

- bats (*Vespertilionidae*) and ticks *Argas (Carios) vespertilionis* (Latreille, 1796). *Voprosy virusologii*. 2013; 58 (5): 11–5 (in Russian).
28. Alkhovsky S.V., Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Shchetinin A.M., Deryabin P.G., Samokhvalov E.I. et al. Taxonomy of Khasan virus (KHAV) – a new representative of *Phlebovirus* genera (*Bunyaviridae*), isolated from ticks *Haemaphysalis longicornis* (Neumann, 1901) in Primorye region (Russia). *Voprosy virusologii*. 2013; 58 (5): 15–8 (in Russian).
 29. Lvov D.K., Alkhovsky S.V., Shchelkanov M.Yu., Shchetinin A.M., Deryabin P.G., Samokhvalov E.I. et al. Genetic characterization of Caspiy virus (CASV) (*Bunyaviridae Nairovirus*), isolated from seagull *Larus Argentatus* and ticks *Ornithodoros capensis* in eastern and western coast of Caspian Sea. *Voprosy virusologii*. 2014; 59 (1): 24–9 (in Russian).
 30. Pomerantsev B.I. Fauna of USSR. vol. 4 (2): Arachnids. Ixodes ticks (Ixodidae). Moscow, Leningrad: Academy of Science of USSR; 1950 (in Russian).
 31. Lvov D.K., Alkhovsky S.V., Shchetinin A.M., Shchelkanov M.Yu. Bunyaviridae. In: Lvov D.K., ed. Viruses and viral infection. Moscow: MIA; 2013: 279–98 (in Russian).
 32. Lvov D.K. Ecology of the viruses In: Lvov D.K., ed. Manual on Virology. Viruses and viral infections of humans and animals. Moscow: MIA; 2013: 68–86 (in Russian).
 33. Shchelkanov 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 Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk*. 2006; (2): 22–5 (in Russian).
 34. Lvov D.K., ed. Organization of ecological-epidemiological monitoring in Russian Federation for anti-epidemic defense of the civilians and army. Moscow: Minzdrav RF, The Federal Office of Biomedical and Extreme Problems, The D.I. Ivanovsky Institute of Virology; 1993 (in Russian).

Поступила 14.11.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014
УДК 578.823.1.2:577.21.083.2

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

Молекулярно-генетическая характеристика вирусов Охотский (OKHV – Okhotskiy virus) и Анива (ANIV – Aniva virus) (*Reoviridae*, *Orbivirus*), изолированных в высоких широтах Северной Евразии из облигатных эктопаразитов чистиковых птиц (*Alcidae* Leach, 1820) – клещей *Ixodes (Ceratiixodes) uriae* White, 1852

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

Изучены молекулярно-генетические характеристики вирусов Охотский (OKHV – Okhotskiy virus) (ID Gen Bank KF981623–32) и Анива (ANIV – Aniva virus), ареал распространения которых охватывает в высоких широтах шельфовые и островные территории бассейнов Охотского, Берингова и Баренцева морей. Вирусы экологически связаны с гнездовьями чистиковых (*Alcidae*) птиц и их облигатными паразитами клещами *Ixodes uriae* (Ixodidae). OKHV и ANIV являются самостоятельными видами в составе группы Грейт-Айленд (GIV – Great Island virus) рода *Orbivirus* сем. *Reoviridae*. Большинство генов OKHV и ANIV имеют между собой высокий уровень гомологии (VP1 96%; T2 99%; VP7 (T13) 98%; NS1 94%; NS2 98%; NS3 72%; VP6 93%). Но поверхностные белки, несущие основные видоспецифические антигенные детерминанты (VP2 и VP5), у OKHV и ANIV существенно различаются (62 и 68% гомологии по аминокислотным последовательностям соответственно).

Ключевые слова: *Reoviridae*; *Orbivirus*; вирус Охотский; OKHV; вирус Анива; ANIV; вирус Кемерово; KEMV; вирус Грейт-Айленд; GIV; высокие широты; колониальные морские птицы; *Alcidae*; *Ixodidae*; *Ixodes (Ceratiixodes) uriae*; Охотское море; метагеномный анализ.

Molecular-genetic characterization of the Okhotskiy virus (OKHV) and Aniva virus (ANIV) (*Orbivirus*, *Reoviridae*) isolated from the ticks *Ixodes (Ceratiixodes) uriae* White, 1852 in high latitudes of the Northern Eurasia

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

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

Molecular-genetic characteristics of the Okhotskiy virus (OKHV) and Aniva virus (ANIV) were studied (ID GenBank KF981623–32). These viruses are distributed over the shelf and island areas in the high latitudes in the Okhotsk, Bering, and Barents seas and linked with nesting colonies of *Alcidae* seabirds and their obligatory parasites, the *Ixodes uriae* (Ixodidae) ticks. OKHV and ANIV are observed to be independent species within the limits of the Great Island virus (GIV) group of the *Orbivirus* genus of the *Reoviridae* family. The majority of the genes of OKHV and ANIV have high homology (VP1 – 96%, T2 – 99%, VP7 (T13) – 98%, NS1 – 94%, NS2 – 98%, NS3 – 72%, VP6 – 93%). Nevertheless, the envelope proteins containing the main specific antigenic determinants (VP2 and VP5) of OKHV and ANIV are sufficiently different (62% and 68% homology for amino acid sequences, respectively).

Key words: *Reoviridae*; *Orbivirus*; Okhotskiy virus (OKHV); Aniva virus (ANIV); Kemerovo virus (KEMV); Great Island virus (GIV); high latitudes; colonial seabirds; *Alcidae*; *Ixodidae*; *Ixodes (Ceratiixodes) uriae*; Okhotsk sea; metagenomic analysis.

Для корреспонденции:

Львов Дмитрий Константинович, акад. РАН; dk_lvov@mail.ru

Вирус Охотский (OKHV – Okhotskiy virus) был впервые изолирован из клещей *Ixodes (Ceratiixodes) uriae* White, 1852 (*Acari: Parasitiformes, Ixodidae*), собранных в сентябре 1971 г. в гнездовье тонкоклювой кайры (*Uria aalge* Pontopiddan, 1763) на острове Тюлений в акватории Охотского моря, в Анивском заливе у южного побережья острова Сахалин [1–10]. Позднее ряд штаммов OKHV был выделен в аналогичных экологических условиях в высоких широтах в других частях бассейнов Охотского, Берингова и Баренцева морей (табл. 1) [1–11].

Прототипный штамм вируса Анива (ANIV – Aniva virus) LEIV-1373С (депонент в Государственной коллекции вирусов РФ № ГКВ 634; авторы: Львов Д.К., Громашевский В.Л., Скворцова Т.М., Аристова В.А.) выделен от клещей *I. uriae*, собранных в сентябре 1971 г. на острове Тюлений и позднее на острове Арий Камень (55°13' с. ш., 165°48' в. д.) в акватории Берингова моря у северо-западной оконечности острова Беринга в составе Беринговых островов (см. табл. 1) [4–7].

По данным электронной микроскопии OKHV и ANIV отнесен к роду *Orbivirus* сем. *Reoviridae*, а на основании результатов серологических исследований – к серогруппе Кемерово [1, 3–9]. К этой же группе по состоянию на 1985 г. принадлежали еще семь вирусов, изолированных от клещей *I. uriae* (табл. 2) [12–18]. Однако к 2012 г. ситуация существенно изменилась (табл. 3) [19]. Изменение названия Кемерово (KEMV – Кемерово virus) на Грейт-Айленд (GIV – Great Island virus) нельзя считать правомочным (см. табл. 3). В ревизии также нуждается видовой статус некоторых штаммов. Настоящая работа посвящена этой дискуссии.

Материалы и методы

Прототипные штаммы OKHV / LEIV-70С и ANIV / LEIV-1373С получены 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 ново-

рожденных беспородных белых мышей. После развития симптомов поражения ЦНС (2–4-е сутки) мышей забивали в соответствии с правилами содержания и использования лабораторных животных.

Выделение РНК. Фрагменты мозга (около 30 мг) помещали в 700 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) из 350 мкл буфера 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 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 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 измеряли методом полимеразно-цепной реакции в реальном времени 2x SsoFast EvaGreen Supermix (Bio-Rad, США; прибор Bio-Rad CFX1000) согласно рекомен-

Таблица 1

Изоляция штаммов OKHV и ANIV из клещей *Ixodes (Ceratiixodes) uriae* White, 1852 в гнездовьях чистиковых птиц (*Alcidae* Leach, 1820) в бассейнах Охотского, Берингова и Баренцева морей

Вирус	Характеристика	Дальний Восток				Европа
		бассейн Охотского моря		бассейн Берингова моря		бассейн Баренцева моря
		Сахалинская область		Камчатский край	Чукотский АО	Мурманская область
		остров Тюлений (48°29' с. ш., 144°38' в. д.)	остров Ионы (56°24' с. ш., 143°23' в. д.)	остров Арий Камень (Командорские острова) (55°13' с. ш., 165°48' в. д.)	побережье пролива Беринга (64°50' с. ш., 173°10' з. д.)	остров Харлов близ Кольского полуострова (68°49' с. ш., 37°19' в. д.)
Охотский (OKHV)	Количество штаммов	5	2	3*	1	23**
	Уровень вирусофорности, %	0,037	0,103	0,016	0,087	0,256
Итого ...	Обследовано клещей	11				23
	Количество штаммов	35 725				8994
	Уровень вирусофорности, %	0,031				0,256
Анива (ANIV)	Количество штаммов	1	0	1	0	0
	Уровень вирусофорности, %	0,007	0	0,005	0	0
Итого ...	Обследовано клещей	35 725				0
	Количество штаммов	2				8994
	Уровень вирусофорности, %	0,006				0

Примечание. * – один штамм выделен из клещей *Ixodes signatus* Birula, 1895; ** – два штамма выделены от обыкновенных моевок (*Rissa tridactyla* Linnaeus, 1758) [12]; АО – автономный округ.

Орбивирусы (*Reoviridae*, *Orbivirus*), изолированные из облигатных паразитов колониальных птиц – клещей *Ixodes (Ceraticodes) uriae* White, 1852.

Вирус	Место сбора материала			Автор	Ссылка
	страна, регион	географические координаты	биотоп		
Анива (ANIV – Aniva virus)	РФ, Сахалинская область	Остров Сахалин, скалы в Анивском заливе Охотского моря (46°30' с. ш., 142°30' в. д.)	Гнездовье кайр	Д. Львов и соавт., 1993	[4]
Баулине (BAUV – Bauline virus)	Канада, провинция Лабрадор	Остров Ньюфаундленд, полуостров Авалон (52°46' с. ш., 47°11' з. д.)	Гнездовье кайр и тупиков	А. Main и соавт., 1984	[12]
Кейп-Врат (CWV – Cape Wrath virus)	Великобритания, Шотландия	Мыс Рот (58°36' с. ш., 4°53' з. д.)	Гнездовье кайр	А. Main и соавт., 1984	[13]
Грейт-Айленд (GIV – Great Island virus)	Канада, провинция Лабрадор	Остров Ньюфаундленд, полуостров Авалон (52°46' с. ш., 47°11' з. д.)	Гнездовье кайр и тупиков	А. Main и соавт., 1984	[14]
Микинес (MYKV – Mykines virus)	Дания	Фарерские острова (62°05' с. ш. 7°30' в. д.)	Гнездовье тупиков	А. Main и соавт., 1984	[15]
Наджет (NUGV – Nugget virus)	Австралия	Острова Маккуори в южной части Тихого океана между Новой Зеландией и Антарктидой (54°30' ю. ш., 159°00' в. д.)	Гнездовье пингинов	R. Doherty и соавт., 1984	[16]
Охотский (OKHV – Okhotskiy virus)	РФ, Сахалинская область	Остров Тюлений в Охотском море (48°29' с. ш., 144°38' в. д.)	Гнездовье кайр	D. Lvov и соавт., 1984	[1, 4]
Тиндхольмур (TDMV – Tindholmur virus)	Дания	Фарерские острова (62°05' с. ш. 7°30' в. д.)	Гнездовье тупиков	А. Main и соавт., 1984	[17]
Якина-Хед (YHV – Yaquina Head virus)	США, штат Орегон	Остров Якина-Хед у Тихоокеанского побережья (44°40' с. ш., 124°05' з. д.)	Гнездовье кайр	C. Yunker и соавт., 1984	[18]

дациям, изложенным в руководстве «Sequencing Library qPCR Quantification Guide» (Illumina, США).

Сиквенирование ДНК-библиотек проводили на приборе MiSeq (Illumina, США), используя набор MiSeq Reagent Kits V2 (300PE) в соответствии с инструкцией производителя.

Биоинформационный анализ. Обработку данных полногеномного секвенирования, сборку контигов и картирование ридов осуществляли с помощью программы «CLC Genomics Workbench 5.5» (CLC bio, США). Предварительный поиск гомологичных последовательностей проводили, используя сервис 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 [20]. Генетическую дистанцию определяли по модели p-distance с частичным удалением гэпов. Филогенетический анализ и построение дендрограмм проводили с помощью программы MEGA5 по методу ближайшего соседа (модель p-distance) с 1000-кратным бутстреп-тестированием [21].

Результаты и обсуждение

В результате секвенирования вирусосодержащего материала определили последовательности, соответствующие около 70% генома OKHV и около 50% генома ANIV. Таким образом, для OKHV установили частичные или почти полные последовательности всех 10 сегментов, а для ANIV-частичные последовательности только девять сегментов (кроме VP4). Данные об уровне гомологии, рассчитанном как обратная величина генетической дистанции (p-distance), аминокислотных последовательностей OKHV и ANIV с другими орбивирусами представлены в табл. 4.

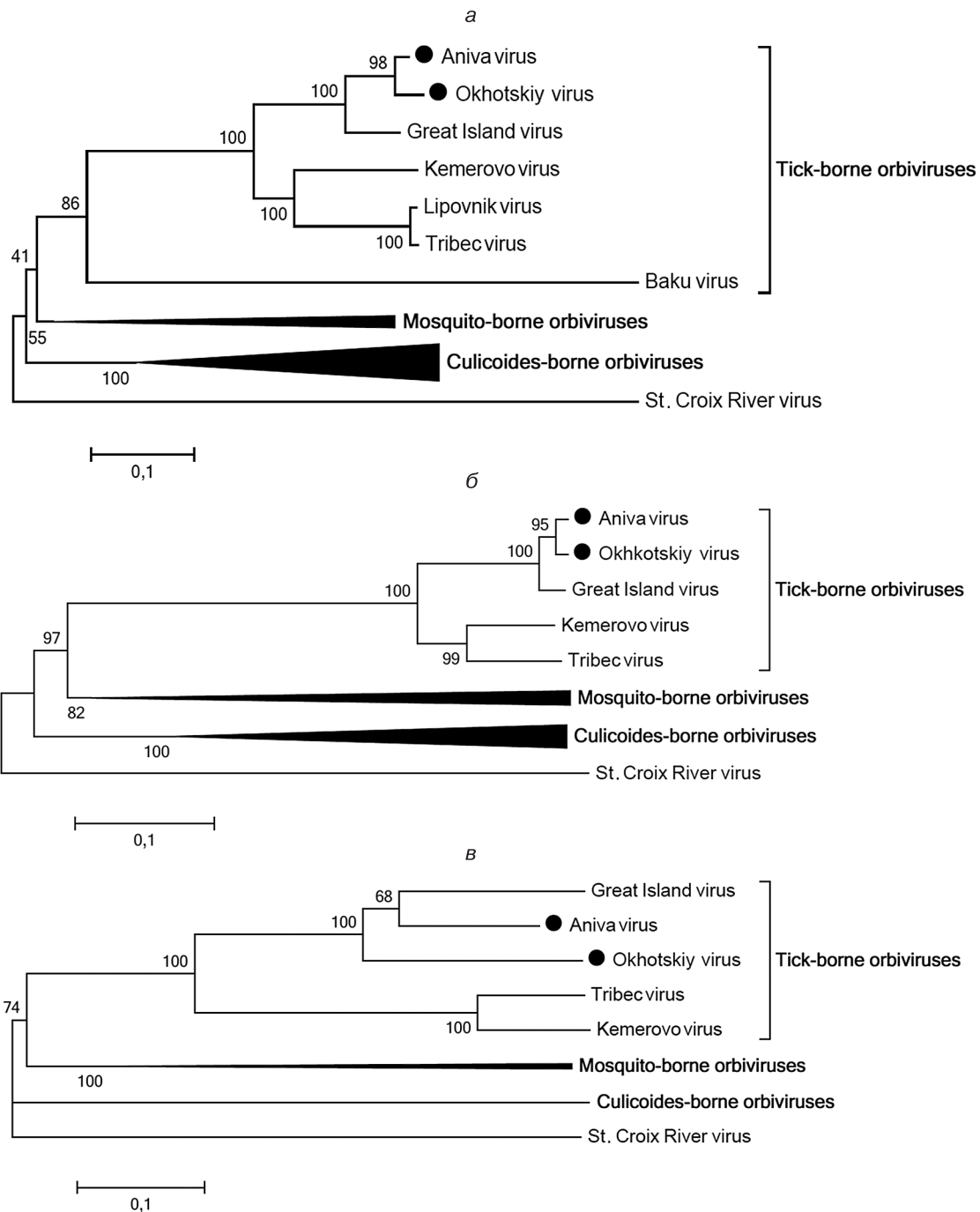
Наибольший уровень гомологии по всем белкам OKHV и ANIV имеют с GIV. Это значение для структурных белков кора T2 и VP7 (T13) составляет 92 и 96% соответственно для обоих вирусов. Белок внешнего слоя нуклеокапсида VP7 (T13) является основным носителем группоспецифичных антигенных детерминант, и такой

высокий уровень гомологии OKHV и ANIV с GIV позволяет однозначно отнести данные вирусы к серогруппе GIV. Основные нейтрализующие и видоспецифические детерминанты орбивирусов сосредоточены на двух структурных протеинах VP2 и VP5. Уровень гомологии VP2 OKHV и ANIV с GIV составляет 67 и 69% соответственно. Уровень гомологии белка VP5 несколько выше – 72 и 79% соответственно (см. табл. 4). Гомология структурных белков OKHV и ANIV с GIV значительно выше, чем неструктурных. Так, белок VP1 (полимераза), который считается одним из самых консервативных белков орбивирусов, у OKHV и ANIV обладает гомологией с GIV на уровне 88%. Гомология остальных неструктурных белков OKHV и ANIV с GIV составляет 60–80% (см. табл. 4). Таким образом, учитывая высокий уровень генетической дистанции неструктурных и внешних структурных белков, считаем, что OKHV и ANIV являются отдельными самостоятельными вирусами в составе группы GIV.

OKHV и ANIV обладают антигенным перекрестом, однако они легко дифференцируются серологическими методами. Большинство белков OKHV и ANIV имеют между собой высокий уровень гомологии (VP1 96%; T2 99%; VP7 (T13) 98%; NS1 94%; NS2 98%; NS3 72%; VP6 93%). Однако белки внешней оболочки, несущие основные видоспецифические антигенные детерминанты, VP2 и VP5 у OKHV и ANIV обладают только 62 и 68% гомологии соответственно. Этим можно объяснить их антигенную дифференциацию.

Филогенетический анализ провели для консервативных белков орбивирусов VP1 (pol) и VP7 (T13) методом присоединения соседей (см. рисунок, а, б). На дендрограмме видно, что OKHV и ANIV входят в филогенетическую ветвь GIV. Топология расположения OKHV и ANIV на дендрограмме, построенной для последовательностей варибельного белка VP2, также указывает на их принадлежность группе GIV (см. рисунок, в).

В дальневосточной части ареала зараженность *I. uriae* ANIV составляет 0,06%, в европейской части ANIV не выделялся (см. табл. 1) [1]. Наибольшая зараженность этих клещей OKHV (0,256%) обнаружена на севере



Филогенетическое древо для аминокислотных последовательностей VP1 (RdRp) (а), VP7 (T13) (б), VP2 (в).

Кольского полуострова (европейская часть), в то время как в различных частях ареала на Тихоокеанском побережье Дальнего Востока выявлена зараженность в пределах 0,016—0,103%, т. е. в 8 раз меньше, чем в европейском ареале (см. табл. 1) [10].

На прибрежных и островных территориях Субарктики, Арктики и севере умеренного пояса расположены огромные гнездовые скопления морских колониальных птиц. Облигатными паразитами этих птиц являются два вида иксодовых клещей: *Ixodes (Ceraticxodes) uriae* White, 1852 и *Ixodes signatus* Birula, 1895. *I. uriae* паразитирует на 17 видах птиц Северного и 16 видах птиц Южного полушарий [22–29]. В Северном полушарии *I. uriae* обнаружен на 6 видах чистиковых (*Alcidae* Leach, 1820): толстоклювых (*Uria lomvia* Linnaeus, 1758) и тонкоклювых (*U. aalge* Pontopiddan, 1763) кайрах, гагарке (*Alca torda* Linnaeus, 1758), топорке (*Fratercula cirrhata*

Pallas, 1769), тупике (*Fratercula arctica* Linnaeus, 1758) и обыкновенном чистике (*Cephus grylle* Linnaeus, 1758); на четырех видах чайковых (*Laridae* Vigors, 1825): обыкновенной мюевке (*Rissa tridactyla* Linnaeus, 1758), серебристой чайке (*Larus argentatus* Pontoppidan, 1763), морской чайке (*Larus marinus* Linnaeus, 1758) и бургомистре (*Larus hyperboreus* Gunnerus, 1767); на одном виде крачковых (*Sternidae* Bonaparte, 1838): полярной крачке (*Sterna paradisaea* Pontoppidan, 1763); на пяти видах пеликановых (*Pelecanidae* Rafinesque, 1815): берингийском (*Phalacrocorax pelagicus* Pallas, 1811), хохлатом (*Ph. aristotelis* Linnaeus, 1761), большом (*Ph. carbo* Linnaeus, 1758), краснолицем (*Ph. urile* Gmelin, 1789) бакланах и северной олуше (*Morus bassanus* Linnaeus, 1758); на одном виде трубконосых (*Procellariidae* Leach, 1820): глупышах (*Fulmarus glacialis* Linnaeus, 1761). Все перечисленные виды, кроме олушей, гнездятся в России. В

Таблица 3

Состав серогруппы Грейт-Айленд (GIV) (ранее – серогруппа Кемерово) (KEMV) [20]

Английское название	Аббревиатура	Русское название
Above Maiden virus	ABMAV	Эбав-Майден
Arbroath virus	ARTHV	Арброт
Bauline virus	BAUV	Баулине
Broadhaven virus	BHVNV	Бродхавн
Cape Wrath virus	CWV	Кейп-Врат
Colony virus	CLNV	Колони
Colony B North virus	CLNBV	Колони-Бэ-Норт
Ellidaey virus	ELLDV	Эллидей
Foula virus	FOULV	Фула
Great Island virus	GIV	Грейт-Айленд
Great Saltee Island virus	GSIV	Грейт-Солти-Айленд
Grimsey virus	GRIMV	Гримси
Inner Farne virus	INFAV	Иннэр-Фарнэ
Kemerovo virus	KEMV	Кемерово
Kenai virus	KENAV	Кенай
Kharagysk virus	KHARV	Харагыш
Lipovnik virus	LIPV	Липовник
Lundy virus	LUNV	Лунди
Maiden virus	MAIDV	Майден
Mill Door virus	MILDV	Мил-До
Mykines virus	MYKV	Микинес
North Clett virus	NOCLV	Норс-Клетт
North End virus	NENDV	Норт-Энд
Nugget virus	NUGV	Наджет
Okhotskiy virus	OKHV	Охотский
Poovoot virus	POOVV	Пувут
Rost Island virus	ROISV	Рост-Айленд
St Abb's Head virus	SABHV	Сент-Абб-Хед
Shiant Islands virus	SHISV	Шант-Айлендс
Thormodseyjarlettur virus	THORV	Тормодсейярлеттур
Tillamook virus	TILV	Тилламук
Tindholmur virus	TINDV	Тиндхольмур
Tribec virus	TRBV	Трибеч
Vearoy virus	VEAV	Верой
Wexford virus	WEXV	Вексфорд
Yaquina Head virus	YHV	Якина-Хед

Южном полушарии *I. uriae* обнаружен на четырех видах пингвинов (*Spheniscidae* Вонапарте, 1831): королевском (*Aptenodytes patagonicus* Miller, 1778), магеллановом (*Spheniscus magellanicus* Forster, 1781), златохохлом (*Eudyptes chrysolophus* Brandt, 1837) и малом (*Eu. minor* Forster, 1781); на пяти видах трубконосых: антарктиче-

ской китовой птичке (*Pachyptila desolata* Gmelin, 1789), буллеровом (*Thalassarche bulleri* Rothschild, 1893), чернобровом (*Th. melanophris* Temminck, 1828), светлоспинном дымчатом (*Phoebetria palpebrata* Forster, 1785) и странствующем (*Diomedea exulans* Linnaeus, 1758) альбатросах; на пяти видах пеликановых: белогрудом (*Phalacrocorax fuscescens* Vieillot, 1817), кергеленском (*Ph. verrucosus* Cabanis, 1875) и голубоглазном (*Ph. atriceps* Turbott, 1990) бакланах, георгиевском (*Pelecanoides georgicus* Murphy et Harper 1916) и кергеленском (*Pelecanoides urinatrix exsul* Salvin, 1896) нырковых буревестниках. Однако основным прокормителем *I. uriae* в Северном полушарии являются чистиковые птицы, а в Южном полушарии – пингвины [22–29].

На территории России *I. uriae* распространен в гнездовых колониях морских птиц на тихоокеанском шельфе: Курильских островах в Охотском море, Командорских островах в Беринговом море, юго-восточном побережье Чукотки, южном побережье острова Новая Земля [29]. Клещи концентрируются в подстилке на глубине до 20 см. На 1 м² поверхности птичьей колонии насчитывается до 7 тыс. клещей всех стадий метаморфоза. Клещи *I. uriae* так же, как и *I. signatus*, нападают на человека [8].

Ареал *I. signatus* существенно меньше и включает острова архипелага Римского-Корсакова в западной части зал. Петра Великого (Охотское море); Командорские острова в Беринговом море; остров Хоккайдо и северное побережье острова Хонсю в Японском архипелаге; Алеутские острова и северное побережье Калифорнии в США. Клещи *I. signatus* паразитируют в основном на берингийском баклане (*Ph. pelagicus*) [29].

При серологическом обследовании около 1,5 тыс. птиц выявлено наличие антител (АТ) к ОКНВ у 15% глупышей (*F. glacialis*) на острове Ионы, у 4–6% тонкокловых кайр (*U. aalge*) на острове Тюлений и Командорских островах, у 0,7% берингийских бакланов (*Ph. pelagicus*) на Командорских островах [4]. Вируснейтрализующие АТ к вирусам BAUV и GIV найдены в местах изоляции вирусов в Канаде в популяциях топорков (*Fratercula cirrhata* Pallas, 1769) (37%) и пестролицых буревестников (*Calonectris leucomelas* Temminck, 1836) (4–6%) [30].

В сыворотках крови людей, длительное время проживавших на Командорских островах, АТ к ОКНВ обнаружены в 12% образцов. Однако случаев заболеваний людей, этиологически связанных с ОКНВ, не выявлено [18]. Положительные результаты подтверждены в РН [4, 8, 11].

Общие экологические особенности и ареал распространения ОКНВ и ANIV, возможно, связаны с высоким уровнем гомологии между белками репликативного комплекса и внутреннего нуклеокапсида (93–99%), тог-

Таблица 4

Уровень (в %) идентичности белков ОКНВ и ANIV с орбивирусами

Вирус	Белок																			
	VP1 (Pol)		T2		VP2		NS1		VP4		VP5		NS2		VP7 (T13)		VP6		NS3	
	OKHV	ANIV	OKHV	ANIV	OKHV	ANIV	OKHV	ANIV	OKHV	ANIV	OKHV	ANIV	OKHV	ANIV	OKHV	ANIV	OKHV	ANIV	OKHV	ANIV
GIV	89	88	93	92	67	69	81	80	80	н.д.	72	79	60	88	96	96	65	66	78	74
KEMV	73	76	83	79	38	40	63	64	61	н.д.	64	63	81	65	80	79	48	49	57	51
Tribec	73	74	83	79	37	39	61	61	62	н.д.	63	64	57	62	76	76	48	49	57	46
Yunnan	48	49	44	43	10	9	28	29	39	н.д.	34	33	27	30	29	30	28	28	20	12
EHDV	45	44	38	35	11	15	20	22	39	н.д.	30	20	19	19	25	25	22	21	23	17
AHSV	46	48	36	34	10	12	21	21	38	н.д.	29	24	22	21	23	23	22	23	24	15
Bluetongue	45	47	36	34	12	19	20	22	41	н.д.	31	33	17	18	21	22	20	20	18	11

да как внешние структурные белки ОКНВ и ANIV VP2 и VP7, связанные с вирулентностью вируса, продукцией нейтрализующих АТ и рецепторным узнаванием, обладают гомологией менее 70%. Вероятно, этот факт можно объяснить процессом постоянной реассортации между ОКНВ и ANIV, который привел к конвергенции этих двух вирусов.

Зондирование территории в высоких широтах РФ проводили в рамках Программы по биобезопасности и изучения биоразнообразия в различных экосистемах Северной Евразии, а также для пополнения базы данных Государственной коллекции вирусов РФ [4, 6, 31–33].

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Lvov D.K., Timofeeva A.A., Gromashevski V.L., Tsyarkin Y.M., Veselovskaya O.V., Gostinshchikova G.V. et al. "Okhotskiy" virus, a new arbovirus of the Kemerovo group isolated from Ixodes (Ceratiixodes) putus Pick.-Camb. 1878 in the Far East. Arch. Ges. Virusforschung. 1973; 41 (3): 160–4.
2. Тимофеева А.А., Погребенко А.Г., Громашевский В.Л., Щербина Р.Д., Евсеева Т.И., Львов Д.К., Сазонов А.А. Очаговость природных инфекций на острове Ионы в Охотском море. Зоологический журнал. 1974; 53 (6): 306–11.
3. Okhotskiy virus. In: Karabatsos N., ed. International Catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 759–60.
4. Львов С.Д. Арбовирусы в высоких широтах. В кн.: Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я., ред. Арбовирусы и арбовирусные инфекции. М.: Медицина; 1989: 269–89.
5. Lvov S.D., Gromashevsky V.L., Andreev V.P. Natural foci of arboviruses in far northern latitudes of Eurasia. In: Calisher C.H., ed. Hemorrhagic fever with renal syndrome tick- and mosquito-borne viruses. Arch. Virol. 1991; Suppl. 1: 267–75.
6. 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; vol. 3: 137–85.
7. Lvov D.K. Arboviral zoonoses of Northern Eurasia (Eastern Europe and the Commonwealth of Independent States). In: Beran G.W., ed. Handbook of zoonoses. Section B: Viral. Boca Raton, London, Tokyo: CRC Press; 1994: 237–60.
8. 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.
9. 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.
10. Lvov D.K., Timofeeva A.A., Smirnov V.A., Gromashevsky V.L., Sidорова 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.
11. Львов Д.К. Экология вирусов. В кн.: Львов Д.К., ред. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Москва: МИА; 2013: 66–86.
12. Bauline virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 225–6.
13. Cape-Wrath virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 305–6.
14. Great Island virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 429–30.
15. Mykines virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 721–2.
16. Nugget virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 753–4.
17. Tindholmur virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 1021–2.

18. Yakina Head virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 1109–10.
19. Attoui H., Mertens P.C., Becnel J., Belaganahalli S., Bergoin M., Brussaard C.P. et al. Family Reoviridae. In: King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. Virus taxonomy. 9th report of the International committee on taxonomy of viruses. London, San Diego: Elsevier Science; 2012: 541–637.
20. 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.
21. 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.
22. Zumpt F. The ticks of seabirds. Austr. Nat. Antarc. Res. Exped. Rep. 1952; 1 (1): 12–20.
23. Roberts F.H.S. Australian ticks. Commonwealth Sci. Industr. Res. Organ. Melbourne (Australia): 1970.
24. Белопольская М.М. Паразитофауна морских птиц. В кн.: Ученые записки Ленинградского государственного университета. Серия: Биология. 1952; 141 (28): 127–80.
25. Arthur D.R. British ticks. London: Butterworths; 1963.
26. Bequaert J.C. The ticks, or Ixodoidea, of the northeastern United States and eastern Canada. Entom. Am. 1946; 24: 73–120.
27. Clifford C.M., Yunker C.E., Easton E.R., Keirans J.E. Ectoparasites and other arthropods from coastal Oregon. J. Med. Entomol. 1970; 7 (4): 438–45.
28. Флинт В.Е., Костырко И.Н. О биологии клеща Ixodes putus Pick.-Camb. Зоологический журнал. 1967; 66 (8): 1253–6.
29. Филитнова Н.А. Фауна СССР. Л.: Наука; 1977; 4 (4): Паукообразные. Иксодовые клещи подсем. Ixodinae.
30. Artsob H., Spence L. Arboviruses in Canada. In: Kurstak E., ed. Arctic and tropical arboviruses. New York, San-Francisco, London: Harcourt Brace Jovanovich Publ.; 1979: 39–65.
31. 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.
32. Львов Д.К., Дерябин П.Г., Аристова В.А., Бутенко А.М., Галкина И.В., Громашевский В.Л. и др. Атлас распространения возбудителей природно-очаговых вирусных инфекций на территории Российской Федерации. М.: МЗ РФ; 2001.
33. 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.

REFERENCES

1. Lvov D.K., Timofeeva A.A., Gromashevski V.L., Tsyarkin Y.M., Veselovskaya O.V., Gostinshchikova G.V. et al. «Okhotskiy» virus, a new arbovirus of the Kemerovo group isolated from Ixodes (Ceratiixodes) putus Pick.-Camb. 1878 in the Far East. Arch. Ges. Virusforschung. 1973; 41 (3): 160–4.
2. Timofeeva A.A., Pogrebentko A.G., Gromashevskii V.L., Scherbina R.D., Evseeva T.I., Lvov D.K., Sazonov A.A. Natural foci of infection on the Iona island in Okhotsk sea. Zoologicheskii zhurnal. 1974; 53 (6): 906–11 (in Russian).
3. Okhotskiy virus. In: Karabatsos N., ed. International Catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 759–60.
4. Lvov S.D. Arboviruses in high latitudes. In: Lvov D.K., Klimenko S.M., Gaydamovich S.Y., eds. Arboviruses and arbovirus infection. M.: Meditsina; 1989: 269–89 (in Russian).
5. Lvov S.D., Gromashevsky V.L., Andreev V.P. Natural foci of arboviruses in far northern latitudes of Eurasia. In: Calisher C.H., ed. Hemorrhagic fever with renal syndrome tick- and mosquito-borne viruses. Arch. Virol. 1991; Suppl. 1: 267–75.
6. 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; vol. 3: 137–85.
7. Lvov D.K. Arboviral zoonoses of Northern Eurasia (Eastern Europe and the Commonwealth of Independent States). In: Beran G.W., ed. Handbook of zoonoses. Section B: Viral. Boca Raton, London, Tokyo: CRC Press; 1994: 237–60.
8. 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).
9. Lvov D.K., Gromashevsky 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.
 10. Lvov D.K., Timofeeva 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.
 11. Lvov D.K. Ecology of viruses. In: Lvov D.K., ed. Guidance on virology. Viruses and viral infections of humans and animals. Moscow: Med. Inf. Agency; 2013: 66–86 (in Russian).
 12. Bauline virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 225–6.
 13. Cape-Wrath virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 305–6.
 14. Great Island virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 429–30.
 15. Mykines virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 721–2.
 16. Nugget virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 753–4.
 17. Tindhalmur virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 1021–2.
 18. Yakina Head virus. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses and some other viruses of vertebrates. San Antonio (Texas): American Society of Tropical Medicine and Hygiene; 1985: 1109–10.
 19. Attoui H., Mertens P.C., Becnel J., Belaganahalli S., Bergoin M., Brussaard C.P. et al. Family Reoviridae. In: King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. Virus taxonomy. 9th report of the International committee on taxonomy of viruses. London, San Diego: Elsevier Science; 2012: 541–637.
 20. 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.
 21. 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.
 22. Zumpt F. The ticks of seabirds. Austr. Nat. Antarct. Res. Exped. Rep. 1952; 1 (1): 12–20.
 23. Roberts F.H.S. Australian ticks. Commonwealth Sci. Industr. Res. Organ. Melbourne (Australia): 1970.
 24. Belopolskaya M.M. Parasitofauna of the sea birds. In: Scientific notes of Leningrad State University. Seriya: Biology. 1952; 141 (28): 127–80 (in Russian).
 25. Arthur D.R. British ticks. London: Butterworths; 1963.
 26. Bequaert J.C. The ticks, or Ixodoidea, of the northeastern United States and eastern Canada. Entom. Am. 1946; 24: 73–120.
 27. Clifford C.M., Yunker C.E., Easton E.R., Keirans J.E. Ectoparasites and other arthropods from coastal Oregon. J. Med. Entomol. 1970; 7 (4): 438–45.
 28. Flint V.E., Kostyrko I.N. About biology of Ixodes putus Pick.-Camb ticks. Zoologicheskii zhurnal. 1967; 66 (8): 1253–6 (in Russian).
 29. Filippova N.A. Fauna of USSR. Arachnids. Ixodes ticks of subfamily Ixodinae. Moscow, Leningrad: Nauka; 1977; vol. 4 (4) (in Russian).
 30. Artsob H., Spence L. Arboviruses in Canada. In: Kurstak E., ed. Arctic and tropical arboviruses. New York, San-Francisco, London: Harcourt Brace Jovanovich Publ.; 1979: 39–65.
 31. Lvov D.K., ed. Organization of ecological-epidemiological monitoring in Russian Federation for anti-epidemic defense of the civilians and army. Moscow: Minzdrav RF, The Federal Office of Biomedical and Extreme Problems, The D.I. Ivanovsky Institute of Virology; 1993 (in Russian).
 32. 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. Moscow: Minzdrav RF; 2001 (in Russian).
 33. 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. Vesstnik Ross. Acad. Med. Nauk. 2006; (2): 22–5 (in Russian).

Поступила 26.09.13

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 578.832:578.51.083.2

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

Таксономический статус вируса Тюлёк (TLKV – Tyulek) (*Orthomyxoviridae*, *Quarantavirus*, группа Кваранфил), изолированного в Киргизии из клещей *Argas vulgaris* Filippova, 1961 (*Argasidae*) из норových биотопов с гнездами птиц

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

В работе с использованием технологии полногеномного секвенирования (next-generation sequencing) определена полная последовательность генома вируса Тюлёк (TLKV – Tyulek virus) (ID GenBank KJ438647–8), изолированного из клещей *Argas vulgaris* Filippova, 1961. (*Argasidae*), собранных в 1978 г. в норových биотопах с поливидовыми колониями птиц в пойме реки Ак-Су в окрестностях поселка Тюлёк Московского района, в северной части Чуйской долины в Киргизии. По данным предварительного изучения TLKV был отнесен к группе Кваранфил, включающей вирусы Кваранфил (QRFV – Quarantfil virus), Атолл Джонстон (JAV – Johnston Atoll virus) и Озеро Чад (LCV – Lake Chad), которая в настоящее время выделена в самостоятельный род *Quarantavirus* в составе сем. *Orthomyxoviridae*. Гомология TLKV с вирусами QRFV и JAV по белку PB1 составляет 86 и 84% соответственно. По другим белкам полимеразного комплекса (PB2 и PA) TLKV обладает около 70% гомологии с QRFV. По поверхностному гликопротеиду GP гомология между TLKV и QRFV составляет 72 и 80% по нуклеотидной и аминокислотной последовательностям соответственно. На основе проведенного молекулярно-генетического и филогенетического анализа показано, что TLKV является новым вирусом группы Кваранфил рода *Quarantavirus* сем. *Orthomyxoviridae*.

Ключевые слова: Тюлёк (TLKV); *Orthomyxoviridae*; *Quarantavirus*; Кваранфил, QRFV; норowo-убежищные биоценозы; *Argasidae*; птицы; Киргизия; полногеномное секвенирование; метагеномный анализ.

Для корреспонденции:

Львов Дмитрий Константинович, акад. РАН, dk_lvov@mail.ru