

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

## Молекулярная характеристика вируса Гиссар (GSRV – Gissar virus) (*Bunyaviridae*, *Phlebovirus*, группа Укуниими), изолированного из клещей *Argas reflexus* Fabricius, 1794 (*Argasidae*), собранных в голубятне на территории Таджикистана

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

Вирус Гиссар (Gissar – GSRV) был изолирован в 1982 г. от аргасовых клещей *Argas reflexus*, Fabricius, 1794 (так называемых голубиных клещей), собранных в августе 1982 г. в голубятне над жилым помещением в пос. Гиссар в окрестностях г. Душанбе, Таджикистан (38°40' с. ш., 68°40' в. д.). По данным электронной микроскопии GSRV отнесен к семейству *Bunyaviridae*, однако его классификация до рода оказалась невозможной вследствие отсутствия антигенных связей с известными буньявирусами. В настоящей работе методом полногеномного секвенирования (next-generation sequencing, платформа Illumina) определена практически полная последовательность генома GSRV, что позволило провести филогенетический анализ и установить его таксономическое положение. GSRV обладает высоким уровнем гомологий (94% по белку нуклеокапсида, 87,5% по RdRp и 82% по оболочечным белкам GnGc) с вирусом Гранд Арбо (Grand Arbaud – GAV), выделенным так же, как и GSRV, из клещей *A. reflexus* в голубятне во Франции. Независимо от географии распространения GSRV и GAV занимают узкую экологическую нишу, связанную с клещами *A. reflexus* и птицами (вероятно, преимущественно голубиными *Columbidae*). На основании проведенного молекулярно-генетического и филогенетического анализа GSRV классифицирован как среднеазиатский вариант GAV группы Укуниими (*Uukuniemi*) рода *Phlebovirus* (*Bunyaviridae*). (ID GenBank KJ425423, KJ425424, KJ425425).

Ключевые слова: вирус Гиссар, GSRV; *Bunyaviridae*, *Phlebovirus*; Укуниими, UUKV; *Argasidae*; убежищные биоценозы; голуби; Таджикистан; метагеномный анализ.

### Molecular genetic characterization of the Gissar virus (GSRV) (*Bunyaviridae*, *Phlebovirus*, *Uukuniemi* group) isolated from the ticks *Argas reflexus* Fabricius, 1794 (*Argasidae*) collected in dovecote in Tajikistan

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

D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia

The Gissar virus (GSRV) was originally isolated from the ticks *Argas reflexus*, Fabricius, 1794 collected in a dovecote of Gissar village in Tajikistan (38°40' N, 68°40' E). Using electron microscopy, GSRV was classified to *Bunyaviridae* without referring to genus due to the absence of the antigenic relation with known bunyaviruses. In the present paper genome of GSRV was sequenced (MiSeq, Illumina). Molecular genetics and phylogenetic analysis showed. GSRV has a high level of homology with the Grand Arbaud Virus (GAV) (94% for nucleocapsid protein, 87.5% for RdRp, and 82% for the envelope proteins GnGc) isolated from the ticks *A. Reflexus* in a dovecote in France. GSRV and GAV have a narrow ecological niche associated with the ticks *A. Reflexus* and birds (predominantly *Columbidae*). According to the conducted study, GSRV is classified as the topotypic for Central Asia variant of GAV, *Uukuniemi* group, genres of the *Phlebovirus* (*Bunyaviridae*) (ID GenBank KJ425423, KJ425424, KJ425425).

Key words: Gissar virus (GSRV); *Bunyaviridae*; *Phlebovirus*; *Uukuniemi* group (UUKV); *Argasidae*; burrows biocenosis; pigeons; Tajikistan; next-generation sequencing.

Два штамма вируса Гиссар (Gissar virus – GSRV) изолированы в 1982 г. от аргасовых клещей *Argas reflexus*, Fabricius, 1794 (так называемых голубиных клещей), собранных в августе 1982 г. в голубятне над жилым помещением в пос. Гиссар в окрестностях г. Душанбе, Таджикистан (38°40' с. ш., 68°40' в. д.) [1, 2]. По данным электронной микроскопии GSRV отнесен к семейству *Bunyaviridae*, однако его классификация до рода оказалась невозможной вследствие отсутствия антигенных связей с известными буньявирусами [3].

Семейство *Bunyaviridae* объединяет четыре рода оболочечных вирусов животных (*Orthobunyavirus*, *Phlebovirus*, *Hantavirus* и *Nairovirus*) и один род вирусов растений (*Tospovirus*). Геном буньявирусов представлен тремя сегментами РНК отрицательной (или амбивалентной) полярности (L-, M- и S-сегмент). В основном (за

исключением вирусов рода *Hantavirus*), буньявирусы животных являются арбовирусами, т. е. заражение позвоночных животных происходит при укусе членистоногого переносчика (клещи или комары). Около 20 буньявирусов, включая GSRV, в настоящее время входят в группу неклассифицированных [4, 5].

В настоящей работе методом полногеномного секвенирования (next-generation sequencing, платформа Illumina) определена практически полная последовательность генома GSRV, что позволило провести филогенетический анализ и установить его таксономическое положение. На основании проведенного молекулярно-генетического и филогенетического анализа GSRV классифицирован как среднеазиатский вариант вируса Гранд Арбо (Grand Arbaud virus – GAV) группы Укуниими (*Uukuniemi*) рода *Phlebovirus* (*Bunyaviridae*).

Для корреспонденции: Львов Дмитрий Константинович, dk\_lvov@mail.ru.

## Материалы и методы

Прототипный штамм GSRV 5995 был получен из Государственной коллекции вирусов (ГКВ) РФ при 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 сут) мышей забивали в соответствии с правилами этичного 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). Измерение молярности полученных библиотек проводили методом ПЦР 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 осуществляли 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, используя программу «CLC Genomics Workbench 5.5» (CLC bio, США). Предварительный поиск гомологичных последовательностей осуществляли с применением сервиса BLASTX (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Для подбора праймеров, множественного выравнивания, анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей использовали пакет программ «Lasergene Core Suite» (DNASTAR, США). Выравнивание последовательностей проводили по алгоритму ClustalW [6]. Генетическую дистанцию определяли по модели p-distance с попарным удалением гэпов. Филогенетический анализ и построение дендрограмм проводили с помощью программы MEGA5 по методу ближайшего соседа (neighbor joining) с 1000-кратным бутстреп-тестированием [7].

## Результаты и обсуждение

В результате обработки и первичного анализа данных полногеномного секвенирования генома GSRV определили протяженные нуклеотидные последовательности, обладающие гомологией с вирусами рода *Phlebovirus* (сем. *Bunyaviridae*). Результаты дальнейшего анализа показали, что определена полная нуклеотидная последовательность S-сегмента GSRV, тогда как последовательности сегментов M и L определены частично. Общая длина определенной последовательности составляет более 80% генома GSRV.

Структура и размер S-сегмента GSRV является характерной для вирусов рода *Phlebovirus*. Длина S-сегмента составляет более 1700 н. о. S-сегмент кодирует два белка, которые расположены в двух открытых рамках считывания (ОРС) противоположной направленности (амби-сенс стратегия). ОРС структурного белка нуклеокапсида (N) кодируется в ориентации, комплементарной геномной РНК. Филогенетически вирусы рода *Phlebovirus* можно разделить на три главные ветви, две из которых представлены вирусами,

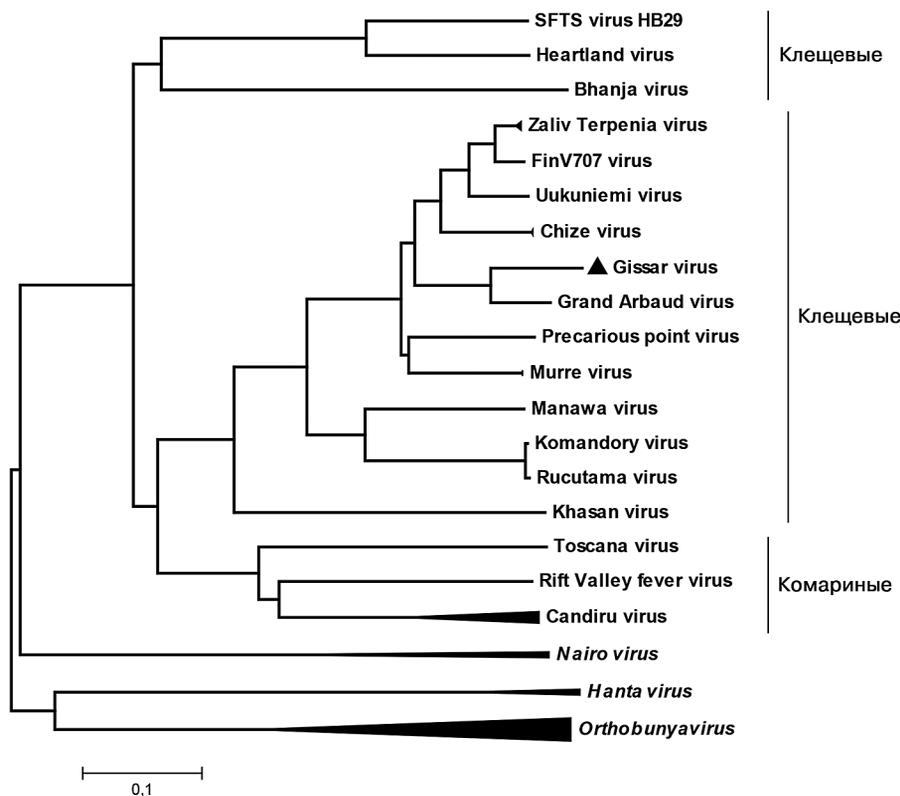


Рис. 1. Результаты филогенетического анализа, проведенного методом ближайшего соседа для полномерных аминокислотных последовательностей белка нуклеокапсида N (S-сегмент) семейства *Bunyaviridae*.

GSRV обозначен черным треугольником. Справа указана принадлежность вирусов рода *Phlebovirus* к экологическим группам в зависимости от членистого переносчика.

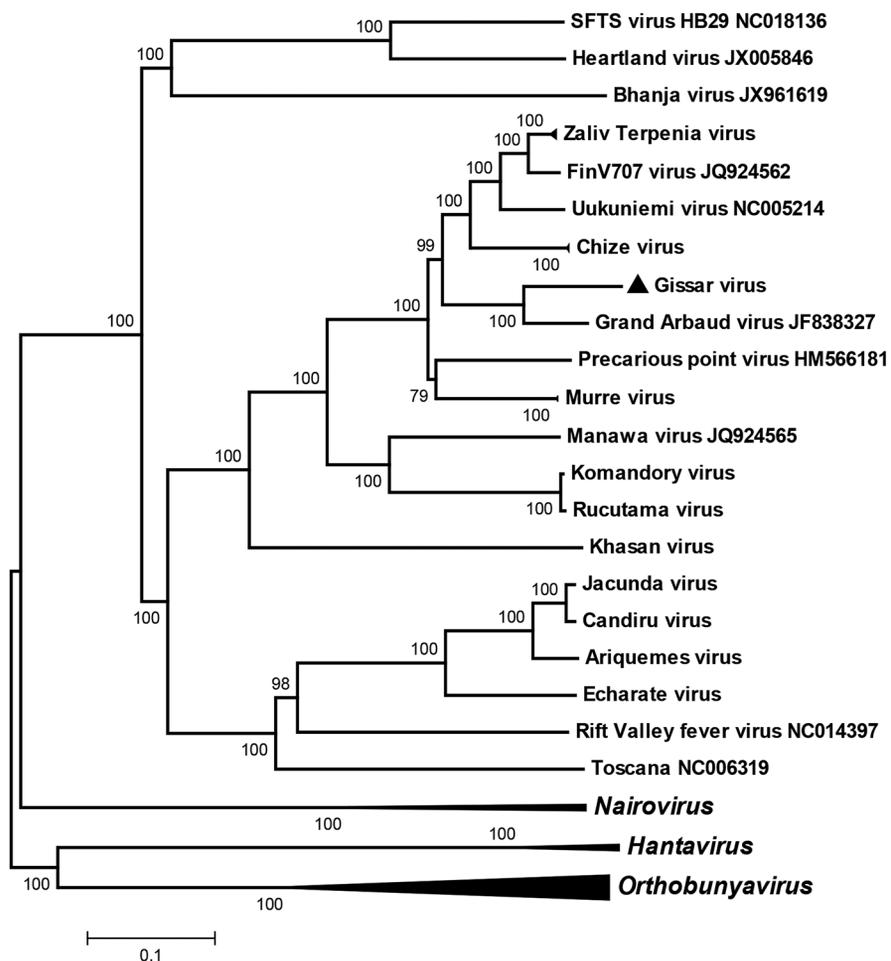


Рис. 2. Результаты филогенетического анализа, проведенного методом ближайшего соседа для полномеразных аминокислотных последовательностей полипротеина-предшественника оболочечных белков GnGc (M-сегмент) вирусов семейства *Bunyaviridae*.

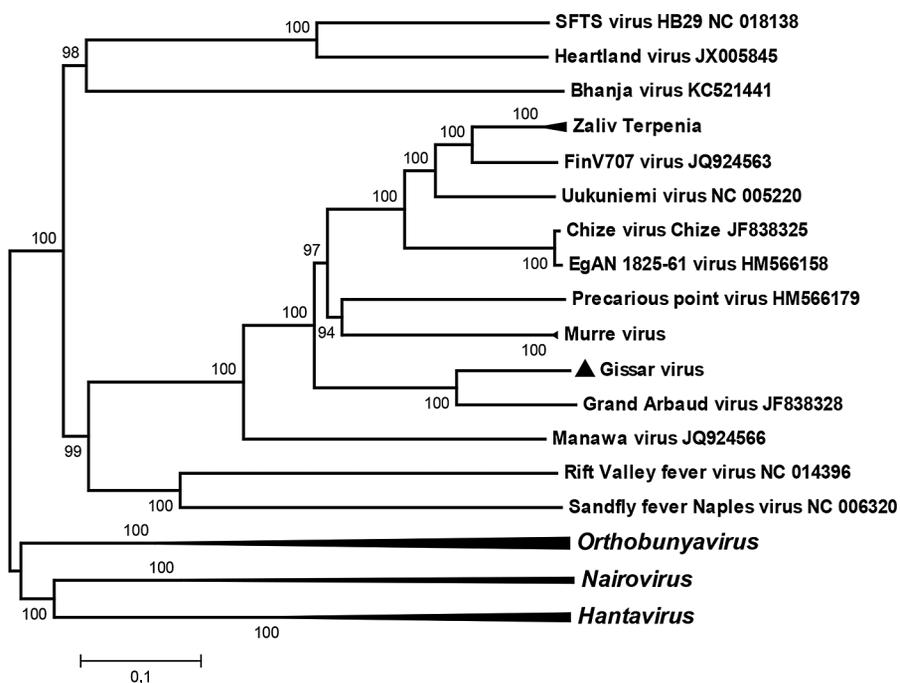


Рис. 3. Результаты филогенетического анализа, проведенного методом ближайшего соседа для полномеразных аминокислотных последовательностей РНК-зависимой РНК-полимеразы вирусов семейства *Bunyaviridae*.

передающимися клещами (клещевые флебовирусы), и одна – вирусами, передающимися комарами (вирусы москитных лихорадок) (рис. 1). Значение в патологии человека играют вирусы москитных лихорадок, из которых не менее 14 вызывают лихорадочные заболевания. Белок N GSRV обладает от 55 до 94% гомологии с вирусами группы Уукуниеми (*Uukuniemi* – UUKV) и 37–39% с москитными флебовирусами. Наибольший (94%) уровень гомологии GSRV достигает с GAV, который так же, как и GSRV, изолирован из клещей *A reflexus* Fabricius, 1794 из голубятни во Франции [8]. Второй белок, который кодирует S-сегмент, является неструктурным (NSs), его функция до конца не изучена. Предположительно NSs играет роль в подавлении системы врожденного иммунитета, блокируя продукцию интерферонов при инфекции [9, 10]. Гомология NSs GSRV с GAV составляет 74%. С другими вирусами группы Уукуниеми гомология NSs GSRV составляет от 26% (вирус Манавы – MAWV) до 50% (вирус Залив Терпеня – ZTV). Результаты филогенетического анализа буньявирусов животных, проведенного на основе полномеразного S-сегмента, представлены на рис. 1. На дендрограмме GSRV входит в группу клещевых флебовирусов (UUKV), группируясь вместе с GAV.

Структурные, поверхностные гликопротеины (Gn и Gc), несущие основные антигенные детерминанты буньявирусов, кодируются M-сегментом, при этом его структура у клещевых и москитных флебовирусов отличается. Белки Gn и Gc транслируются в виде полипротеина-предшественника GnGc, который подвергается сложному процессингу с участием клеточных ферментов [4, 11]. У москитных флебовирусов в результате процессинга образуется дополнительный неструктурный белок NSm, который так же, как и NSs, участвует в блокировании системы апоптоза и, таким образом, связан с патогенностью вируса для позвоночных хозяев [4, 12]. Клещевые флебовирусы (группы UUKV и Бханджа – BHAV) белок NSm не кодируют. Длина S-сегмента клещевых флебовирусов составляет около 3200 н. о., а размер кодируемого полипротеина-предшественника GnGc – 1008 а. о. (UUKV). Мы определили практически полную последовательность кодирующей области M-сегмента GSRV. Уро-

вень гомологии полипротеина-предшественника GnGc GSRV с GAV составляет 82%.

L-сегмент буньявирусов кодирует вирусный фермент РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp). У вирусов рода *Phlebovirus* длина L-сегмента составляет около 6500 н. о. В настоящей работе установлены нуклеотидные последовательности трех фрагментов L-сегмента GSRV общей длиной около 4000 н. о. Гомология RdRp GSRV с клещевыми флебовирусами составляет 70–87,5%. Максимальный (87,5%) уровень гомологии по RdRp так же, как и по другим вирусным белкам, GSRV имеет с GAV.

Результаты филогенетического анализа, проведенного на основе сравнения RdRp и полипротеина-предшественника GnGc, представлены на рис. 2 и 3 соответственно. Близкое расположение GSRV и GAV в группе клещевых флебовирусов сохраняется и совпадает с данными, полученными по всем трем сегментам генома. GSRV и GAV входят в группу UUKV, объединяющую большинство клещевых флебовирусов [13]. Вирусы, входящие в группу UUKV, обладают определенной экологической пластичностью, некоторые из них (например, ZTV) могут передаваться как клещами (аргасовыми (*Argasidae*) и иксодовыми (*Ixodidae*)), так и комарами. Вторая ветвь клещевых флебовирусов (серогруппы BHAV) и тяжелой лихорадки с тромбоцитарным синдромом (SFTS) и вирус Heartland) связаны только с иксодовыми клещами [14–17].

GSRV обладает высокой гомологией (94% по белку нуклеокапсида, 87,5% по RdRp и 82% по оболочечным белкам GnGc) с GAV. Девять штаммов GAV были изолированы из пула 97 особей аргасовых клещей *Argas reflexus* Fabricius, 1794 (*Argasidae*), собранных в феврале 1966 г. в голубятне в районе Гажрон в г. Арль в дельте р. Роны (Камарг, Франция) (43° с. ш., 04° в. д.) [8]. Таким образом, филогенетическая близость и идентичные экологические особенности GSRV и GAV позволяют сделать вывод о том, что GSRV является среднеазиатским вариантом GAV. Независимо от географии распространения GSRV и GAV занимают узкую экологическую нишу, связанную с клещами *A. reflexus* и птицами (вероятно, преимущественно голубиными *Columbidae*).

Репродукция GSRV в аргасовых клещах *A. reflexus* экспериментально доказана при титрах 2 Ig (LD<sub>50</sub>)/20 мкл в течение 30 сут. Установлены трансстадийная и трансвариальная передача, возможность трансмиссивной передачи GSRV при кровососании на домашних и синантропных птицах. При экспериментальной инфекции малых горлиц *Streptopelia senegalensis* Linnaeus, 1766 (*Columbidae*) GSRV выделяли из крови птиц на 5, 9, 22 и 30-е сутки в титрах 1,5–2,5 Ig (LD<sub>50</sub>)/20 мкл. Антитела к GSRV у населения обнаружены в 4,5%, у голубей *Columba livia* Gmelin, 1789 – в 2% [18].

Аргасовые клещи *A. reflexus* распространены в некоторых западных провинциях Палеарктики. Ареал ограничивается с севера 51° с. ш. (в Западной Европе), с юга – 31° с. ш. (в Северной Африке) [18]. Цикл метаморфоза *A. reflexus* составляет около трех лет. Клещи заселяют привычные местообитания голубей, где гнездятся и другие виды птиц – ласточки, стрижи. Вне антропогенных ландшафтов *A. reflexus* обнаружен в многолетних скальных гнездовых птиц. Личинки *A. reflexus* найдены в Европе на горной ласточке *Ptyonoprogne rupestris* Scopoli, 1769, в Египте – на домовом сыче *Athene noctua* Scopoli, 1769, в Израиле – на сизом голубе *Columba livia* Gmelin, 1789 и щетинистой вороне *Corvus rhipidurus* Hartert, 1918, в Крыму – на галке *Corvus monedula* Linnaeus, 1758. Описаны массовые синантропные поселения клещей, препятствующие разведению голубей.

В ночное время клещи могут спускаться в жилые помещения и присасываться к людям [19].

Работу по зондированию территорий Средней Азии проводили в рамках программы по биобезопасности и изучения биоразнообразия в разных экосистемах Северной Евразии, а также для пополнения базы данных ГКВ РФ [20–24].

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

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Львов Д.К., Скворцова Т.М., Костоков М.А., Гордеева З.Е., Куйма А.У., Данияров О.А. и др. Штамм 5595 вируса Гиссар. Депонент Государственной Коллекции вирусов № ГКВ 796. 1982.
2. Гордеева З.Е., Костоков М.А., Куйма А.У. и др. Вирус Гиссар – новый вирус семейства Bunyaviridae, изолированный от аргасовых клещей *Argas vulgaris* Fil. в Таджикистане. Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1990; 6: 34–5.
3. Lvov D.K. Arboviral zoonoses of Northern Eurasia (Eastern Europe and the Commonwealth of Independent States). In: Beran G.W., ed. Handbook of zoonoses. Sec. ed. Section B: Viral. London, Tokyo: CRC Press; 1994: 237–60.
4. Plyusnin A., Beaty B.J., Elliot R.M., Goldbach R., Kormelink R., Lundkvist A. et al. Family Bunyaviridae. In: King A.M., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. Virus taxonomy: Ninth Report of the International Committee of Taxonomy of Viruses. London: Elsevier; 2012: 725–41.
5. Львов Д.К., Альховский С.В., Щетинин А.М., Щелканов М.Ю. Буньявирусы (Bunyaviridae). В кн.: Львов Д.К., ред. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. М.: МИА; 2013: 279–98.
6. Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. Bioinformatics. 2007; 23 (21): 2947–8.
7. 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.
8. Hannoun C., Corniou B., Rageau J. Isolation in Southern France and characterization of new tick-borne viruses related to Uukuniemi: Grand Arbaud and Ponteves. *Acta Virol.* 1970; 14 (2): 167–70.
9. Ikegami T., Narayanan K., Won S., Kamitani W., Peters C.J., Makino S. Rift Valley fever virus NSs protein promotes post-transcriptional downregulation of protein kinase PKR and inhibits eIF2alpha phosphorylation. *PLoS Pathog.* 2009; 5 (2): e1000287.
10. Bouloy M., Janzen C., Vialat P., Khun H., Pavlovic J., Huerre M. et al. Genetic evidence for an interferon-antagonistic function of rift valley fever virus nonstructural protein NSs. *J. Virol.* 2001; 75 (3): 1371–7.
11. Andersson A.M., Melin L., Persson R., Raschperger E., Wikstrom L., Pettersson R.F. Processing and membrane topology of the spike proteins G1 and G2 of Uukuniemi virus. *J. Virol.* 1997; 71 (1): 218–25.
12. Won S., Ikegami T., Peters C.J., Makino S. NSm protein of Rift Valley fever virus suppresses virus-induced apoptosis. *J. Virol.* 2007; 81 (24): 13335–45.
13. 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.
14. 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.
15. Hubalek Z., Rudolf I. Tick-borne viruses in Europe. *Parasitol. Res.* 2012; 111 (1): 9–36.
16. Matsuno K., Weisend C., Travassos da Rosa A.P., Anzick S.L., Dahlstrom E., Porcella S.F. et al. Characterization of the Bhanja serogroup viruses (Bunyaviridae): a novel species of the genus Phlebovirus and its relationship with other emerging tick-borne phleboviruses. *J. Virol.* 2013; 87 (7): 3719–28.
17. Альховский С.В., Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Щетинин А.М., Краснослободцев К.Г., Дерябин П.Г. и др. Молекулярно-генетическая характеристика вирусов Бханджа (BHAV) и Раздан (RAZV) (Bunyaviridae, Phlebovirus), изолированных от иксодовых клещей *Rhipicephalus bursa* Canestrini & Fanzago, 1878, и *Dermacentor marginatus* Sulzer, 1776, в Закавказье. *Вопросы вирусологии.* 2013; 58 (4): 14–9.
18. Костоков М.А., Гордеева З.Е., Немова Н.В., Булычев В.П., Куй-

ма А.У. К экологии вируса Гиссар. В кн.: Львов Д.К., ред. Итоги науки и техники, серия Вирусология. Арбовирусы и арбовирусные инфекции. М.: ВИНТИ; 1991: 18–9.

19. Филиппова Н.А. Аргасовые клещи (*Argasidae*). В кн.: Фауна СССР. Паукообразные. М., Л.: Наука; 1966; 4 (3): 255.
20. Lvov D.K. Ecological soundings of the former USSR territory for natural foci of arboviruses. In: *Sov. Med. Rev. Virol. UK: Harwood Academ. Pub. GmbH*; 1993: 1–47.
21. Львов Д.К., ред. Организация эколого-эпидемиологического мониторинга территорий 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.
22. 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.: Издательство НППЦ ТМГ МЗ РФ. 2001.
23. 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.
24. Львов Д.К. Экология вирусов. В кн.: Львов Д.К., ред. *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных*. М.: МИА; 2013: 66–86.

## REFERENCES

1. Lvov D.K., Skvortsova T.M., Kostyukov M.A., Gordeeva Z.E., Kuyma A.U., Daniyarov O.A. et al. 5595 strain of Gissar virus. Deponent of Russian State Collection of Viruses № 796. 1982 (in Russian).
2. Gordeeva Z.E., Kostyukov M.A., Kuyma A.U. et al. Gissar virus – a new virus of family Bunyaviridae, isolated from argas ticks *Argas vulgaris* Fil. in Tajikistan. *Meditinskaya parazitologiya i parasitarnye bolezni*. 1990; 6: 34–5 (in Russian).
3. Lvov D.K. Arboviral zoonoses of Northern Eurasia (Eastern Europe and the Commonwealth of Independent States). In: Beran G.W., ed. *Handbook of zoonoses. Sec. ed. Section B: Viral*. London, Tokyo: CRC Press; 1994: 237–60.
4. Plyusnin A., Beaty B.J., Elliott R.M., Goldbach R., Kormelink R., Lundkvist A. et al. Family Bunyaviridae. In: King A.M., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. *Virus taxonomy: Ninth Report of the International Committee of Taxonomy of Viruses*. London: Elsevier; 2012: 725–41.
5. Lvov D.K., Alkhovsky S.V., Shchetinin A.M., Shchelkanov M.Yu. Bunyaviridae. In: *Lvov D.K.*, ed. *Handbook of virology. Viruses and viral infections of human and animals [Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh]*. Moscow: MIA; 2013: 279–98 (in Russian).
6. Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*. 2007; 23 (21): 2947–8.
7. 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.
8. Hannoun C., Corniou B., Rageau J. Isolation in Southern France and characterization of new tick-borne viruses related to Uukuniemi: Grand Arbaud and Ponteves. *Acta Virol.* 1970; 14 (2): 167–70.
9. Ikegami T., Narayanan K., Won S., Kamitani W., Peters C.J., Makino S. Rift Valley fever virus NSs protein promotes post-transcriptional

downregulation of protein kinase PKR and inhibits eIF2alpha phosphorylation. *PLoS Pathog.* 2009; 5 (2): e1000287.

10. Bouloy M., Janzen C., Vialat P., Khun H., Pavlovic J., Huerre M. et al. Genetic evidence for an interferon-antagonistic function of rift valley fever virus nonstructural protein NSs. *J. Virol.* 2001; 75 (3): 1371–7.
11. Andersson A.M., Melin L., Persson R., Raschperger E., Wikstrom L., Pettersson R.F. Processing and membrane topology of the spike proteins G1 and G2 of Uukuniemi virus. *J. Virol.* 1997; 71 (1): 218–25.
12. Won S., Ikegami T., Peters C.J., Makino S. NSm protein of Rift Valley fever virus suppresses virus-induced apoptosis. *J. Virol.* 2007; 81 (24): 13335–45.
13. 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.
14. 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.
15. Hubalek Z., Rudolf I. Tick-borne viruses in Europe. *Parasitol. Res.* 2012; 111 (1): 9–36.
16. Matsuno K., Weisend C., Travassos da Rosa A.P., Anzick S.L., Dahlstrom E., Porcella S.F. et al. Characterization of the Bhanja serogroup viruses (Bunyaviridae): a novel species of the genus Phlebovirus and its relationship with other emerging tick-borne phleboviruses. *J. Virol.* 2013; 87 (7): 3719–28.
17. Alkhovsky S.V., Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Shchetinin A.M., Krasnoslobodtcev K.G., Deryabin P.G. et al. Molecular genetic characteristics of Bchandzha virus (BHAV) and Razdan virus (RAZV) (Bunyaviridae, Phlebovirus), isolated from ixodes ticks *Rhipicephalus bursa* Canestrini & Fanzago, 1878, and *Dermacentor marginatus* Sulzer, 1776, in Transcaucasia. *Voprosy virusologii*. 2013; 58 (4): 14–9 (in Russian).
18. Kostyukov M.A., Gordeeva Z.E., Nemova N.V., Bulichev V.P., Kuyma A.U. To ecology of Gissar virus. In: *Lvov D.K.*, eds. *Itogi nauki i tekhniki. Virology. Arboviruses and arboviral infections*. Moscow: VINITI; 1991: 18–9 (in Russian).
19. Filippova N.A. Fauna of USSR. Arachnida. Argas ticks (*Argasidae*). In: *Fauna of USSR. Paukoobraznye*. Moscow, Leningrad; 1966; 4 (3): 255 (in Russian).
20. Lvov D.K. Ecological soundings of the former USSR territory for natural foci of arboviruses. In: *Sov. Med. Rev. Virol. UK: Harwood Academ. Pub. GmbH*; 1993: 1–47.
21. 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).
22. 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).
23. Shchelkanov M.Yu., Gromashevsky V.L., Lvov D.K. The role of eco-virological zoning in prediction of the influence of climatic changes on arbovirus habitats. *Vestnik RAMN*. 2006; 2: 22–5 (in Russian).
24. Lvov D.K. Ecology of viruses. In: *Lvov D.K.*, eds. *Handbook of virology. Viruses and viral infections of human and animals [Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh]*. Moscow: MIA; 2013: 66–86 (in Russian).

Поступила 13.03.14

Received 13.03.14