

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

## Генетическая характеристика вируса Герань (GERV – Geran virus) (*Bunyaviridae*, *Nairovirus*, группа Кальюб), изолированного в Азербайджане от клещей *Ornithodoros verrucosus* Olenev, Zasukhin and Fenyuk, 1934 (*Argasidae*), собранных в норе краснохвостой песчанки (*Meriones erythrourus* Grey, 1842)

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

В работе методом полногеномного секвенирования определена полная нуклеотидная последовательность генома ранее неклассифицированного вируса Герань (Geran virus – GERV, штамм LEIV-10899Az), который изолирован от клещей *Ornithodoros verrucosus* Olenev, Zasukhin and Fenyuk, 1934 (*Argasidae*, *Ornithodorinae*), собранных в норе краснохвостой песчанки *Meriones (Cricedidae) erythrourus* Grey, 1842, в окрестностях станции Герань Касум-Исмаиловского района Азербайджана (40°30' N, 46°40' E) (GenBank ID: KF801649). Показано, что GERV является новым представителем рода *Nairovirus* (*Bunyaviridae*). Результаты сравнительного анализа полногеномных последовательностей генома GERV с другими наировирусами продемонстрировали, что наиболее высокий уровень гомологии (55,6% для N-белка (S-сегмент), 54,2% для полипротеина Gn/Gc (M-сегмент) и 74,8% для РНК-зависимой РНК-полимеразы (L-сегмент)) GERV имеет с вирусом Чим (Chim virus – CHIMV), который также приурочен к убежищным биоценозам (норы грызунов) в Средней Азии и ранее отнесен к группе вируса Кальюб (Qalyub virus – QYBV). При сравнении GERV с доступными последовательностями QYBV (частичная последовательность 413 н.о. гена RdRp) выявили высокий уровень гомологии между ними: 74,3 и 97,4% для нуклеотидной и аминокислотной последовательности соответственно. Полученные данные позволяют классифицировать GERV как вирус группы QYBV рода *Nairovirus*, сем. *Bunyaviridae*.

Ключевые слова: *Bunyaviridae*; *Nairovirus*; группа Кальюб; арбовирусы; норово-убежищные биоценозы; *Ixodidae*; *Argasidae*; вирус Герань; полногеномное секвенирование.

### Genetic characterization of the Geran virus (GERV, *Bunyaviridae*, *Nairovirus*, Qalyub group) isolated from the ticks *Ornithodoros verrucosus* Olenev, Zasukhin and Fenyuk, 1934 (*Argasidae*) collected in the burrow of *Meriones erythrourus* Grey, 1842 in Azerbaijan

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

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

The full-length genome of the unclassified Geran virus (GERV, strain LEIV-10899Az) isolated from the ticks (*Ornithodoros verrucosus* Olenev, Zasukhin and Fenyuk, 1934 (*Argasidae*, *Ornithodorinae*)) collected in the burrow of the red-tailed gerbils (*Meriones (Cricedidae) erythrourus* Grey, 1842) near the Geran station (Azerbaijan) was sequenced using the next-generation approach (GenBank ID: KF801649). It was shown that the GERV is a new representative of the *Nairovirus* genus (family *Bunyaviridae*). The comparative analysis of the full-length genome sequences of the GERV with other nairoviruses showed that the highest level of homology (55.6% for N protein (S-segment) of 54.2% for the polyprotein Gn/Gc (M-segment) and 74.8% for the RNA-dependent RNA polymerase (L-segment)) GERV had with the Chim virus (CHIMV) that is also associated with the shelters biocenoses (rodent burrows) in Central Asia and was previously assigned to the Qalyub virus group (QYBV). Comparing the GERV with the QYBV sequences (partial sequence 413 n.o. of RdRp gene) revealed a high level of homology: 74.3 and 97.4% for the nucleotide and amino acid sequences, respectively. The data obtained in this work provided an opportunity to classify the GERV to the QYBV group; the *Nairovirus* genus, to the family *Bunyaviridae*.

Key words: *Bunyaviridae*; *Nairovirus*; Qalyub group; arboviruses; burrow-shelter biocenoses; *Ixodidae*; *Argasidae*; Geran virus; complete genome sequencing.

---

В процессе проведения вирусологического мониторинга [1–4] в Закавказье из пула клещей *Ornithodoros verrucosus* Olenev, Zasukhin and Fenyuk, 1934 (*Argasidae*, *Ornithodorinae*), собранных в норе краснохвостой

песчанки *Meriones (Cricedidae) erythrourus* Grey, 1842 в окрестностях станции Герань Касум-Исмаиловского района Азербайджана (40°30'N, 46°40'E), изолирован вирус Герань (Geran virus – GERV, штамм LEIV-10899-

Az), который не удалось идентифицировать серологическими методами. В настоящей работе для идентификации GERV проведено полногеномное секвенирование его генома и показано, что GERV является новым членом рода *Nairovirus* (сем. *Bunyaviridae*) и относится к группе Qalyub.

### Материалы и методы

**Вирусные штаммы.** Штамм LEIV-10899Az GERV получен из Государственной коллекции вирусов при ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России. Работы с инфекционным материалом, связанные с получением и накоплением вируса, проводили в боксовых помещениях, оборудованных и сертифицированных для работы с микроорганизмами II группы патогенности. Для восстановления вируса лиофилизированную суспензию восстановили в 1 мл культуральной среды ДМЕМ (с добавлением антибиотика) и использовали для интрацеребрального заражения новорожденных беспородных белых мышей. После развития симптомов поражения ЦНС (2–3 сут) мышей забивали в соответствии с правилами содержания и использования лабораторных животных.

**Выделение РНК.** Фрагменты мозга (около 30 мг) помещали в 1 мл реагента TRIzol (Life Technology, США) и гомогенизировали пластиковым пестиком. Далее выделяли РНК согласно прилагаемой инструкции производителя данного реагента. Конечный осадок суммарной РНК растворяли в 100 мкл DEPC-обработанной воды. Для дополнительной очистки, а также для удаления низ-

комолекулярных фракций рибосомальной (5 S) и транспортной РНК полученный препарат был очищен набором «RNeasy mini kit» (QIAGEN, Германия) в режиме clean-up на автоматической станции QIAcube (QIAGEN, Германия) в соответствии с инструкцией. Концентрацию РНК измеряли с использованием флуориметра Qubit (Invitrogen, США). Для удаления рибосомальной (18 и 28 S) РНК использовали набор «GenRead rRNA depletion Kit» (QIAGEN, Германия) в соответствии с инструкцией. Для этого брали не более 3 мкг суммарной РНК. Эффективность деплеции достигала 50–80%, и, таким образом, количество полученной РНК для дальнейшего анализа составило около 300 нг.

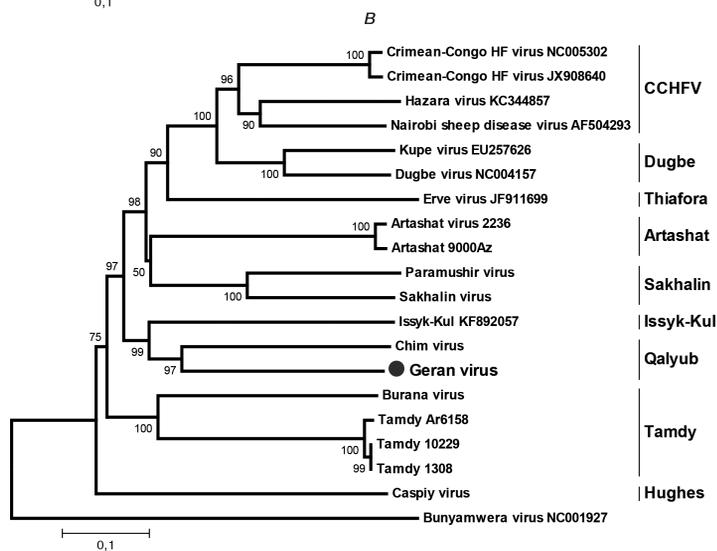
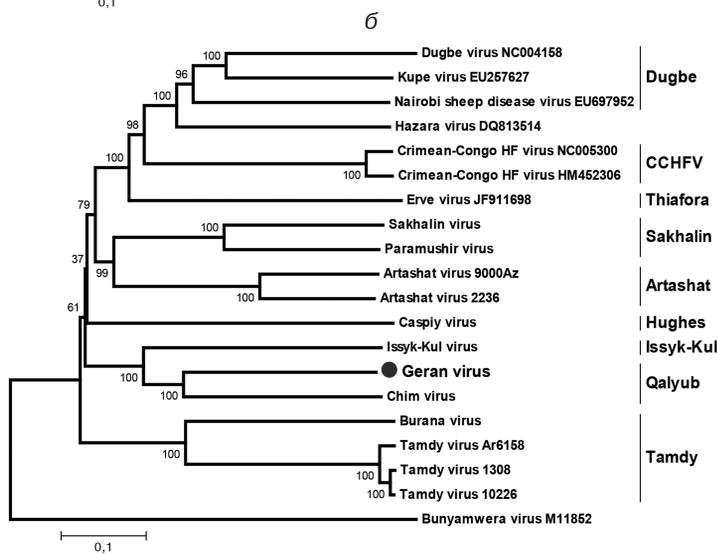
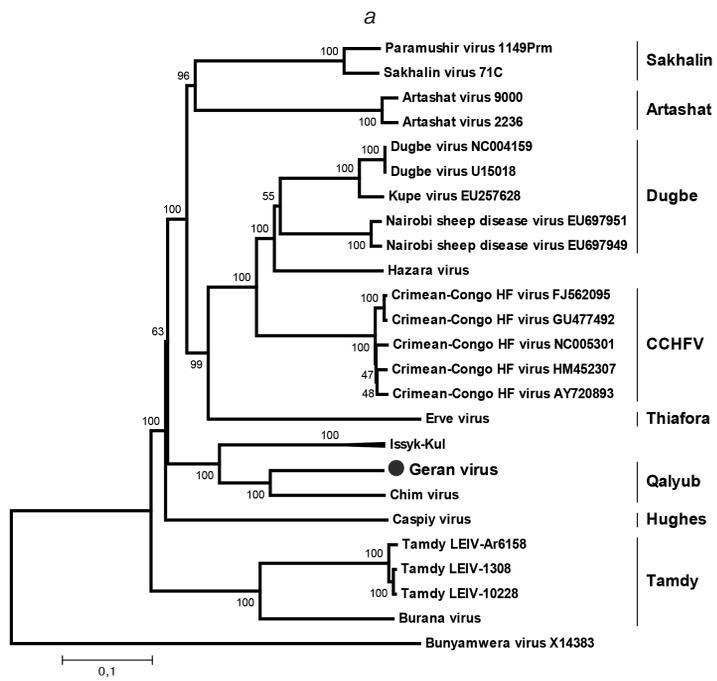
**Подготовка ДНК-библиотек и секвенирование.** Для получения кДНК около 100 нг деплецированной РНК фрагментировали в 15 мкл реакционной смеси для обратной транскриптазы с гексапраймером при 85°C в течение 5 мин, после чего помещали в лед. К фрагментированной РНК добавляли 200 ед. фермента RevertAid Premium (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® 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 использова-

Таблица 1

Вирусы рода *Nairovirus* (*Bunyaviridae*), изолированные в Закавказье, Средней Азии, Казахстане и высоких широтах [17–19]

Вирус	Группа	GenBank ID	Тип биоценоза	Источник выделения	Известный ареал	Ссылка
Крымской-Конго геморрагической лихорадки (CCHFV)	CCHFV	NC005300–NC005302	Пастбищный	Клещи <i>Hyalomma spp.</i> , преимущественно <i>H. marginatum</i> ; ежи; зайцы; грызуны; домашние животные; человек	Средняя Азия, Казахстан, Закавказье, Юг Европы, Африка	[20–22]
Хазара (Hazara virus – HAZV)		M86624, DQ076419		Клещи <i>Ixodidae</i>	Средняя Азия	[23]
Чим (Chim virus – CHIMV)	Qalyub	KF801656	Убежищный	Клещи <i>Ornithodoros tartakovskyi</i> , <i>O. papillipes</i> , <i>Rhipicephalus turanicus</i> <i>Hyalomma asiaticum</i> ; большая песчанка <i>Rhombomys opimus</i>	То же	[10]
Герань (Geran virus – GERV)		KF801649		Клещи <i>Ornithodoros verrucosus</i>	Закавказье	Данная статья
Сахалин (Sakhalin virus – SAKHV)	Sakhalin	KF801659	Гнездовья морских птиц	Клещи <i>Ixodes uriae</i>	Высокие широты	[24]
Парамушир (Paramushir virus – PRMV)		KF801657				
Тамды (Tamdy virus – TAMV)	Tamdy	KF801653	Пастбищный	Клещи <i>Hyalomma asiaticum</i> и <i>H. spp.</i> , <i>Rhipicephalus turanicus</i> , <i>Haemaphysalis concinna</i> ; песчанки; птицы; человек	Средняя Азия, Казахстан, Закавказье	[8, 25]
Бурана (Burana virus – BURV)		KF801651		Клещи <i>Haemaphysalis punctate</i> , <i>Haem. concinna</i>	Средняя Азия	[26, 27]
Каспий (Caspian virus – CASV)	Hughes	KF801659	Гнездовья морских птиц	Клещи <i>Ornithodoros capensis</i> ; чайки <i>Larus argentatus</i>	Восточное и западное побережье Каспийского моря	[9]
Иссык-Куль (Issyk-Kul virus – ISKV)	Issyk-Kul	KF801652	Убежищный	Летучие мыши ( <i>Vespertilionidae</i> ); клещи <i>Argasidae</i> ; птицы; человек	Средняя Азия, Малайзия	[6, 28]
Узун-Агач (Uzun-Agach – UZAV)		KJ744032		Летучая мышь <i>Myotis blythii</i>	Средняя Азия	–
Арташат (Artashat virus – ARTSHV)	Artashat	KF801650	Убежищный	Клещи <i>Ornithodoros alactagalis</i> , <i>O. verrucosus</i>	Закавказье	[7]



Результаты филогенетического анализа, проведенного методом ближайшего соседа на основе выравненных аминокислотных полноразмерных последовательностей протеинов вирусов рода *Nairovirus*. а – РНК-зависимая RdRp (L-сегмент); б – полипротеин Gn/Ge (M-сегмент); в – белок N (S-сегмент). Положение на дендрограмме GERV обозначено кружком.

ли набор «TruSeq DNA Sample Prep Kits v2» (Illumina, США) в соответствии с инструкцией. Для селекции ДНК по размеру использовали реагент «AMPure XP» (Beckman Coulter, США) с расчетом получения ДНК-библиотек длиной более 270 н.о., что соответствует размеру вставки около 150 н.о. Данные требования к размеру ДНК-библиотек связаны с использованием для секвенирования набора, позволяющего секвенировать не более 150 н.о. в одну сторону. Полученные библиотеки визуализировали на станции автоматического электрофореза «QIAxcel Advanced System» (QIAGEN, Германия). Молярность полученных библиотек измеряли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (2x SsoFast EvaGreen Supermix (Bio-Rad, США), прибор Bio-Rad CFX1000) согласно рекомендациям, изложенным в руководстве «Sequencing Library qPCR Quantification Guide» (Illumina, США).

Секвенирование ДНК-библиотек 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 6.0» (CLC bio, США). Предварительный поиск гомологичных последовательностей проводили с помощью сервиса BLASTX (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Для анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей использовали пакет программ «Lasergene Core Suite» (DNASTAR, США). Выравнивание последовательностей осуществляли по алгоритму ClustalW. Филогенетический анализ и построение дендрограмм проводили с использованием программы Mega5 по алгоритму ближайшего соседа (neighbor-joining) или максимального правдоподобия (Maximum likelihood) с 1000-кратным бутстреп-тестированием.

## Результаты и обсуждение

Для анализа результатов полногеномного секвенирования полученные короткие последовательности 150 н.о. длиной (риды, от англ. reads) были собраны *de novo* в более длинные фрагменты (контиги, от англ. contigs sequences) с использованием ассемблера программы «CLC Genomics Workbench 6.0» (CLC bio, США). Полученные контиги предварительно анализировали с использованием on-line сервиса BLASTX (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>), который позволяет проводить поиск гомологичных белков в базе данных GenBank, используя для запроса нуклеотидные последовательности, транслируемые в автоматическом режиме. Поиск гомологий проводился с ограничением по поиску «viruses (taxid:10239)». В результате обнаружили три последовательности длиной 12,02, 4,973 и 2,272 н.о. соответственно, открытые рамки считывания которых кодируют белки, обладающие гомологией с вирусами рода *Nairovirus* (*Bunyaviridae*). Результаты дальнейшего анализа показали, что мы определили практически полные нуклеотидные последовательности генома GERV, который, как и у всех наировирусов, представлен тремя сегментами РНК отрицательной полярности, которые кодируют РНК-зависимую РНК-полимеразу (RdRp; L-сегмент), полипротеин-предшественник оболочечных гликопротеидов Gn/Gc (M-сегмент) и белок нуклеокапсида (N, S-сегмент) соответственно (GenBank ID: KF801649). Структура генома GERV и размер кодируемых белков также соответствуют таковым вирусам данного рода [5].

Таблица 2

Уровень идентичности (в %; рассчитанный на основе генетической дистанции – p-distance) полноразмерных последовательностей белков вируса GERV с вирусами рода *Nairovirus*

Серо-группа	Вирус	RdRp (L-сегмент)	Gc/Gn (M-сегмент)	N (S-сегмент)
CCHFV	Крымской-Конго геморрагической лихорадки (CCHFV – Crimean-Congo hemorrhagic fever virus)	51,4	30,2	40,9
Sakhalin	Сахалин (SAKHV – Sakhalin virus)	52,2	30,0	36,2
Dugbe	Дугбе (DUGV – Dugbe virus)	51,3	27,5	38,2
Thiafora	Ерве (ERVEV – Erve virus)	48,1	28,3	33,3
Issyk-Kul	Иссык-Куль (ISKV – Issyk-Kul virus)	62,3	45,1	42,4
Hughes	Каспий (CASV – Caspiy virus)	51,0	29,3	30,3
Tamdy	Тамды (TAMV – Tamdy virus)	48,2	29,2	37,0
Artashat	Арташат (ARTSV – Artashat virus)	50,8	33,8	36,9
Qalyub	Чим (CHIMV – Chim virus)	74,8	54,2	55,6

Согласно последнему изданию отчета Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV), к роду *Nairovirus* отнесено около 35 вирусов, которые объединены в семь серогрупп (видов) [5]. Ранее нами показано, что ряд неклассифицированных буньявирусов, преимущественно изолированных в Закавказье, Средней Азии и Казахстане, являются новыми представителями данного рода (табл. 1) [6–9]. Результаты сравнительного анализа полноразмерных аминокислотных последовательностей генома GERV с другими наировирусами также представлены в табл. 1. В среднем уровень гомологии составляет 30–40% по белку N, 27–33% по полипротеину Gn/Gc и 48–52% по последовательности RdRp. Наибольший уровень гомологии GERV по всем трем белкам отмечен для вируса Иссык-Куль (Issyk-Kul virus – ISKV) (42,4–62,3%) и вируса Чим (Chim virus – CHIMV) (54,2–74,8%) (табл. 2). Ранее CHIMV был отнесен к серогруппе Кальюб (Qalyub) рода *Nairovirus* на основании анализа генома, а также общих экологических свойств (приуроченность к убежищным биоценозам – норам грызунов) с вирусами данной серогруппы [10]. Для вируса Кальюб (Qalyub virus – QYBV), который является прототипным вирусом одноименной группы, в настоящее время доступна только частичная последовательность (413 н.о.) гена RdRp (AY359528). Этот участок RdRp является наиболее консервативным у наировирусов и используется для филогенетического анализа [11]. Уровень гомологии GERV с QYBV по нуклеотидной последовательности части консервативного каталитического центра составил 74,3%. Гомология аминокислотных последовательностей GERV и QYBV на данном участке составляет 97,1%. Полученные данные позволяют классифицировать GERV как вирус группы QYBV (см. рисунок).

QYBV впервые изолирован R. Taylor и H. Dressler из клещей *Ornithodoros erraticus*, собранных в норе в дельте Нила в окрестностях пос. Кальюб, Египет (30°N, 32°E) в 1952 г. Комплементсвязывающие антитела к QYBV найдены у людей (1,5%), верблюдов, ослов, свиней, буй-

волов, собак, грызунов. Антигенная группа Qalyub, которая сформирована QYBV и антигенно близкими ему вирусами, является одной из прототипных групп рода *Nairovirus* сем. *Bunyaviridae* [12–15]. Филогенетическая близость GERV к QYBV, а также к CHIMV, изолированному от клещей *Ornithodoros tartakovskyi* Olenev, 1931 в убежищных биоценозах (норы большой песчанки *Rhombomys opimus* Lichtenstein, 1823) в Средней Азии и Казахстане, определяют потенциальную возможность заражения GERV людей.

Ареал клещей *O. verrucosus* Olenev, Zasukhin and Fenyuk, 1934 (*Argasidae*, *Ornithodorinae*) охватывает юг Молдавии, Украины, Кавказа, ограничен на севере 47°30' в западной части и 43°30'. Ареал включает юг Краснодарского и Ставропольского краев, Северные и Восточные предгорья Дагестана, предгорья и равнинные возвышенности Грузии, в Армении долины рек Аране и Раздан, в Азербайджане предгорья Малого Кавказа, Кобыстанское плато и Апшеронский полуостров. На этих территориях нельзя исключить существование природных очагов GERV. Клещи *O. verrucosus* заселяют убежищные биотопы, в частности норы красновостой песчанки *Meriones (Cricedidae) erythrourus* Grey, 1842, распространенной в Средней Азии, на Юге Казахстана и в Восточном Закавказье. Данный вид, сформировавшийся в конце среднего плиоцена, тяготеет к пустынным и полупустынным ландшафтам. Глубокие, с 5–10 выходными отверстиями норы *Meriones erythrourus* обеспечивают стабильность адаптированных к ним биоценозов.

Вирусологическое обследование территории Закавказья проводили в рамках программы биобезопасности и изучения биоразнообразия в разных экосистемах Северной Евразии, а также для пополнения Государственной коллекции вирусов [1, 3, 16].

#### ЛИТЕРАТУРА

- 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.
- Львов Д.К. Экология вирусов. В кн.: Львов Д.К., ред. *Вирусы и вирусные инфекции*. М.: МИА; 2013: 66–86.
- 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.
- 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 НПЦ ТМГ МЗ РФ; 2001.
- 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: classification and nomenclature of viruses: 9th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London: Elsevier; 2012: 725–41.
- Альховский С.В., Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Щетинин А.М., Дерябин П.Г., Самохвалов Е.И. и др. Таксономия вируса Иссык-Куль (Issyk-Kul virus, ISKV; Bunyaviridae, Nairovirus), возбудителя Иссык-Кульской лихорадки, изолированного от летучих мышей (Vespertilionidae) и клещей Argas (Carios) vespertilionis (Latreille, 1796). *Вопросы вирусологии*. 2013; 58(5): 11–5.
- Альховский С.В., Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Щетинин А.М., Дерябин П.Г., Гительман А.К. и др. Таксономия вируса Арташат (ARTSV – Artashat virus) (Bunyaviridae, Nairovirus), изолированного из клещей *Ornithodoros alactagalis* Issaakjan, 1936 и *O. verrucosus* Olenev, Sassuchin et Fenuk, 1934 (*Argasidae* Koch, 1844), собранных в Закавказье. *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(3): 24–8.
- Львов Д.К., Альховский С.В., Щелканов М.Ю., Щетинин А.М., Аристова В.А., Гительман А.К. и др. Таксономия ранее негруппированного вируса Тамды (TAMV – Tamdy virus) (Bunyaviridae, Nairovirus), изолированного от иксодовых кле-

- щей *Hyalomma asiaticum asiaticum* Schülce et Schlottke, 1929 (Ixodidae, Hyalomminae) в Средней Азии и Закавказье. *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(2): 15–22.
9. Львов Д.К., Альховский С.В., Щелканов М.Ю., Шchetinin A.M., Дeryabin П.Г., Самохвалов Е.И. и др. Генетическая характеристика вируса Каспия (CASV – Caspiu 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. *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(1): 24–9.
  10. Львов Д.К., Альховский С.В., Щелканов М.Ю., Шchetinin A.M., Аристова В.А., Морозова Т.Н. и др. Таксономия ранее неклассифицированного вируса Чим (CHIMV – Chim virus) (*Bunyaviridae*, *Nairovirus*, группа Кальюб), изолированного в Узбекистане и Казахстане из иксодовых (Acari: *Ixodidae*) и аргасовых (Acari: *Argasidae*) клещей, собранных в норах больших песчанок *Rhombomys opimus* Lichtenstein, 1823 (*Muridae*, *Gerbillinae*). *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(3): 18–23.
  11. 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.
  12. Clerx J.P., Bishop D.H. Qalyub virus, a member of the newly proposed *Nairovirus* genus (*Bunyaviridae*). *Virology*. 1981; 108(2): 361–72.
  13. Miller B.R., Loomis R., Dejean A., Hoogstraal H. Experimental studies on the replication and dissemination of Qalyub virus (*Bunyaviridae*: *Nairovirus*) in the putative tick vector, *Ornithodoros* (*Pavlovskyella*) *erraticus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1985; 34(1): 180–7.
  14. Bishop D.H., Calisher C.H., Casals J., Chumakov M.P., Gaidamovich S.Y., Hannoun C. et al. *Bunyaviridae*. *Intervirology*. 1980; 14(3–4): 125–43.
  15. QALYUB. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: *Am. Soc. Trop. Med. Hyg.*; 1985: 847.
  16. 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 экстраординарных проблем, НИИ вирусологии им. Д.И. Иванова РАМН; 1993.
  17. 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; Boca Raton: AMArbar; 1994: 237–60.
  18. Lvov D.K. Arboviruses in the USSR. In: Vasenjak-Hirjan J., Porterfield J.S., eds. *Arboviruses in the mediterranean countries*. New York: Gustav Fischer Verlag; 1980: 35–48.
  19. Lvov D.K. Natural foci of arboviruses in the USSR. In: *Zhdanov V.M., ed. Sov. Med. Rev. Virol.* UK: Harwood Academ. Pub. GmbH; 1987: 153–96.
  20. Yashina L., Petrova I., Seregin S., Vyshemirskii O., Lvov D., Aristova V. et al. Genetic variability of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Russia and Central Asia. *J. Gen. Virol.* 2003; 84(Pt 5): 1199–206.
  21. Seregin S.V., Tumanova I.Y., Vyshemirskii O.I., Petrova I.D., Lvov D.K., Gromashevskii V.L. et al. Study of the genetic variability of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Central Asia. *Dokl. Biochem. Biophys.* 2004; 398: 313–5.
  22. Kuhn J.H., Seregin S.V., Morzunov S.P., Petrova I.D., Vyshemirskii O.I., Lvov D.K. et al. Genetic analysis of the M RNA segment of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus strains involved in the recent outbreaks in Russia. *Arch. Virol.* 2004; 149(11): 2199–213.
  23. Marriott A.C., Nuttall P.A. Comparison of the S RNA segments and nucleoprotein sequences of Crimean-Congo hemorrhagic fever, Hazara, and Dugbe viruses. *Virology*. 1992; 189(2): 795–9.
  24. Lvov D.K., Timofeeva A.A., Gromashevskii V.L., Chervonsky V.I., Gromov A.I., Tsyarkin Y.M. et al. «Sakhalin» virus—a new arbovirus isolated from *Ixodes* (*Ceratixodes*) *putus* Pick.-Camb. 1878 collected on Tuleniy Island, Sea of Okhotsk. *Arch. Gesamte Virusforsch.* 1972; 38(2): 133–8.
  25. Lvov D.K., Sidorova G.A., Gromashevskii V.L., Kurbanov M., Skvortsova L.M., Gofman Y.P. et al. Virus «Tamdy»—a new arbovirus, isolated in the Uzbee S.S.R. and Turkmen S.S.R. from ticks *Hyalomma asiaticum asiaticum* Schüle et Schlottke, 1929, and *Hyalomma plumbeum plumbeum* Panzer, 1796. *Arch. Virol.* 1976; 51(1–2): 15–21.
  26. Карась Ф.Р., Львов Д.К., Варгина С.Г., Громашевский В.Л., Стеблянка С.Н., Колпаков В.Н. Изоляция нового для науки вируса Бурана из клещей *Haemaphysalis punctata* в северном климатическом районе Киргизии. В кн.: Львов Д.К., ред. *Экология вирусов*. М.; 1976: 94–7.
  27. Львов Д.К., Альховский С.В., Щелканов М.Ю., Шchetinin A.M., Дeryabin П.Г., Гительман А.К. и др. Таксономический статус вируса Бурана (BURV – Burana virus) (*Bunyaviridae*, *Nairovirus*, группа Тамды), изолированного из клещей *Haemaphysalis punctata* Canestrini et Fanzago, 1877 и *Haem. concinna* Koch, 1844 (*Ixodidae*, *Haemaphysalinae*) в Киргизии. *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(4): 10–5.
  28. Lvov D.K., Karas F.R., Timofeev E.M., Tsyarkin Y.M., Vargina S.G., Veselovskaya O.V. et al. Issyk-Kul virus, a new arbovirus isolated from bats and *Argas* (*Carios*) *vespertilionis* (Latreille, 1802) in the Kirghiz S.S.R. Brief report. *Arch. Gesamte Virusforsch.* 1973; 42(2): 207–9.

Поступила 29.05.14

## REFERENCES

1. 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.
2. Lvov D.K. Ecology of viruses. In: Lvov D.K., ed. *Viruses and viral infection [Virusy i virusnye infektsii]*. Moscow: MIA; 2013: 66–86. (in Russian)
3. Shchelkanov M.Yu., Gromashevskii V.L., Lvov D.K. The role of ecovirological zoning in prediction of the influence of climatic changes on arbovirus habitats. *Vestnik RAMN.* 2006; 2: 22–5. (in Russian)
4. Lvov D.K., Deryabin P.G., Aristova V.A., Butenko A.M., Galkina I.V., Gromashevskii V.L. et al. Atlas of distribution of natural-focal viruses infection on the territory of Russian Federation. Moscow: Minzdrav RF; 2001. (in Russian)
5. 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: 9th Report of the International Committee of Taxonomy of Viruses*. London: Elsevier; 2012: 725–41.
6. Alkhovskiy S.V., Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Shchetinin A.M., Deryabin P.G., Samokhvalov E.I., Gitelman A.K., Botikov A.G. Taxonomy of Issyk-Kul virus (ISKV, Bunyaviridae, Nairovirus), the etiologic agent of Issyk-Kul fever, isolated from bats (*Vespertilionidae*) and ticks *Argas* (*Carios*) *vespertilionis* (Latreille, 1796). *Voprosy virusologii.* 2013; 58(5): 11–5. (in Russian)
7. Alkhovskiy S.V., Lvov D.K., Shchelkanov M. Yu., Shchetinin A. M., Deryabin P. G., Gitelman A.K. et al. Taxonomy of Artashat virus (ARTSV) (*Bunyaviridae*, *Nairovirus*), isolated from ticks *Ornithodoros alactagalis* Issaakjan, 1936 and *O. verrucosus* Olenov, Sassuchin et Fenuk, 1934 (*Argasidae* Koch, 1844), collected in Transcaucasia. *Voprosy virusologii.* 2014; 59(3): 24–8. (in Russian)
8. Lvov D.K., Alkhovskiy S.V., Shchelkanov M.Yu., Shchetinin A.M., Aristova V.A., Gitelman A.K. et al. Taxonomy of previously unclassified Tamdy virus (TAMV – Tamdy virus) (*Bunyaviridae*, *Nairovirus*), isolated from ixodes ticks *Hyalomma asiaticum asiaticum* Schüle et Schlottke, 1929 (*Ixodidae*, *Hyalomminae*) in the Central Asia and Transcaucasia. *Voprosy virusologii.* 2014; 59 (2): 15–22. (in Russian)
9. Lvov D.K., Alkhovskiy 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* (Laridae Vigors, 1825) and ticks *Ornithodoros capensis* Neumann in eastern and western coast of Caspian sea. *Voprosy virusologii.* 2014; 59 (1): 24–9. (in Russian)
10. Lvov D.K., Alkhovskiy S.V., Shchelkanov M.Yu., Shchetinin A.M., Aristova V.A., Morozova T.N. et al. Taxonomy of previously unclassified Chim virus (CHIMV – Chim virus) (*Bunyaviridae*, *Nairovirus*, Kalub group), isolated in Uzbekistan and Kazakhstan from ixodes (Acari: *Ixodidae*) and argas (*Acari*: *Argasidae*) ticks, collected in a burrows of great gerbil *Rhombomys opimus* Lichtenstein, 1823 (*Muridae*, *Gerbillinae*). *Voprosy virusologii.* 2014; 59 (3): 18–23. (in Russian)
11. 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.
12. Clerx J.P., Bishop D.H. Qalyub virus, a member of the newly proposed *Nairovirus* genus (*Bunyaviridae*). *Virology*. 1981; 108(2): 361–72.
13. Miller B.R., Loomis R., Dejean A., Hoogstraal H. Experimental studies on the replication and dissemination of Qalyub virus (*Bunyaviridae*: *Nairovirus*) in the putative tick vector, *Ornithodoros* (*Pavlovskyella*) *erraticus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1985; 34(1): 180–7.
14. Bishop D.H., Calisher C.H., Casals J., Chumakov M.P., Gaidamovich

- S.Y., Hannoun C. et al. Bunyaviridae. Intervirology. 1980; 14(3-4): 125–43.
15. QALYUB. In: Karabatsos N., ed. International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, Texas: Am. Soc. Trop. Med. Hyg.; 1985: 847.
  16. Lvov D.K., ed. *Organization of ecological-epidemiological monitoring in Russian Federation for anti-epidemic defense of the civilians and army*. Moscow: Minzdrav R.F., The Federal Office of Biomedical and Extreme Problems, The D.I. Ivanovsky Institute of Virology; 1993. (in Russian)
  17. 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; Boca Raton: AMArbar; 1994: 237–60.
  18. Lvov D.K. Arboviruses in the USSR. In: Vasenjak-Hirjan J., Porterfield J.S., eds. *Arboviruses in the mediterranean countries*. New York: Gustav Fischer Verlag; 1980: 35–48.
  19. Lvov D.K. Natural foci of arboviruses in the USSR. In: Zhdanov V.M., ed. *Sov. Med. Rev. Virol.* UK: Harwood Academ. Pub. GmbH; 1987: 153–96.
  20. Yashina L., Petrova I., Seregin S., Vyshemirskii O., Lvov D., Aristova V. et al. Genetic variability of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Russia and Central Asia. *J. Gen. Virol.* 2003; 84(Pt 5): 1199–206.
  21. Seregin S.V., Tumanova I.Y., Vyshemirskii O.I., Petrova I.D., Lvov D.K., Gromashevskii V.L. et al. Study of the genetic variability of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Central Asia. *Dokl. Biochem. Biophys.* 2004; 398: 313–5.
  22. Kuhn J.H., Seregin S.V., Morzunov S.P., Petrova I.D., Vyshemirskii O.I., Lvov D.K. et al. Genetic analysis of the M RNA segment of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus strains involved in the recent outbreaks in Russia. *Arch. Virol.* 2004; 149(11): 2199–213.
  23. Marriott A.C., Nuttall P.A. Comparison of the S RNA segments and nucleoprotein sequences of Crimean-Congo hemorrhagic fever, Hazara, and Dugbe viruses. *Virology.* 1992; 189(2): 795–9.
  24. Lvov D.K., Timofeeva A.A., Gromashevskii V.L., Chervonsky V.I., Gromov A.I., Tsyarkin Y.M. et al. Sakhalin virus—a new arbovirus isolated from *Ixodes (Ceraticodes) putus* Pick.-Camb. 1878 collected on Tuleniy Island, Sea of Okhotsk. *Arch. Gesamte Virusforsch.* 1972; 38(2): 133–8.
  25. Lvov D.K., Sidorova G.A., Gromashevskii V.L., Kurbanov M., Skvortsova L.M., Gofman Y.P. et al. Virus «Tamdy»—a new arbovirus, isolated in the Uzbee S.S.R. and Turkmen S.S.R. from ticks *Hyalomma asiaticum asiaticum* Schulee et Schlottko, 1929, and *Hyalomma plumbeum plumbeum* Panzer, 1796. *Arch. Virol.* 1976; 51(1-2): 15–21.
  26. Karas F.R., Lvov D.K., Vargina S.G., Gromashevskii V.L., Steblyanko S.N., Kolpakov V.N. Isolation of new virus – Burana virus, from ticks *Haemaphysalis punctata* in the north climatic region of Kirgizia In: Lvov D.K., ed. *Ecology of viruses [Ekologiya virusov]*. Moscow; 1976: 94–7. (in Russian)
  27. Lvov D.K., Alkhovskiy S.V., Shchelkanov M.Yu., Shchetinin A.M., Deryabin P.G., Gitelman A.K. et al. Taxonomy status of Burana virus (BURV – Burana virus) (*Bunyaviridae*, *Nairovirus*, Tamdy group), isolated from ticks *Haemaphysalis punctata* Canestrini et Fanzago, 1877 and *Haem. concinna* Koch, 1844 (*Ixodidae*, *Haemaphysalinae*) in Kyrgyzstan. *Voprosy virusologii.* 2014; 59(4): 10–5. (in Russian)
  28. Lvov D.K., Karas F.R., Timofeev E.M., Tsyarkin Y.M., Vargina S.G., Veselovskaya O.V. et al. Issyk-Kul virus, a new arbovirus isolated from bats and *Argas (Carios) vespertilionis* (Latrell, 1802) in the Kirghiz S.S.R. Brief report. *Arch. Gesamte Virusforsch.* 1973; 42(2): 207–9.

Received 29.05.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014  
УДК 578.832.26:578.5

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

## **Генетическая характеристика вируса Повассан (POWV – Powassan virus), изолированного от клещей *Haemaphysalis longicornis* в Приморском крае, и двух штаммов вируса клещевого энцефалита (*Flaviviridae*, *Flavivirus*): Алма-Арасан (AAV – Alma-Arasan virus), изолированного от клещей *Ixodes persulcatus* в Казахстане, и Малышево, изолированного от комаров *Aedes vexans nipponii* в Хабаровском крае**

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

В работе методом полногеномного секвенирования определены полные последовательности генома трех клещевых флавивирусов (род *Flavivirus*, сем. *Bunyaviridae*): Повассан (Powassan virus – POWV, штамм LEIV-3070Prm, изолирован от иксодовых клещей *Haemaphysalis longicornis* в 1973 г. в Приморском крае), Алма-Арасан (Alma-Arasan virus – AAV, штамм LEIV-1380Kaz, выделен из клещей *Ixodes persulcatus* в Казахстане в 1977 г.) и вируса Малышево (Malyshevo virus изолирован из пула комаров *Aedes vexans nipponii* в 1978 г. в Хабаровском крае). Показано, что AAV и вирус Малышево являются штаммами вируса клещевого энцефалита Сибирского и Дальневосточного генотипов соответственно (GenBank ID: AAV KJ744033; штамм Малышево KJ744034). Филогенетически AAV наиболее близок (94,6% гомологии по нуклеотидной и 98,3% по аминокислотной последовательности) к штаммам TBEV, изолированным в Забайкалье (Vasilchenko, Chita-653, Irkutsk-12, Aino). Штамм Малышево наиболее близок (96,4 и 98,3%) к штаммам TBEV, изолированным на Дальнем Востоке (1230, Spassk-72, Primorye-89). POWV LEIV-3070Prm обладает 99,7% гомологии с прототипным штаммом POWV LB, изолированным в Канаде, и 99,5% гомологии с дальневосточными изолятами POWV (Spassk-9 и Nadezdinsk-1991).

Ключевые слова: Повассан (POWV); Алма-Арасан (AAV); *Flaviviridae*; *Flavivirus*; *Ixodidae*; Приморский край; Казахстан; пастбищные биоценозы; метагеномный анализ.

Для корреспонденции: Львов Дмитрий Константинович, д-р мед. наук, проф., акад. РАН; e-mail: dk\_lvov@mail.ru  
Correspondence to: Dmitry Lvov, MD, PhD, DSc, prof., Academician of RAS; e-mail: dk\_lvov@mail.ru