

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017
УДК 578.823.1/2:578.5(574/575)

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

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВИРУСОВ ВИДА *CHENUDA VIRUS* (*ORBIVIRUS*, *REOVIRIDAE*), ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В СРЕДНЕЙ АЗИИ

Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва

Chenuda virus (CNUV) (*Orbivirus*, семейство *Reoviridae*) является единственным известным видом орбивирусов, экологически связанным с аргасовыми (*Argasidae*) клещами, и изучение этой группы вирусов необходимо для понимания общих закономерностей эволюции вирусов рода *Orbivirus*. Проведен сравнительный полногеномный анализ 5 различных вирусов, принадлежащих к виду *Chenuda virus*, включая штаммы вируса Баку (BAKV), и циркулирующих на относительно ограниченной территории в Центральной Азии и в Закавказье. Показано, что дивергенция генов белков VP4 (OC1) и VP6 (Hel) значительно превышает этот показатель для остальных генов. Дивергенция по белкам VP4 (OC1) и VP6 (Hel) между CNUV и BAKV составляет около 50%. Даже у близкородственных штаммов, изолированных в одном географическом регионе и обладающих высокой степенью гомологии консервативных генов (90 – 95%), дивергенция по VP4 (OC1) и VP6 (Hel) достигает значений, которые соответствуют разным серотипам (74,1 – 82,2%).

Ключевые слова: *Orbivirus*; антигенный комплекс Кемерово; арбовирусы; вирус Ченуда; вирус Баку; *Argasidae*; эволюция вирусов.

Для цитирования: Еремян А.А., Львов Д.К., Щетинин А.М., Дерябин П.Г., Аристова В.А., Гительман А.К., Ботиков А.Г., Альховский С.В. Генетическое разнообразие вирусов вида *Chenuda virus* (*Orbivirus*, *Reoviridae*), циркулирующих в Средней Азии. *Вопросы вирусологии*. 2017; 62 (2): 81-86.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-2-81-86>

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

GENETIC DIVERSITY OF VIRUSES OF CHENUDA VIRUS SPECIES (*ORBIVIRUS*, *REOVIRIDAE*) CIRCULATING IN CENTRAL ASIA

D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Federal State Budgetary Institution «Federal Research Centre of Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya», Moscow, 123098, Russian Federation

Chenuda virus (CNUV) (*Orbivirus*, *Reoviridae*) is the only known orbivirus associated with argas (*Argasidae*) ticks. Scientific study of this group is necessary for understanding of *Orbivirus* genus evolution patterns. We conducted a comparative analysis of full genomes of five different viruses of *Chenuda virus* species, including Baku virus strains (BAKV) circulating in a rather limited area in the Central Asia and Transcaucasia. It was shown that VP4(OC1) and VP6(Hel) proteins variability greatly exceeds the variability of other proteins. The divergence between CNUV and BAKV in this proteins is about 50%. Even in closely related strains isolated from the same geographical region, the conservative genes of which are 90-95% identical, the VP4(OC1) and VP6(Hel) divergence reaches values that would usually be indicative of different serotypes (74.1-82.2%).

Keywords: *Orbivirus*; Kemerovo antigenic complex; arboviruses; *Chenuda virus*; Baku virus; *Argasidae*; virus evolution.

For citation: Eremyan A.A., Lvov D.K., Shchetinin A.M., Deryabin P.G., Aristova V.A., Gitelman A.K., Botikov A.G., Alkhovsky S.V. Genetic diversity of viruses of *Chenuda virus* species (*Orbivirus*, *Reoviridae*) circulating in Central Asia. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2017; 62(2): 81-86. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-2-81-86>

For correspondence: Sergey V. Alkhovsky, Ph.D., Head of the Laboratory of biotechnology, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Federal State Budgetary Institution “N.F. Gamaleya Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology”, 123098, Moscow, Russian Federation.
E-mail: salkh@ya.ru

Information about authors:

Lvov D.K., <http://orcid.org/0000-0001-8176-6582>
Deryabin P.G., <https://orcid.org/0000-0002-8522-9554>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 28 November 2016
Accepted 13 December 2016

Для корреспонденции: Альховский Сергей Владимирович, канд. биол. наук, руководитель лаборатории биотехнологии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва. E-mail: salkh@ya.ru

Введение

Род *Orbivirus* входит в семейство Reoviridae, которое объединяет вирусы с сегментированным двухцепочечным РНК-геномом (9–12 сегментов) и сложно устроенным «трехслойным» капсидом, лишенным липидной оболочки [1]. К роду *Orbivirus* принадлежат многие важные патогены сельскохозяйственных животных, среди которых вирус синего языка (*Bluetongue virus*, BTV), вирус африканской чумы лошадей (*African horse sickness virus*, AHSV), вирус перуанской болезни лошадей (*Peruvian horse sickness virus*, PHSV), вирус эпизоотической геморрагической болезни (*Epizootic hemorrhagic disease virus*, EHDV) и ряд других [2–4]. Вирусы Кемерово (KEMV), Трибеч (TRBV) и Липовник (LIPV), циркулирующие на территории России и Восточной Европы, способны вызывать лихорадочное заболевание человека, часто протекающее с явлениями поражения ЦНС [5–7].

Орбивирусы являются арбовирусами, т. е. передаются позвоночным посредством кровососущих членистоногих переносчиков, причем в зависимости от переносчика орбивирусы делятся на 3 экологические группы: передающиеся мокрецами, комарами и клещами. Согласно последнему отчету Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV), клещевые орбивирусы представлены 4 видами (*Great Island virus*, *Wad Medani virus*, *Chenuda virus* (CNUV), и *Chobar gorge virus*), каждый из которых в свою очередь экологически связан с определенными видами иксодовых (Ixodidae) или аргасовых (Argasidae) клещей [1, 8]. Вирусы вида *Chenuda virus* экологически связаны с аргасовыми клещами и их прокормителями птицами [8]. На территории Северной Евразии несколько штаммов вируса Баку (*Baku virus*, BAKV), принадлежащего к этому виду, были изолированы от чайки (*Larus argentatus*) и клещей *Ornithodoros capensis*, собранных в колониях морских птиц на Западном и Восточном побережьях Каспийского моря [9–11]. Один штамм BAKV был изолирован от клещей *O. coniceps*, собранных в гнездах голубей в Узбекистане [12].

Геном орбивирусов представлен 10 сегментами двухцепочечной РНК (Seg-1–Seg-10), которые кодируют 12 вирусных белков [13, 14]. Помимо 7 структурных белков VP1 (RdRp), VP2 (T2), VP3 (CaP), VP4 (OC1), VP5 (OC2), VP6 (Hel), VP7 (T13), входящих в состав вириона, в инфицированных клетках обнаруживаются 5 вирусспецифических неструктурных белков NS1 (TuP), NS2 (ViP), NS3/NS3a, NS4 [15]. Гены полимеразы VP1 (RdRp), субкора VP2 (T2) и кора VP7 (T13) являются наиболее консервативными, и на их сравнительном анализе основана современная классификация орбивирусов [16–20]. В основе эволюции орбивирусов, как и других РНК-содержащих вирусов, лежит процесс формирования квазивидов, из которых под действием отбора формируются новые популяции штаммов (генетический дрейф), циркулирующие в определенных экологических условиях. Кроме того, определенное значение в эволюции орбивирусов имеет реассортация геномных сегментов (генетический сдвиг (англ. shift), присущая всем РНК-содержащим вирусам с сегментированным геномом (Bunyaviridae, Orthomyxoviridae и др.) [21, 22]. Как показано для BTV (прототипный представитель рода *Orbivirus*, передается мокрецами Heleidae, *Culicoides*), скорость изменчивости различных сегментов генома варьирует от $0,52 \cdot 10^{-4}$ до $6,0 \cdot 10^{-4}$ нуклеотидных замен на 1

сайт в год [23]. Также варьирует способность отдельных сегментов генома к участию в реассортации. Эволюционное значение столь разной изменчивости отдельных сегментов генома и их роль в формировании фенотипа орбивирусов не до конца выяснены (см. обзор [24]). При этом внутривидовая гетерогенность клещевых орбивирусов, занимающих отличную от BTV экологическую нишу, остается практически неизученной. Между клещевыми орбивирусами одного вида также возможна реассортация геномных сегментов [25, 26], хотя природные реассортанты сегодня не описаны. С целью выявления внутривидовой гетерогенности и изменчивости разных сегментов генома клещевых орбивирусов в настоящей работе проведен сравнительный полногеномный анализ 5 различных вирусов, принадлежащих к виду *Chenuda virus*. *Chenuda virus* является единственным известным на сегодняшний день видом орбивирусов, экологически связанным с аргасовыми клещами, и изучение этой группы вирусов необходимо для понимания общих закономерностей эволюции вирусов рода *Orbivirus*. Из 5 вирусов, исследованных в работе, 4 (штаммы CNUV и BAKV) являются представителями вирусных популяций, циркулирующих на относительно ограниченной территории в Центральной Азии и Закавказье. В работе показано, что даже у близкородственных штаммов клещевых орбивирусов, изолированных в одном географическом регионе и обладающих высоким сходством консервативных генов, уровень дивергенции отдельных генов (сегментов) широко варьирует и может достигать 50%.

Материал и методы

Использованные штаммы. Список использованных штаммов представлен в таблице. Штаммы были получены из Государственной коллекции вирусов Российской Федерации при ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» 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. Осветленную суспензию мозга (10%) далее использовали для заражения клеток ВНК. После появления цитопатического действия (3–4-й день) собирали культуральную жидкость и концентрировали вирус методом ультрацентрифугирования (1 ч, 30 000 об/мин) через 20% сахарозную подушку.

Выделение РНК. Осадок вируса растворяли в 1 мл реагента ExtractRNA («Евроген», Россия) и затем проводили выделение РНК в соответствии с инструкцией производителя.

Подготовка библиотек и секвенирование. Для получения кДНК 50 нг препарата РНК фрагментировали в 15 мкл реакционной смеси для обратной транскриптазы с гексапраймером и смесью dNTP при 94 °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 РНКаз 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 кДНК очи-

Штаммы, использованные в работе

Вирус	Штамм	Место изоляции (год)	Источник изоляции	Биотоп	Номер депонента GenBank
BAKV	LEIV-46Azn	Азербайджан, Бакинский архипелаг (1970)	Клещи <i>O. capensis</i>	Гнезда чайки	KJ191548–57
	LEIV-2275Uz	Узбекистан, Паркент (1972)	То же	Голубятня	KY023339–48
	LEIV-2826Tur	Туркмения, залив Кара-Богаз-Гол (1973)	" "	Гнезда чайки	KY023349–58
CNUV	EgAr1170	Египет, д. Ченуда в дельте Нила (1954)	Клещи <i>A. reflexus</i>	Голубятня	–
	LEIV-7453Tur	Туркмения, водохранилище Маметкель (1973)	Комары <i>Culex modestus</i>	Колония воробьев	KP311318–26

шали с использованием набора MinElute PCR Purification Kit (“QIAGEN”, Германия).

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 ПШП в реальном времени (2x SsoFast EvaGreen Supermix (“Bio-Rad”, США), прибор Bio-Rad CFX1000) согласно рекомендациям, изложенным в руководстве “Sequencing Library qPCR Quantification Guide” (“Illumina”, США). Секвенирование ДНК-библиотек проводили на приборе MiSeq (“Illumina”, США) с использованием набора MiSeq Reagent Kits V2 (300PE) в соответствии с инструкцией производителя.

Биоинформационный анализ. Обработку данных полногеномного секвенирования, сборку контигов и картирование ридов проводили с использованием программы CLC Genomics Workbench 5.5 («CLC bio», США). Предварительный поиск гомологичных последовательностей выполняли с помощью сервиса BLASTX (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Для подбора праймеров, множественного выравнивания, анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей использовали пакет программ Lasergene Core Suite («DNASTAR», США). Выравнивание последовательностей проводили по алгоритму ClustalW. Генетическая дистанция определена по модели p-distance с попарным удалением гэпов. Филогенетический анализ проводили с использованием программ MrBayes, в которых применяется байесовское моделирование (<http://mrbayes.sourceforge.net/>). Анализ по алгоритму максимального правдоподобия (maximum likelihood) с 1000-кратным бутстреп-тестированием выполняли с использованием программы MEGA7. Дендрограммы визуализировали с помощью программы TreeGraph 2.0 (<http://treegraph.bioinfweb.info/>).

Результаты и обсуждение

В результате секвенирования для каждого штамма были определены полные последовательности кодирующих областей всех десяти сегментов генома. Полученные последовательности депонированы в базу данных GenBank (см. таблицу). Размер и структура геномных сегментов вирусов BAKV, а также прототипного штамма CNUV EgAr1170 совпадают с ранее опубликованными для *Chenuda virus* данными [9, 27]. С другими видами клещевых орбивирусов, *Great Island virus*, *Wad Medani virus* и *Chobar Gorge virus*, для которых доступны геномные данные, он имеет от 15 до 64,4% гомологии.

Результаты попарного сравнения нуклеотидных и аминокислотных последовательностей сегментов генома между изученными штаммами представлены на рис. 1.

Группа штаммов BAKV, изолированных в Средней Азии, имеет с прототипным вирусом CNUV EgAr1170 (идентичен прототипному EGY1954/01) в среднем 81,5, 88 и 87,5% гомологии по аминокислотным последовательностям белков VP1 (Pol), VP2 (T2) и VP7 (T13) соответственно. Данные значения подтверждают принадлежность BAKV к виду *Chenuda virus* согласно критериям, принятым ICTV. Между собой штаммы BAKV имеют высокий уровень сходства по данным белкам (89–99,9%), однако среди них несколько выделяется штамм LEIV-7453Tur, который изначально был классифицирован как CNUV на основе антигенных реакций (Львов Д. К., личное сообщение). Хотя штамм LEIV-7453Tur имел антигенные отличия от штаммов BAKV, генетически данный штамм более близок к BAKV, чем к CNUV, по всем сегментам генома. Два наиболее генетически близких друг другу штамма BAKV LEIV-46Azn и LEIV-2826Tur, изолированные от клещей *O. capensis* в одном географическом регионе (побережье Каспийского моря), имеют высокий уровень сходства (96,9–99,9%) по консервативным генам. Штамм LEIV-2275Uz, изолированный от клещей *O. coniceps* в Узбекистане (в другой экологической системе), по генам VP1 (Pol), VP2 (T2) и VP7 (T13) имеет 95,3–97,9% идентичности с указанными выше штаммами.

VP1 (Pol) представляет собой вирусную РНК-зависимую РНК-полимеразу и является одним из наиболее консервативных белков у вирусов семейства Reoviridae [1]. Между тем уровень идентичности белка VP1 (Pol) в рассматриваемой группе штаммов BAKV несколько ниже (89–95%), чем структурного белка VP2 (T2) (94,5–98%). Согласно полученным данным, к консервативным внутри данного вида генам можно также отнести гены минорного белка кэппирующего фермента VP3 (CaP), белка внешнего капсида VP5 (OC2) и неструктурных белков NS1 (TuP), NS2 (ViP) и NS3, уровень идентичности которых у исследованных штаммов лишь незначительно ниже, чем VP1 (Pol), VP2 (T2) и VP7 (T13) во всех парных группах сравнения (см. рис. 1). С другой стороны, уровень дивергенции последовательностей белков внешнего капсида VP4 (OC1) и хеликазы VP6 (Hel) и NS4 значительно превышает показатели, полученные для консервативных генов. Уровень идентичности аминокислотной последовательности белка VP4 (OC1) у различных штаммов BAKV составляет 70,9–76,2%, а между BAKV и CNUV – 47–48,3%. По белку VP6 (Hel) штаммы BAKV имеют 49,8–52% сходства с CNUV. У различных штаммов BAKV уровень гомологии VP6 (Hel) варьирует от 70,1% (при сравнении с LEIV-7453Tur) до 82,2% идентичных аминокислотных остатков. Кроме белка VP6 (Hel), в сегменте 9 орбивирусов была обнаружена дополнительная непрерывная открытая рамка считывания (ORF), предположительно

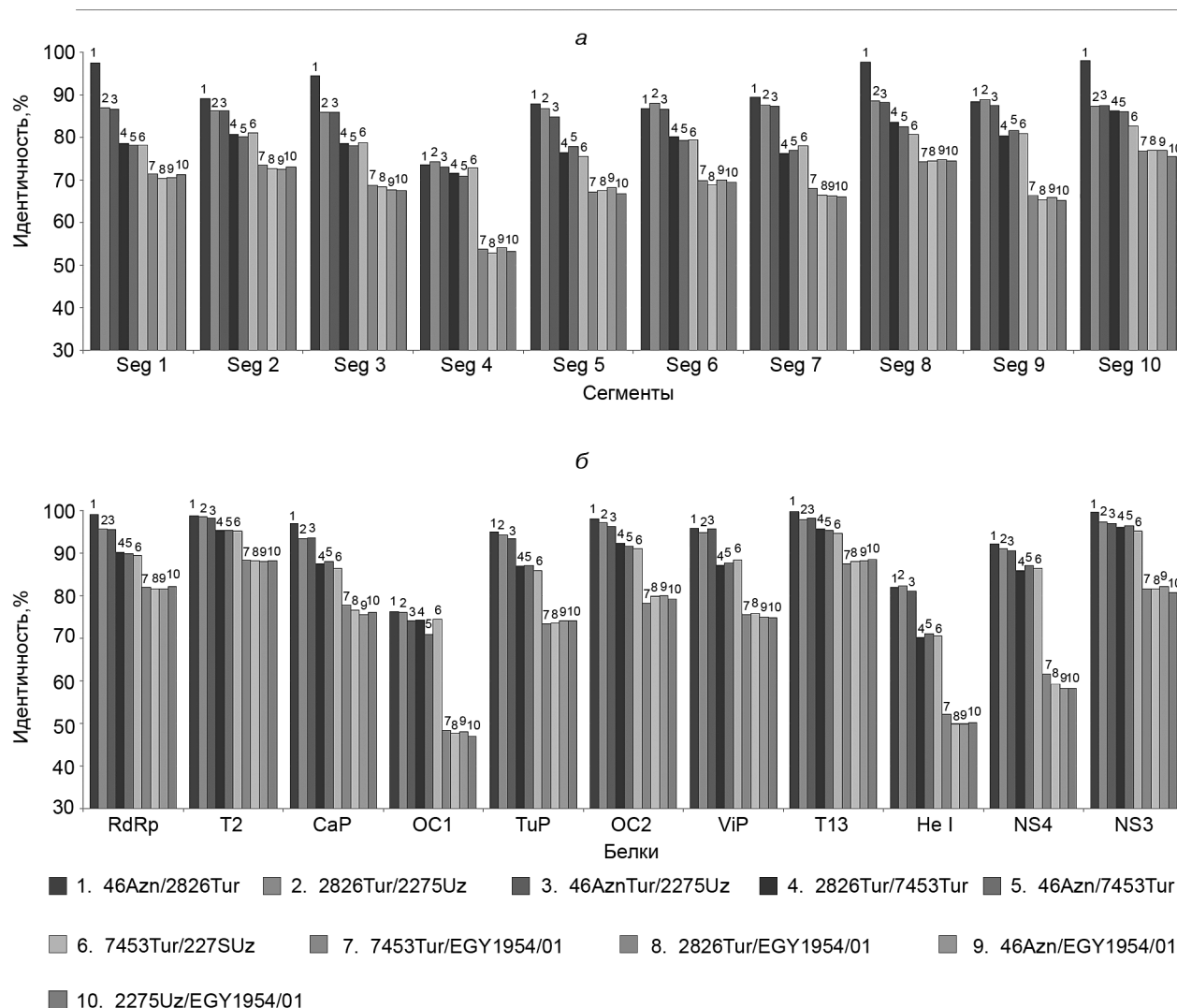


Рис. 1. Графическое представление результатов попарного сравнения нуклеотидных (а) и аминокислотных (б) последовательностей генома различных изолятов CNUV и BAKV. Для каждого сегмента/белка (ось абсцисс) представлены значения идентичности (%), ось ординат) для пар штаммов в следующей последовательности: LEIV-46Azn/ LEIV-2826Tur; LEIV-2826Tur/ LEIV-2275Uz; LEIV-46Azn/ LEIV-2275Uz; LEIV-2816Tur/ LEIV-7453Tur; LEIV-46Azn/ LEIV-7453Tur; LEIV-46Azn/ LEIV-2275Uz; LEIV-7453Tur/ EGY1954; LEIV-2826Tur/ EGY1954; LEIV-46Azn/ EGY1954; LEIV-2275Uz/ EGY1954

кодирующая белок, функция которого пока неизвестна, обозначаемого как VP6a или NS4. При этом длина ОРС у передающихся клещами орбивирусов почти в 2 раза больше, чем у передающихся мокрецами или комарами [28]. Уровень идентичности аминокислотной последовательности белка NS4 между близкими штаммами BAKV составляет 90,4–92,1%, тогда как между BAKV и CNUV – только 58,2%, причем уровень консервативности белка NS4 в любой паре сравнения превышает уровень консервативности белка VP6 (Hel).

Результаты филогенетического анализа представлены на рис. 2. Штаммы BAKV вместе с CNUV формируют самостоятельную ветвь в составе клещевых орбивирусов. Можно отметить, что топология дендрограмм, построенных на основе сравнения консервативных белков VP1 (RdRp) и VP7 (T13) (см. рис. 2, а, б), отражает экологические и географические особенности источников изоляции штаммов. Относительно штаммов BAKV из

Средней Азии прототипный штамм CNUV EgAr1170 занимает внешнее положение. Штаммы BAKV формируют 2 группы, одна из которых представлена штаммами LEIV-46Azn, LEIV-2826Tur и LEIV-2275Uz, а вторая – штаммом LEIV-7453Tur. Топология дендрограмм, построенных на основе сравнения дивергентных генов VP4 (OC1) и VP6 (Hel) (см. рис. 2, в, г), в целом совпадает с дендрограммами, построенными на основе консервативных генов, за исключением взаимного расположения штаммов BAKV внутри своей ветви. Так, в отличие от консервативных генов по белку VP4 (OC1) штамм LEIV-7453Tur группируется вместе со штаммами LEIV-2275Uz и LEIV-2826Tur, тогда как LEIV-46Azn занимает внешнее по отношению к ним положение (см. рис. 2, в). Штаммы LEIV-7453Tur, LEIV-46Azn и LEIV-2826Tur изолированы в одной географической локации, и топология дендрограммы позволяет предположить, что в их эволюционной истории произошла реассортация по сегменту 4.

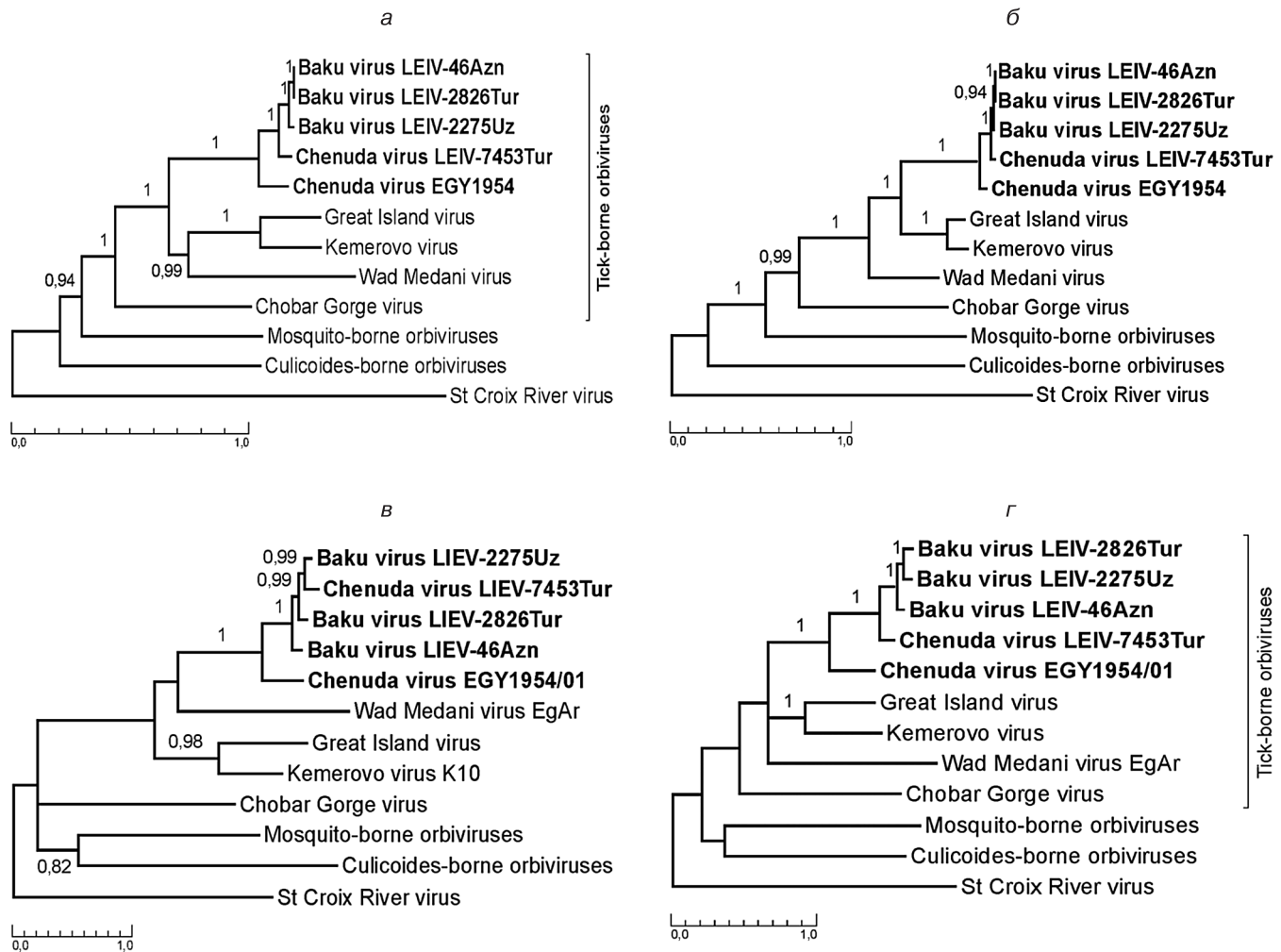


Рис. 2. Дендрогаммы, построенные с использованием алгоритма байесовского моделирования на основе сравнения полных аминокислотных последовательностей белков VP1 (RdRp) (а); VP7 (T13) (б); VP4 (OC1) (в); VP6 (Hel) (г).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у клещевых вирусов вида *Chenuda virus* рода *Orbivirus* изменчивость генов белков VP4 (OC1) и VP6 (Hel) значительно превышает изменчивость остальных генов. Дивергенция по белкам VP4 (OC1) и VP6 (Hel) между BAKV и CNUV составляет около 50%, что соответствует разным видам, хотя эти два вируса рассматриваются как серотипы одного вида *Chenuda virus*. Даже у генетически близких штаммов BAKV LEIV-46Azn и LEIV-2826Tur, которые имеют 97,9–99,6% идентичности по консервативным белкам, дивергенция по VP4 (OC1) и VP6 (Hel) достигает значений, которые соответствуют разным серотипам (74,1–82,2%). Белок VP4 (OC1) является одним из двух белков внешнего капсида и несет на себе основные вируснейтрализующие, видо- и серотипопределяющие антигенные эпитопы. Кроме того, VP4 (OC1) является рецепторсвязывающим белком и обладает гемагглютинирующей активностью [29, 30]. Высокий уровень изменчивости белка VP4 (OC1) можно объяснить давлением иммунной системы позвоночных хозяев. Белок VP6 (Hel) наряду с VP1 (RdRp) и VP3 (CaP) участвует в образовании транскриптазного ферментативного комплекса, который осуществляет репликацию

геномной РНК [31]. VP6 (Hel) обладает хеликазной и РНК-зависимой АТФазной активностью, необходимой для транскрипции вирусных генов, а также, вероятно, участвует в упаковке геномной РНК в вирион [32, 33]. Белок VP6 (Hel) является неструктурным, его высокая степень изменчивости не связана с давлением иммунной системы. При этом нужно отметить, что белок NS4, кодируемый альтернативной ORC того же сегмента генома (Seg-9), более консервативен, чем VP6 (Hel). Это свидетельствует о действии разных селективных факторов на отдельные вирусные гены.

Таким образом, в геноме орбивирусов, экологически связанных с аргасовыми клещами, можно выделить пул относительно консервативных генов, дивергенция которых между вирусами, принадлежащими к одному виду, не превышает 12–18%. Вместе с тем даже у близкородственных штаммов, изолированных в одном географическом регионе и обладающих высоким сходством консервативных генов, дивергенция отдельных генов (сегментов) широко варьирует и может достигать 25%.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 2, 5–8, 13–33 см. REFERENCES)

3. Львов Д.К. *Вирусы и вирусные инфекции человека и животных: руководство по вирусологии*. М.: МИА; 2013.
4. Урываев Л.В., Львов Д.К. Реовирусы. В кн.: Львов Д.К., ред. *Медицинская вирусология*. М.: МИА; 2008: 202–6.
9. Альховский С.В., Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Щетинин А.М., Дерябин П.Г., Гительман А.К. и др. Таксономия вируса Баку (Baku virus, BAKV; Reoviridae, Orbivirus), изолированного из облигатных паразитов птиц – агаровых клещей (Acari: Argasidae) в Азербайджане, Туркменистане и Узбекистане. *Вопросы вирусологии*. 2013; 58 (6): 22–6.
10. Андреев В.Л., Громашевский В.Л., Веселовская О.В. Изоляция вируса Баку в Западной части Туркменской ССР. *Экология вирусов*. 1973; (1): 96–103.
11. Львов Д.К., Громашевский В.Л., Сидорова Г.А., Тучкин Ю.М. Выделение нового арбовируса Баку группы Кемерово из агаровых клещей *Ornithodoros capensis* в Азербайджане. *Вопросы вирусологии*. 1971; (4): 434–7.
12. Сидорова Г.А., Жмаева З.М., Громашевский В.Л. Изоляция вируса Баку от клещей *Ornithodoros coniceps*, собранных в гнездовых голубей в Ташкентской области. *Экология вирусов*. 1974; (2): 102–5.

REFERENCES

1. Attoui H., Mertens P.P.C., Becnel J., Belaganahalli S., Bergoin M., Brussaard C.P. et al. Family Reoviridae. In: King A.M., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., eds. *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee of Taxonomy of Viruses*. London: Elsevier; 2012: 541–637.
2. Attoui H., Mohd Jaafar F. Zoonotic and emerging orbivirus infections. *Rev. Sci. Tech.* 2015; 34 (2): 353–61.
3. L'vov D.K. *Viruses and Viral Infections of Humans and Animals: a Guide to Virology [Virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh: rukovodstvo po virusologii]*. Moscow: MIA; 2013. (in Russian)
4. Uryvaev L.V., L'vov D.K. Reovirus. In: L'vov D.K., ed. *Medical Virology*. Moscow: MIA; 2008: 202–6. (in Russian)
5. Libikova H., Heinz F., Ujhazyova D., Stunzner D. Orbiviruses of the Kemerovo complex and neurological diseases. *Med. Microbiol. Immunol.* 1978; 166 (1–4): 255–63.
6. Chumakov M.P., Sarmanova E.S., Bychkova M.V., Bannova G.G., Pivanova G.P., Karpovich L.G. et al. Identification of Kemerovo Tick-Borne Fever Virus and Its Antigenic Independence. *Fed. Proc. Transl. Suppl.* 1964; 23: 852–4.
7. L'vov D.K., Shchelkanov M.Y., Alkhovskiy S.V., Deryabin P.G. *Zoonotic Viruses of Northern Eurasia: Taxonomy and Ecology*. New York, USA: Academic Press; 2014.
8. Karabatsos N., ed. *International Catalogue of Arboviruses Including Certain Other Viruses of Vertebrates*. 3rd ed. San Antonio, Texas: American Society of Tropical Medicine and Hygiene for the Subcommittee on Information Exchange of the American Committee on Arthropod-borne Viruses; 1985.
9. Al'khovskiy S.V., L'vov D.K., Shchelkanov M.Yu., Shchetinina A.M., Deryabin P.G., Gitel'man A.K. et al. Taxonomy virus Baku (Baku virus, BAKV; Reoviridae, Orbivirus), isolated from the obligate parasites of birds – aгаровых клещей (Acari: Argasidae) in Azerbaijan, Turkmenistan and Uzbekistan. *Voprosy virusologii*. 2013; 58 (6): 22–6. (in Russian)
10. Andreev V.L., Gromashevskiy V.L., Veselovskaya O.V. Isolation of the virus in the western part of Baku Turkmen SSR. *Ekologiya virusov*. 1973; 1: 96–103. (in Russian)
11. L'vov D.K., Gromashevskiy V.L., Sidorova G.A., Tuchkin Yu.M. Isolation of a new Baku arbovirus group of Kemerovo argasids *Ornithodoros capensis* in Azerbaijan. *Voprosy virusologii*. 1971; (4): 434–7. (in Russian)
12. Sidorova G.A., Zhmaeva Z.M., Gromashevskiy V.L. Isolation of the virus from Baku tick *Ornithodoros coniceps*, collected pigeons nesting in the Tashkent region. *Ekologiya virusov*. 1974; 2: 102–5. (in Russian)
13. Mertens P.P., Brown F., Sangar D.V. Assignment of the genome segments of bluetongue virus type 1 to the proteins which they encode. *Virology*. 1984; 135 (1): 207–17.
14. French T.J., Inumaru S., Roy P. Expression of two related nonstruc-

- tural proteins of bluetongue virus (BTV) type 10 in insect cells by a recombinant baculovirus: production of polyclonal ascitic fluid and characterization of the gene product in BTV-infected BHK cells. *J. Virol.* 1989; 63 (8): 3270–8.
15. Roy P., Marshall J.J., French T.J. Structure of the bluetongue virus genome and its encoded proteins. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1990; 162: 43–87.
16. Belaganahalli M.N., Maan S., Maan N.S., Nomikou K., Pritchard I., Lunt R. et al. Full genome sequencing and genetic characterization of Eubenberg viruses identify Pata virus as a distinct species within the genus Orbivirus. *PLoS One*. 2012; 7 (3): e31911.
17. Belaganahalli M.N., Maan S., Maan N.S., Nomikou K., Guimera M., Brownlie J. et al. Full genome sequencing of Corripata virus, identifies California mosquito pool virus as a member of the Corripata virus species. *PLoS One*. 2013; 8 (8): e70779.
18. Dilcher M., Hasib L., Lechner M., Wieseke N., Middendorf M., Marz M. et al. Genetic characterization of Tribec virus and Kemerovo virus, two tick-transmitted human-pathogenic Orbiviruses. *Virology*. 2012; 423 (1): 68–76.
19. Belaganahalli M.N., Maan S., Maan N.S., Tesh R., Attoui H., Mertens P.P. Umatilla virus genome sequencing and phylogenetic analysis: identification of stretch lagoon orbivirus as a new member of the Umatilla virus species. *PLoS One*. 2011; 6 (8): e23605.
20. Belhouchet M., Mohd Jaafar F., Tesh R., Grimes J., Maan S., Mertens P.P. et al. Complete sequence of Great Island virus and comparison with the T2 and outer-capsid proteins of Kemerovo, Lipovnik and Tribec viruses (genus Orbivirus, family Reoviridae). *J. Gen. Virol.* 2010; 91 (Pt. 12): 2985–93.
21. Briese T., Calisher C.H., Higgs S. Viruses of the family Bunyaviridae: are all available isolates reassortants? *Virology*. 2013; 446 (1–2): 207–16.
22. Wensle E.A., Chanock S.J., Krata L., Fields B.N. Genetic reassortment of mammalian reoviruses in mice. *J. Virol.* 1985; 56 (2): 613–6.
23. Carpi G., Holmes E.C., Kitchen A. The evolutionary dynamics of bluetongue virus. *J. Mol. Evol.* 2010; 70 (6): 583–92.
24. Coetzee P., Van Vuuren M., Stokstad M., Myrmel M., Venter E.H. Bluetongue virus genetic and phenotypic diversity: towards identifying the molecular determinants that influence virulence and transmission potential. *Vet. Microbiol.* 2012; 161 (1–2): 1–12.
25. Brown S.E., Morrison H.G., Knudson D.L. Genetic relatedness of the Kemerovo serogroup viruses: III. RNA-RNA blot hybridization and gene reassortment in vitro of the Chenuda serocomplex. *Acta Virol.* 1989; 33 (3): 221–34.
26. Brown S.E., Morrison H.G., Knudson D.L. Genetic relatedness of the kemerovo serogroup viruses: II. RNA-RNA blot hybridization and gene reassortment in vitro of the Great Island serocomplex. *Acta Virol.* 1989; 33 (3): 206–20.
27. Belaganahalli M.N., Maan S., Maan N.S., Brownlie J., Tesh R., Attoui H. et al. Genetic characterization of the tick-borne orbiviruses. *Viruses*. 2015; 7 (5): 2185–209.
28. Belhouchet M., Mohd Jaafar F., Firth A.E., Grimes J.M., Mertens P.P., Attoui H. Detection of a fourth orbivirus non-structural protein. *PLoS One*. 2011; 6 (10): e25697.
29. Balasuriya U.B., Dobbe J.C., Heidner H.W., Smalley V.L., Navarrette A., Snijder E.J. et al. Characterization of the neutralization determinants of equine arteritis virus using recombinant chimeric viruses and site-specific mutagenesis of an infectious cDNA clone. *Virology*. 2004; 321 (2): 235–46.
30. White J.R., Boyd V., Brangwyn J.K., Duch C.J., Pritchard L.I., Melville L.F. et al. Characterisation and monitoring of neutralisation-resistant VP2 phenotypes in BTV-1 isolates from northern Australia collected over a twenty-year period. *Vet. Ital.* 2004; 40 (4): 508–12.
31. Roy P., Adachi A., Urakawa T., Booth T.F., Thomas C.P. Identification of bluetongue virus VP6 protein as a nucleic acid-binding protein and the localization of VP6 in virus-infected vertebrate cells. *J. Virol.* 1990; 64 (1): 1–8.
32. Matsuo E., Roy P. Bluetongue virus VP6 acts early in the replication cycle and can form the basis of chimeric virus formation. *J. Virol.* 2009; 83 (17): 8842–8.
33. Stauber N., Martinez-Costas J., Sutton G., Monastyrskaya K., Roy P. Bluetongue virus VP6 protein binds ATP and exhibits an RNA-dependent ATPase function and a helicase activity that catalyze the unwinding of double-stranded RNA substrates. *J. Virol.* 1997; 71 (10): 7220–6.

Поступила 28.11.16

Принята в печать 13.12.16