Андреев В.П., Веселовская О.В. и др. Предварительные данные по изоляции трех новых арбовирусов на Кавказе и в Средней Азии. В кн.: Львов Д.К., ред. Экология вирусов. М.: АМН СССР; 1974; вып. 2: 80–1.
2. Львов Д.К., Тимофеева А.А., Громашевский В.Л. Новые арбовирусы, изолированные в СССР в 1969–1975 гг. В кн.: Материалы 18-й сессии Института полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР. М.; 1975: 322–4.
3. Lvov D.K. Natural foci of arboviruses in the USSR. In: Sov. Med. Rev. Virol. UK: Harwood Ac. Publ. GmbH; 1987; 1: 153–96.
4. Львов Д.К. Природные очаги связанных с птицами арбовирусов СССР. В кн.: Львов Д.К., Ильичев В.Д. Миграции птиц и перенос возбудителей инфекции. М.: Наука; 1979: 37–101.
5. Lvov D.K. Ecological sounding of the USSR territory for natural foci of arboviruses. In: Sov. Med. Rev. Ser. E: Virology Reviews. USA: Harwood Ac. Publ. GmbH; 1993; 5: 1–47.
6. Lvov D.K., Timopheeva A.A., Smirnov V.L., 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: 325–30.
7. Сидорова Г.А., Андреев В.П. Некоторые черты экологии новых арбовирусов, выделенных в Узбекистане и Туркмении. В кн.: Львов Д.К., ред. Экология вирусов. М.: АМН СССР; 1980: 108–14.
8. Альховский С.В., Щетинин А.М., Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г., Львов Д.Н. и др. Вирус Хурдун (KHURV): новый вирус рода Orthobunyaviridae (Bunyaviridae). Вопросы вирусологии. 2013; 58 (4): 10–3.
9. 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 et Fanzago, 1878 и *Dermacentor marginatus* Sulzer, 1776 в Закавказье. Вопросы вирусологии. 2013; 58 (4): 14–9.
10. 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.
11. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA 5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol. Biol. Evol. 2011; 28 (10): 2731–9.

12. *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. 1<sup>st</sup> ed. London: Elsevier; 2012: 725–41.
13. *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.
14. *Wang Y., Dutta S., Karlberg H., Devignot S., Weber F., Hao Q.* et al. Structure of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus nucleoprotein: superhelical homo-oligomers and the role of caspase-3 cleavage. *J. Virol.* 2012; 86 (22): 12294–303.
15. *Zhirnov O.P., Syrtzev V.V.* Influenza virus pathogenicity is determined by caspase cleavage motifs located in the viral proteins. *J. Mol. Genet. Med.* 2009; 3 (1): 124–32.
16. *Altamura L.A., Bertolotti-Ciarlet A., Teigler J., Paragas J., Schmaljohn C.S., Doms R.W.* Identification of a novel C-terminal cleavage of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus PreGN that leads to generation of an NSM protein. *J. Virol.* 2007; 81 (12): 6632–42.
17. *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.
18. *Frias-Staheli N., Giannakopoulos N.V., Kikkert M., Taylor S.L., Bridgen A., Paragas J.* et al. Ovarian tumor domain-containing viral proteases evade ubiquitin- and ISG15-dependent innate immune responses. *Cell Host Microbe.* 2007; 2 (6): 404–16.
19. *Bergeron E., Albarino C.G., Khristova M.L., Nichol S.T.* Crimean-Congo hemorrhagic fever virus-encoded ovarian tumor protease activity is dispensable for virus RNA polymerase function. *J. Virol.* 2010; 84 (1): 216–26.
20. *Gould E.A., Chanas A.C., Buckley A., Varma M.G.* Immunofluorescence studies on the antigenic interrelationships of the Hughes virus serogroup (genus Nairovirus) and identification of a new strain. *J. Gen. Virol.* 1983; 64 (3): 739–42.
21. *Clifford C.M.* Tick-borne viruses in sea-birds. In: Kurstak E., ed. Arctic and tropical arboviruses. New York et al.: Harcourt Brace Jovanovich Publ.; 1979: 83–100.
22. *Филппова Н.А.* Паразитирующие на птицах клещи рода Ornithodoros Koch. Паразитологический сборник Зоологического института АН СССР. 1963; 21: 16–27.
23. *Филппова Н.А.* Фауна СССР. М.–Л.: АН СССР; 1966; 4 (3): Паукообразные. Аргасовые клещи (Argasidae).
24. *Hoogstraal H., Korser M.N., Taylor M.A., Gaber S., Guindy E.* Ticks (Ixodoidea) on birds migrating from Africa to Europe and Asia. *Bull. WHO.* 1961; 24: 197–212.
25. *Львов Д.К.*, ред. Организация эколого-эпидемиологического мониторинга территории Российской Федерации с целью противоэпидемической защиты населения и войск: Методические рекомендации. М.: МЗ РФ, Федеральное Управление медико-биологических и экстремальных проблем, НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН; 1993.
26. *Щелканов М.Ю., Громашевский В.Л., Львов Д.К.* Роль эколого-вирусологического районирования в прогнозировании влияния климатических изменений на ареалы арбовирусов. *Вестник РАМН.* 2006; 2: 22–5.
7. *Sidorova G.A., Andreev V.P.* Some features of the new arboviruses, isolated in Uzbekistan and Turkmenia. In.: Lvov D.K., red. Ecology of the Viruses. M.: AMS USSR; 1980: 108–14 (in Russian).
8. *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).
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).
10. *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. *Nucleic Acids Res.* 1994; 22 (22): 4673–80.
11. *Tamura K., Peterson D., 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.
12. *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. 1<sup>st</sup> ed. London: Elsevier; 2012: 725–41.
13. *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.
14. *Wang Y., Dutta S., Karlberg H., Devignot S., Weber F., Hao Q.* et al. Structure of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus nucleoprotein: superhelical homo-oligomers and the role of caspase-3 cleavage. *J. Virol.* 2012; 86 (22): 12294–303.
15. *Zhirnov O. P., Syrtzev V. V.* Influenza virus pathogenicity is determined by caspase cleavage motifs located in the viral proteins. *J. Mol. Genet. Med.* 2009; 3 (1): 124–32.
16. *Altamura L.A., Bertolotti-Ciarlet A., Teigler J., Paragas J., Schmaljohn C.S., Doms R.W.* Identification of a novel C-terminal cleavage of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus PreGN that leads to generation of an NSM protein. *J. Virol.* 2007; 81 (12): 6632–42.
17. *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.
18. *Frias-Staheli N., Giannakopoulos N.V., Kikkert M., Taylor S.L., Bridgen A., Paragas J.* et al. Ovarian tumor domain-containing viral proteases evade ubiquitin- and ISG15-dependent innate immune responses. *Cell Host Microbe.* 2007; 2 (6): 404–16.
19. *Bergeron E., Albarino C.G., Khristova M. L., Nichol S.T.* Crimean-Congo hemorrhagic fever virus-encoded ovarian tumor protease activity is dispensable for virus RNA polymerase function. *J. Virol.* 2010; 84 (1): 216–26.
20. *Gould E.A., Chanas A.C., Buckley A., Varma M.G.* Immunofluorescence studies on the antigenic interrelationships of the Hughes virus serogroup (genus Nairovirus) and identification of a new strain. *J. Gen. Virol.* 1983; 64(3): 739–42.
21. *Clifford C.M.* Tick-borne viruses in sea-birds. In: Kurstak E., ed. Arctic and tropical arboviruses. New York et al.: Harcourt Brace Jovanovich Publ.; 1979: 83–100.
22. *Filippova N.A.* Birds parasitizing ticks Ornithodoros Koch. Digest of Parasitology of the Zoological Institute AS USSR. 1963; 21: 16–27 (in Russian).
23. *Filippova N.A.* Fauna of USSR. M.–L.: AS USSR; 1966; 4 (3): Arachnida. Argas ticks (Argasidae) (in Russian).
24. *Hoogstraal H., Korser M.N., Taylor M.A., Gaber S., Guindy E.* Ticks (Ixodoidea) on birds migrating from Africa to Europe and Asia. *Bull. WHO.* 1961; 24: 197–212.
25. *Lvov D.K.*, ed. Organization of ecological-epidemiological monitoring in Russian Federation for anti-epidemic defense of the civilians and army. M.: Minzdrav RF, Federal'noe upravlenie mediko-biologicheskikh i ekstremal'nykh problem. NII virusologii imeni D.I. Ivanovskogo RAMN; 1993 (in Russian).
26. *Schelkanov M.Yu., Gromashevskiy V.L., Lvov D.K.* The role of ecovirological zoning in prediction of the influence of climatic changes on arbovirus habitats. *Vestn. Ross. Acad. Med. Nauk.* 2006; 2: 22–5 (in Russian).

## REFERENCES

1. *Lvov D.K., Gromashevskiy V.L., Sidorova G.A., Skvortsova T.M., Andreev V.P., Veselovskaya O.V.* et al. Preliminary dates about isolation of three of new arboviruses in Caucasus and Central Asia. In.: Lvov D.K., red. Ecology of the viruses. M.: AMS USSR; 1974; vol. 2: 80–1 (in Russian).
2. *Lvov D.K., Timofeeva A.A., Gromashevskiy V.L.* The new arboviruses, isolated in USSR in 1969–1975. Proceeding of 18-й session of the Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis of AMS USSR. M.; 1975: 322–4 (in Russian).
3. *Lvov D.K.* Natural foci of arboviruses in the USSR. In: *Sov. Med. Rev. Virol.* UK: Harwood Ac. Publ. GmbH; 1987; 1: 153–96.
4. *Lvov D.K.* Natural foci of arboviruses, related with the birds in USSR. In.: Lvov D.K., Ilyichev V.D. Migration of the birds and transduction of contagium. M.: Nauka; 1979: 37–101 (in Russian).
5. *Lvov D.K.* Ecological sounding of the USSR territory for natural foci of arboviruses. In: *Sov. Med. Rev. Ser. E: Virology Reviews.* USA: Harwood Ac. Publ. GmbH; 1993; 5: 1–47.
6. *Lvov D.K., Timopheeva A.A., Smirnov V.L., Gromashevskiy 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: 325–30.

Поступила 26.09.13