



ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-357>

© СКОРОБАГАТЬКО Д.А., ТОЛЬКОВА Е.С., ШЕПЕЛЕВА О.А., ШАПОВАЛОВ С.О., 2026



Штаммы вируса африканской чумы свиней (*Asfarviridae*, *Asfivirus*, *African swine fever virus*) центральных регионов России, несущие вариант 5 центральной вариабельной области (CVR), характеризуются тандемной дупликацией в межгенном регионе *MGF 360-13L – MGF 360-14L*

Скоробагатько Д.А.✉, Толькова Е.С., Шепелева О.А., Шаповалов С.О.

ООО Научно-испытательный центр «Черкизово», 108805, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. Большой экономический ущерб и отсутствие действенных и безопасных вакцин против африканской чумы (АЧС) указывают на необходимость продолжения углубленного изучения генома вируса АЧС, его изменений и циркуляции генетических линий. Для этого наилучшим образом подходит полногеномное секвенирование изолятов вируса.

Цель работы. Полногеномный анализ изолятов вируса АЧС, полученных на территории Липецкой, Пензенской и Тамбовской областей в 2016–2021 гг., и выявление дополнительных маркеров разнообразия в пределах генетической линии.

Материалы и методы. Образцы тканей домашних свиней исследовали с помощью полногеномного секвенирования и секвенирования по Сэнгеру. Для сборки последовательностей использовали программы CLC Genomics Workbench 22, Trimmomatic v. 0.39, SPAdes v. 4.2.0, BWA-MEM v. 0.7.17-r1188 и bcftools v. 1.22. Филогенетическое древо строили в программе MEGA11 на основе выравнивания в MAFFT v. 7.526 с 67 геномами из GenBank.

Результаты. На основании присутствия полиморфизма MGF 360-10L III проанализированные изоляты отнесли к варианту CVR-V генетической линии «Россия» клады Georgia 2007. Исходя из очередности образования MGF 360-10L III и CVR-V, любые последовательности, несущие CVR-V, принадлежат к этой же генетической линии. Была обнаружена инсерция в 12 нуклеотидов CAGTCTATAAGA, образующая тандемную дупликацию в *IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L*, и предложены полиморфизмы в *IGR C62L – C962R* и в генах *D1133L* и *Q706L*, имеющие филогенетический потенциал для дифференцировки штаммов вируса АЧС в центральных регионах России.

Заключение. Предложенные к использованию новые вероятные маркеры разнообразия обладают разрешающей способностью в отношении штаммов вируса АЧС из Центральной России.

Ключевые слова: вирус африканской чумы свиней; полногеномное секвенирование; центральный вариабельный регион; Центральная Россия

Для цитирования: Скоробагатько Д.А., Толькова Е.С., Шепелева О.А., Шаповалов С.О. Штаммы вируса африканской чумы свиней (*Asfarviridae*, *Asfivirus*, *African swine fever virus*) центральных регионов России, несущие вариант 5 центральной вариабельной области (CVR), характеризуются тандемной дупликацией в межгенном регионе *MGF 360-13L – MGF 360-14L*. *Вопросы вирусологии*. 2026; 71 (1): 42–52. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-357> EDN: <https://elibrary.ru/efobwo>

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования исследования.

Благодарности. Авторы благодарны ученым, работающим в Российском государственном аграрном университете – Московской сельскохозяйственной академии имени К.А. Тимирязева, за разрешение использовать платформу DNBSEQ-G50 для данного исследования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с "Consensus author guidelines for animal use" (IAVES 23 July 2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом организации Научно-испытательный Центр "Черкизово" (Протокол № 1 от 04.03.2025).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-357>

African swine fever virus (*Asfarviridae*, *Asfivirus*) strains from the central regions of Russia, carrying variant 5 of the central variable region (CVR), are characterized by tandem duplication in the intergenic region *MGF 360-13L – MGF 360-14L*

Daria A. Skorobagatko✉, Ekaterina S. Tolkova, Olga A. Shepeleva, Sergey O. Shapovalov

Cherkizovo Research and Testing Center LLC, 108805, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. The high economic losses and the lack of effective and safe vaccines against African swine fever (ASF) indicate the need for further in-depth studies of the virus genome, its changes and the circulation of genetic lineages. Whole genome sequencing of virus isolates is best suited for this purpose.

The aim of the study. Whole-genome analysis of African swine fever virus (ASFV) isolates obtained in the Lipetsk, Penza and Tambov regions in 2016–2021 and identification of additional diversity markers within the genetic lineage.

Materials and methods. Domestic pig tissue samples were analyzed using whole-genome sequencing and Sanger sequencing. The following programs were used for sequence assembly: CLC Genomics Workbench 22, Trimmomatic v. 0.39, SPAdes v. 4.2.0, BWA-MEM v. 0.7.17-r1188 and bcftools v.1.22. The phylogenetic tree was constructed in MEGA11 based on the alignment in MAFFT v. 7.526 with 67 genomes from GenBank.

Results. Based on the presence of MGF 360-10L III polymorphism, the analyzed isolates belong to the CVR-V variant of the Russia genetic lineage of the Georgia 2007 clade. Based on the order of formation of MGF 360-10L III and CVR-V, any sequences carrying CVR-V belong to the same genetic lineage. A 12-nucleotide insertion CAGTCTATAAGA was detected, forming a tandem duplication in *IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L*, and polymorphisms in *IGR C62L – C962R* and in genes *D1133L* and *Q706L* were proposed as having phylogenetic potential for differentiation ASFV strains in the central regions of Russia.

Conclusion. The proposed new potential diversity markers have a resolving power for ASFV strains from Central Russia.

Keywords: African swine fever virus; whole genome sequencing; central variable region; Central Russia

For citation: Skorobagatko D.A., Tolkova E.S., Shepeleva O.A., Shapovalov S.O. African swine fever virus (*Asfarviridae*, *Asfivirus*) strains from the central regions of Russia, carrying variant 5 of the central variable region (CVR), are characterized by tandem duplication in the intergenic region *MGF 360-13L – MGF 360-14L*. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2026; 71 (1): 42–52. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-357>
EDN: <https://elibrary.ru/efobwo>

Funding. This study was not supported by any external sources of funding.

Acknowledgments. The authors are grateful to the scientists working at the Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy for permission to use the DNBSEQ-G50 platform for this study.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with “Consensus author guidelines for animal use” (IAVES 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the institution Cherkizovo Research and Testing Center LLC (Protocol No. 1 dated 04 March 2025).

Введение

Африканская чума свиней (АЧС) – заразное вирусное заболевание свиней и диких кабанов, которое широко распространилось по миру с 2007 г., нанося значительный экономический ущерб. Отсутствие надежной вакцины, а также выявленная тенденция к снижению вирулентности и повышению инфекционности вируса АЧС (*Asfarviridae*, *Asfivirus*, *African swine fever virus*) [1] создают трудности в контроле вспышек заболевания. Это указывает на необходимость продолжения углубленного изучения пространственно-временной циркуляции вируса, изменений его генома и особенностей генетических линий. В этой связи представляется актуальной за-

дача не только классификации получаемых образцов по известным схемам, но и их полногеномный анализ для возможного обнаружения ранее не описанных участков, которые имеют потенциальное филогенетическое значение.

Для классификации штаммов вируса АЧС генотипа II, циркулирующих по Евразии, в настоящее время используют схемы субгенотипирования на основании набора маркерных участков [2–4]. Центральный вариабельный регион (CVR) в гене *B602L* является одним из таких филогенетических маркеров с разрешающей способностью на региональном уровне [2–5]. С 2013 г. на территории центральных регионов России зарегистрировано три варианта CVR: CVR-I, CVR-V

и CVR-VI [4, 6], однако имеются расхождения между соотношением встречаемости разных вариантов CVR и пропорцией описанных полногеномных последовательностей, несущих эти варианты. С 2016 г. увеличивается частота обнаружения однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) CVR-V [4, 6], но до настоящего времени был описан лишь один полный геном, содержащий этот ОНП [7]. Представляет интерес анализ большего количества полногеномных последовательностей, несущих полиморфизм CVR-V, для лучшего понимания распространения вируса, его изменчивости и выявления дополнительных маркеров разнообразия.

Цель исследования – провести полногеномное секвенирование, субгенотипирование и биоинформатический анализ ранее не исследованных изолятов вируса АЧС, полученных на территории Липецкой, Пензенской и Тамбовской областей в 2016–2021 гг., и выявить дополнительные маркеры разнообразия в пределах генетической линии.

Материалы и методы

В работе были проанализированы последовательноности вируса АЧС из образцов, полученных в ходе трех вспышек АЧС в Российской Федерации в Липецкой (2016 г.), Пензенской (2019 г.) и Тамбовской (2021 г.) областях. Полученные геномы были депонированы в GenBank под номерами PX488473–PX488476.

Выделение ДНК. ДНК выделяли из образцов тканей домашних свиней из свиноводческих хозяйств. Ранее с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) (тест-система «АЧС» форма 4, AmpliSens, Россия) было подтверждено наличие вируса АЧС в образцах.

Обогащения вирусной ДНК не проводили. Образцы ткани гомогенизировали, затем готовили 10% суспензию с 800 мкл стерильного физиологического раствора. Образцы центрифугировали при 200g в течение 1 мин и использовали надосадочную жидкость для экстракции с помощью мини-набора HiPure Blood DNA (Magen, Китай). Качество ДНК было подтверждено измерением на нанофотометре (Implen); соотношение A260/A280 находилось в диапазоне 1,65–1,90. Концентрацию выделенной ДНК измеряли с помощью флуориметра Qubit (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, США) и набора для анализа dsDNA HS QuDye (Lumiprobe, Россия). Она составила 8–10 нг/мкл.

Секвенирование по Сэнгеру. Перед проведением полногеномного секвенирования ряд участков (С-концевая область белка p72, центральная вариабельная область в гене *B602L* (CVR) и участок, расположенный между генами *I73R* и *I329L*) был секвенирован по Сэнгеру с помощью генетического анализатора AB3500. Для этого была выделена полная геномная ДНК с помощью набора MagnoSorb (AmpliSense, Россия) на системе KingFisher Flex (Thermo Fisher Scientific, США). Для амплификации каждой пары праймеров использовали DreamTaq PCR Master Mix (2X) (Thermo Fisher Scientific, США). Набор ExoSAP-IT (Thermo Fisher Scientific, США) использовался для очистки продуктов ПЦР-реакций, набор для цикли-

ческой ПЦР BigDye Terminator v. 1.1 (Thermo Fisher Scientific, США) – для ПЦР-анализа, а набор для очистки после него – BigDye XTerminator (Thermo Fisher Scientific, США).

Подготовка библиотеки ДНК и высокопроизводительное секвенирование. Для подготовки образцов использовали 200 нг ДНК с помощью набора для подготовки библиотеки ДНК MGIEasy FS (MGI Tech, Китай) в соответствии с инструкциями производителя. Полученную библиотеку ДНК секвенировали с помощью набора для высокопроизводительного секвенирования DNBSEQ-G50RS (FCL PE100, Китай) на приборе DNBSEQ-G50 в соответствии с инструкциями производителя.

Анализ данных. Данные секвенирования по Сэнгеру были проанализированы с помощью CLC Main Workbench 20 (Qiagen, Нидерланды).

Данные полногеномного секвенирования были обработаны для удаления адаптеров и считываний низкого качества. Затем обработанные пары были сопоставлены с эталонным геномом *Sus scrofa* (номер в GenBank GCA_000003025.6), чтобы удалить данные хозяина в программе CLC Genomics Workbench 22 (Qiagen, Нидерланды).

Несопоставленные прочтения были собраны и отфильтрованы по качеству с помощью программы Trimmomatic v. 0.39 [8] для удаления или обрезки концов низкокачественных прочтений. После этого производили корректировку ошибок чтения в программе SPAdes v. 4.2.0 [9]. На основе исправленных прочтений осуществляли сборку геномов методом выравнивания коротких прочтений на референсную последовательность Georgia 2007/1 с использованием алгоритма BWA-MEM v. 0.7.17-r1188 на платформе UGENE v. 52.1 [10]. Для поиска вариаций и создания консенсуса методом BWA-MEM сборку проанализировали с помощью пакета bcftools v. 1.22 [11], после чего осуществили ручную проверку полученной консенсусной последовательности. Для определения открытых рамок считывания (ORF) с помощью программного обеспечения GATU [12] использовали референсный штамм Georgia 2007/1.

Множественное выравнивание полученных последовательностей вируса с 67 геномами, полученными из GenBank (см. Приложение в дополнительных файлах к статье на сайте журнала: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-357-1>), выполняли в программе MAFFT v. 7.526 [13]. Филогенетический анализ изолятов осуществляли в программе Mega 11 [14] согласно рекомендованной модели Тамуры (T92) с факультативными параметрами гамма-распределения (G) и учета инвариантных сайтов (I), выбранной на основе расчета байесовского коэффициента (BIC = 524 795,816) и скорректированного коэффициента Акаике (AICc = 523 469,554). Построение филогенетических деревьев проводили по методу максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, ML) с поддержкой Bootstrap 1000 повторов.

Молекулярно-эпизоотологические карты созданы в Evergis Online Map.

Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с "Consensus author guidelines for animal use" (IAVES 23 July 2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом организации Научно-испытательный Центр "Черкизово" (Протокол №1 от 04.03.2025).

Результаты

Как и ожидалось, в ходе предварительного секвенирования по Сэнгеру для всех изолятов был определен генотип II согласно общепринятой классификации.

Все изоляты имели замену глутаминовой кислоты на лизин в положении 201 белка B602L, в соответствии с чем были отнесены в группу CVR-V [6]. Также все последовательности IGR I73R/I329L, секвенированные по Сэнгеру, включали tandemный повтор, соответствующий варианту II среди известных вариантов IGR [15].

Длины полученных геномов составили 190 596 п.н. для ASFV_Lipezk-2016, 190 589 для ASFV_Penza-2019a, 190 596 для ASFV_Penza-2019b и 190 592 для ASFV_Tambov-2021.

Был проведен кластерный анализ согласно дополненной схеме субгенотипирования вируса АЧС генотипа II (модификация классификации субгенотипов С. Gallardo и соавт., 2023)¹ [2]. Присутствие специфического ОНП в позиции 27009 (полиморфизм MGF 360-10L III) позволило отнести данные последовательности к генетической линии «Россия» клады Georgia-2007 согласно вышеуказанной схеме. К настоящему моменту подобная комбинация из MGF 360-10L III и CVR-V встречалась лишь 1 раз, в изоляте ASFV/Ulyanovsk/19WB-5699 [7]. Остальные известные случаи фиксации варианта CVR-V приходились не на полногеномное секвенирование, а на секвенирование участков CVR по Сэнгеру [4, 6].

На основе 67 полных последовательностей вируса АЧС, скачанных из GenBank, и 4 описываемых выше геномов был проведен филогенетический анализ, результаты которого приведены на **рис. 1**. В качестве внешней группы использовали штамм II генотипа MAD/01/1998, выделенный на Мадагаскаре в 1998 г. Приведенные результаты относят рассматриваемые изоляты к кладе Georgia 2007, характеризующейся тесным родством со штаммом Georgia 2007/1 и относительно ранним выделением [16]. Наибольшая гомология наблюдалась с изолятом ASFV/Ulyanovsk/19WB-5699. Полученные данные подтверждают результаты субгенотипирования.

В описываемых геномах были найдены 3 вставки, 1 сдвиг рамки считывания и 22 ОНП относительно референсной последовательности, из которых 5 ОНП и 2 инсерции являются уникальными (**таблица**). Участки полиС, полиG и вариации на краях генома считаются ненадежными, в связи с чем их не учитывали.

Наибольшее сходство всех исследованных изолятов наблюдается с ASFV/Ulyanovsk/19WB-5699. Это 7 синонимичных замен

в позициях 27009, 39215, 62387, 63729, 69509, 120769 и 157890, делеция в позиции 103309 в межгенном регионе B602L – B385R, а также 4 несинонимичных ОНП, приводящих к замене гистидина на тирозин в положении 465 MGF 505-9R, глутаминовой кислоты на лизин в позиции 201 гена B602L, аргинина на гистидин в позиции 186 гена H240R и лизина на глутаминовую кислоту в гене 19R.

Также тесную связь с ASFV/Ulyanovsk/19/WB-5699 изолятов из Пензы и Тамбова подтверждают транзигция в позиции 90001 в IGR C62L – C962R, замена пролина на серин в позиции 457 гена D113L и замена аланина на валин в положении 607 гена Q706L.

В данном исследовании мы впервые обнаружили инсерцию в 12 нуклеотидов CAGTCTATAAGA в IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L у всех секвенированных образцов, в результате которой образуется tandemный повтор (**рис. 2**). Секвенирование этого участка по Сэнгеру подтвердило наличие вставки. Кроме того, судя по данным множественного выравнивания и тому, что при сборке стандартными методами tandemные повторы плохо картируются, подобный повтор может присутствовать вместо инсерции аденина в той же позиции в изоляте ASFV/Ulyanovsk/19/WB-5699.

Уникальные полиморфизмы в позициях 2153 и 2161 в образцах ASFV_Penza-2019a, b и ASFV_Tambov-2021 приводят к замене цистеина на глицин в положении 165 и метионина на треонин и серин в позиции 162 предсказанного белка MGF 360-1La соответственно. Синонимичные ОНП в позиции 15320 и 41616, а также замена глутамина на гистидин в положении 22 MGF 360-11L также описываются впервые для вспышек в Пензе и Тамбове.

Обсуждение

Согласно методическим рекомендациям, разработанным в ФБГУ «ВНИИЗЖ» (Россия)¹, к генетической линии «Россия» клады Georgia 2007 относятся те варианты вируса, в которых присутствует ОНП A>G в позиции 27009 (ген MGF 360-10L был предложен как возможный маркер в [7], клады Georgia 2007 определена в [16]). Это изоляты Kashino 04/13, ASFV/POL/2015/Polaskie, ASFV/LT14/1490, ASFV/Ulyanovsk/19/WB-5699 и описываемые нами ASFV_Lipezk-2016, ASFV_Penza-2019a, ASFV_Penza-2019b и ASFV_Tambov-2021 (**рис. 3**).

Внутри данной линии можно выделить несколько подгрупп на основании последовательности CVR. Известно, что с 2013 г. на территории центральных регионов описано три варианта CVR: CVR-I, CVR-V и CVR-VI [4, 6]. Наиболее частым является CVR-I (идентичен референсной последовательности). Полиморфизм CVR-VI (замена A>T в позиции 459 гена B602L) был описан для изолятов из Тверской, Мо-

¹Чернышев Р.С., Спрыгин А.С., Лаврентьев И.А., Иголкин А.С. Методические рекомендации по субгенотипированию изолятов вируса АЧС II генотипа на топотипы и генетические линии. Владимир; 2025, 14 с.

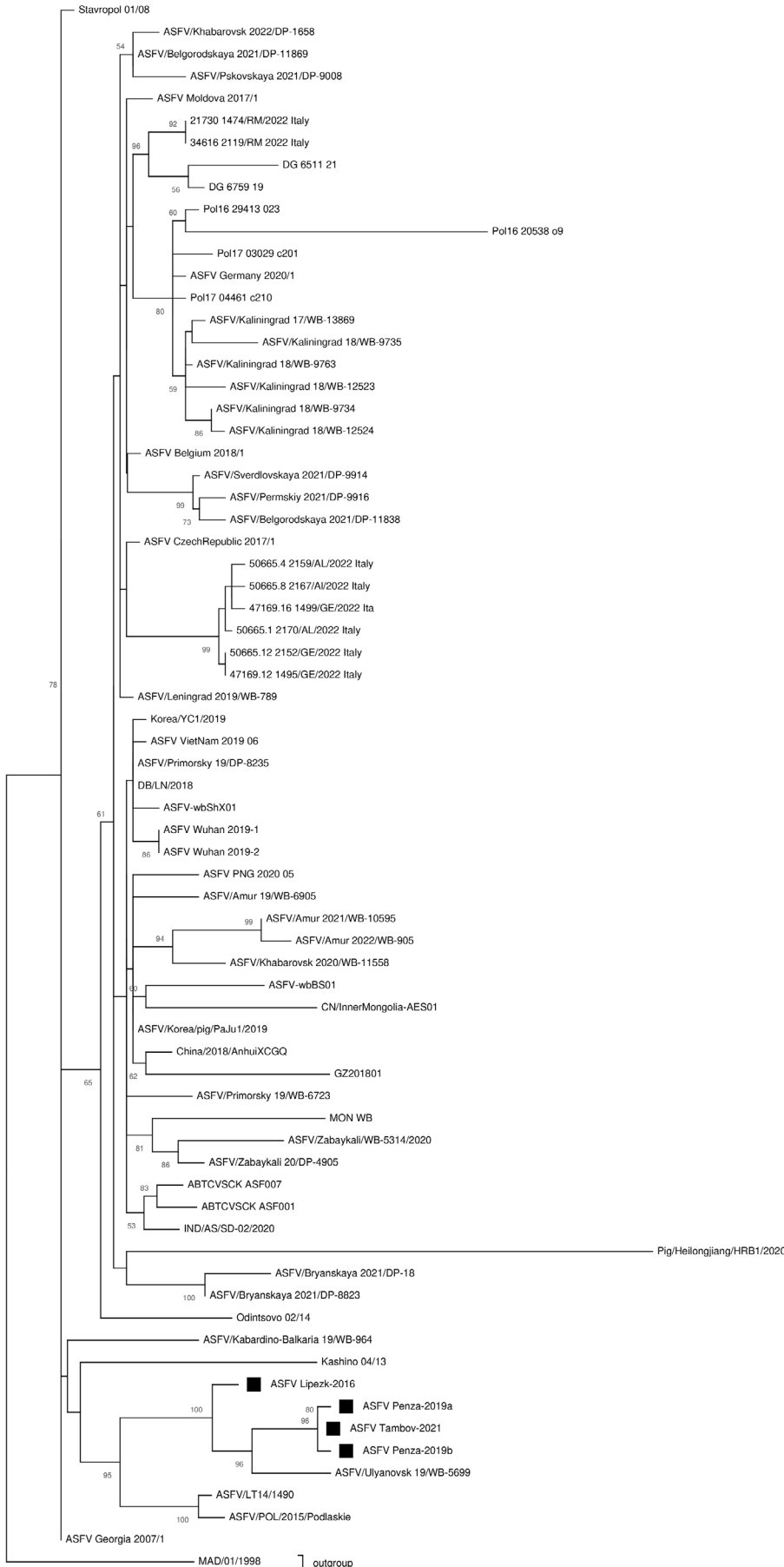


Рис. 1. Филогенетическое древо, построенное на основании 71 полногеномной последовательности вируса АЧС, II генотип.

Изоляты, полученные в данном исследовании, отмечены ■.

Fig. 1. Phylogenetic tree constructed based on 71 complete genome sequences of ASFV, genotype II.

The isolates covered by this research are labeled with ■.

Таблица. Вариации полногеномных последовательностей вируса АЧС исследованных изолятов**Table.** Variations in the complete genome sequences of the ASF virus of the studied isolates

Позиция в Georgia-2007/1 Position in Georgia-2007/1	Ген / межгенная область Gene / intergenic region	Georgia 2007/1	Lipezk-2016	Penza-2019a	Penza-2019b	Tambov-2021	Изменения в аминокислотах Changes in amino acids
2153*	<i>MGF 360-1La</i>	A	A	C	C	C	C > G
2161*	<i>MGF 360-1La</i>	A	A	GTAC	GTAC	GTAC	M > ST
12568	<i>G ACD 00190</i>	A	–	–	–	–	Сдвиг рамки считывания Reading frame shift
15320*	<i>MGF 110-13La</i>	A	A	G	G	G	–
27009	<i>MGF 360-10L</i>	A	G	G	G	G	–
28434*	<i>MGF 360-11L</i>	T	T	A	A	A	Q > H
32767–32768*	<i>IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L</i>	–	CAGTCTATAAGA	CAGTCTATA-AGA	CAGTCTATA-AGA	CAGTCTATA-AGA	–
39215	<i>MGF 505-5R</i>	G	A	A	A	A	–
41616*	<i>IGR MGF 505-6R – MGF 505-7R</i>	T	T	A	A	A	–
45002	<i>MGF 505-9R</i>	C	T	T	T	T	H > Y
62387	<i>F1055L</i>	G	A	A	A	A	–
63081*	<i>F1055L</i>	G	G	A	G	G	–
63729	<i>F1055L</i>	A	G	G	G	G	–
69509	<i>EPI242L</i>	G	A	A	A	A	–
90001	<i>IGR C62L – C962R</i>	T	T	C	C	C	–
98321*	<i>B438L</i>	T	C	T	T	T	–
102668	<i>B602L</i>	C	T	T	T	T	E > K
103309	<i>IGR B602L – B385R</i>	G	–	–	–	–	–
120769	<i>CP2475L</i>	C	T	T	T	T	–
143368	<i>D1133L</i>	G	G	A	A	A	P > S
156891	<i>H240R</i>	G	A	A	A	A	R > H
157890	<i>R298L</i>	C	T	T	T	T	–
158225	<i>Q706L</i>	G	G	A	A	A	A > V
167129	<i>E199L</i>	T	G	T	T	T	Q > H
167188	<i>E199L</i>	C	C	C	G	C	A > P
173408–173409	<i>IGR I73R – I329L</i>	–	GAATATATAG	GAATATATAG	GAATATATAG	GAATATATAG	–
182971	<i>I9R</i>	A	G	G	G	G	K > E

Примечание. * – позиции ранее не описанных полиморфизмов.

Note. * – the positions of previously undescribed polymorphisms are marked.

сковской и Владимирской областей с 2013 по 2016 г. и в настоящее время, по-видимому, не обнаруживается. И хотя встречаемость варианта CVR-V (C>T в позиции 601 гена *B602L*), описанного только для центральных регионов России, со временем значительно выросла [4], однако до сих пор описано лишь по одному полному геному, содержащему CVR-V и CVR-VI: ASFV/Ulyanovsk/19WB-5699 и Kashino 04/13 соответственно.

Штаммы ASFV/POL/2015/Podlaskie и ASFV/LT14/1490, близкие друг к другу и выделенные в Восточной Европе, имеют вариант CVR-I. Однако они не группируются с другими штаммами с CVR-I, циркулирующими в России с 2013 г., и лишь несут исходный вариант CVR.

Две другие подгруппы, выделенные в центральных регионах России, различаются по вариантам CVR-V и CVR-VI, которые не встречаются среди представи-

телей других генетических линий. Необходимо отметить, что авторы, описавшие эти полиморфизмы и анализировавшие их распространение в России, работали в основном не с полными геномами, а с частичными последовательностями гена *B602L*, описав 6 изолятов, содержащих CVR-VI, и 26 изолятов, имеющих CVR-V [4, 6].

CVR-V, циркулирующий на территории центральной России, Поволжья, Европейского Юга и частично Урала в период с 2016 по 2022 г. [4, 6], имеет несинимичную замену глутаминовой кислоты на лизин в положении 201 белка *B602L*. Этот вариант содержался в штамме ASFV/Ulyanovsk/19WB-5699 [7] и во всех выделенных нами последовательностях. Появление в изолятах линии «Россия» вариантов CVR-V и CVR-VI после образования ОНП MGF 360-10L-III, характеризующего данную линию, говорит о том, что эти ОНП образовались внутри этой линии и все по-

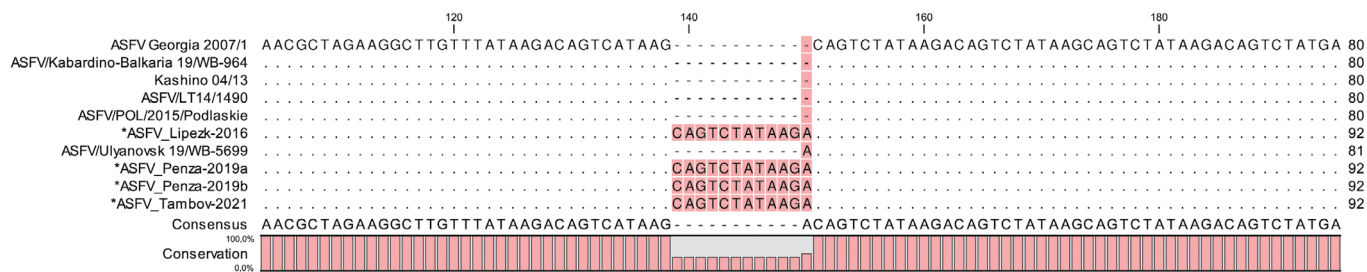


Рис. 2. Инсерция в IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L. Клада Georgia 2007.

Изоляты, полученные в данном исследовании, отмечены *.

Fig. 2. Insertion in IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L. Clade Georgia 2007.

The isolates covered by this research are labeled with *.

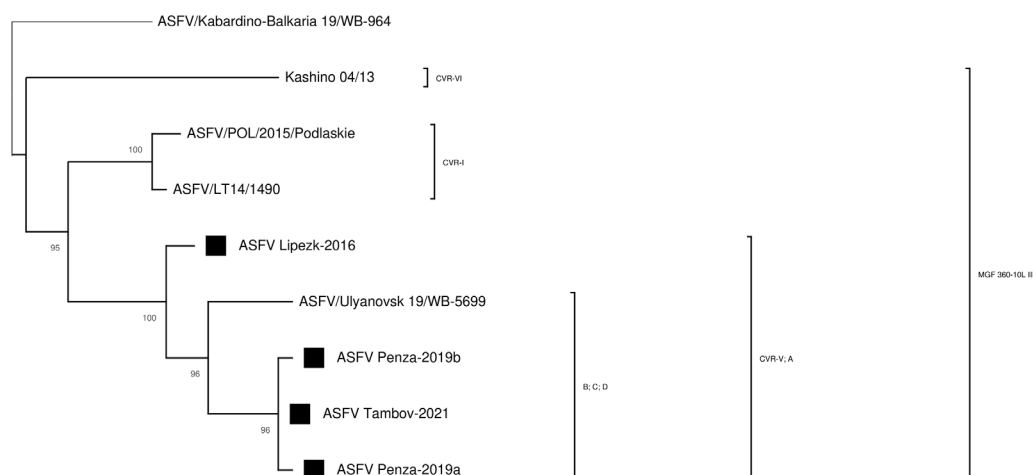


Рис. 3. Маркеры, группирующие изоляты внутри линии «Россия» клады Georgia 2007.

Показаны последовательности, объединенные наличием ОНП MGF 360-10L III; CVR-I, CVR-V и CVR-VI; А – инсерция CAGTCTATAAGA в IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L; В – замена Т>С в позиции 90001 (IGR C62L – C962R); С – транзиция G>А в позиции 143368 (D1133L); D – транзиция G>А в позиции 158225 (Q706L). Изоляты, полученные в данном исследовании, отмечены ■.

Fig. 3. Markers that allow grouping of isolates within the Russia lineage of the Georgia 2007 clade.

Sequences united by the presence of SNPs MGF 360-10L III; CVR-I, CVR-V and CVR-VI are shown; A – CAGTCTATAAGA insertion in IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L; B – T>C substitution at position 90001 (IGR C62L – C962R); C – G>A transition at position 143368 (D1133L); D – G>A transition at position 158225 (Q706L). The isolates covered by this research are labeled with ■.

следовательности, имеющие данные полиморфизмы, принадлежат именно к ней.

Для дифференцировки геномов с вариантом CVR-V, циркулирующих в центральных регионах России, предлагаются 4 участка, обладающие филогенетическим потенциалом. Группировка изолятов с помощью предполагаемых маркеров показана на рис. 3. Первый участок – это найденная нами дополнительная копия последовательности CAGTCTATAAGA в IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L, которая приводит к образованию тандемной дупликации. В референсном геноме с двух сторон удвоенного участка находятся еще 4 похожие последовательности длиной 9–12 нуклеотидов, одна из которых идентична инсерции (рис. 2). Вероятно, эти участки возникли в результате событий дупликации, а затем независимо изменялись. Для вируса АЧС характерна вариация числа тандемных повторов как внутри генов, так и в некодирующих областях [17]. В работе [18] для образо-

вания инделов у поксовирусов был предложен механизм проскальзывания цепей во время репликации, известный для бактериальных геномов [19]. При этом при наличии даже не полностью идентичного повтора происходит смещение матричной и создающейся нитей и образуется дупликация. В результате на новой цепи оказывается не менее трех копий. С другой стороны, существует мнение о значительной обусловленности инделов событиями гомологичной рекомбинации [20].

Дупликация CAGTCTATAAGA присутствует (ASFV Lipetsk-2016, ASFV Penza-2019a, ASFV Penza-2019b и ASFV Tambov-2021), или предполагается ее наличие (ASFV/Ulyanovsk/19/WB-5699) в проанализированных штаммах линии «Россия» подгруппы CVR-V. По нашему мнению, эта вставка может выступать потенциальным маркером разнообразия для более подробной классификации вируса АЧС внутри генетической линии «Россия». Боль-

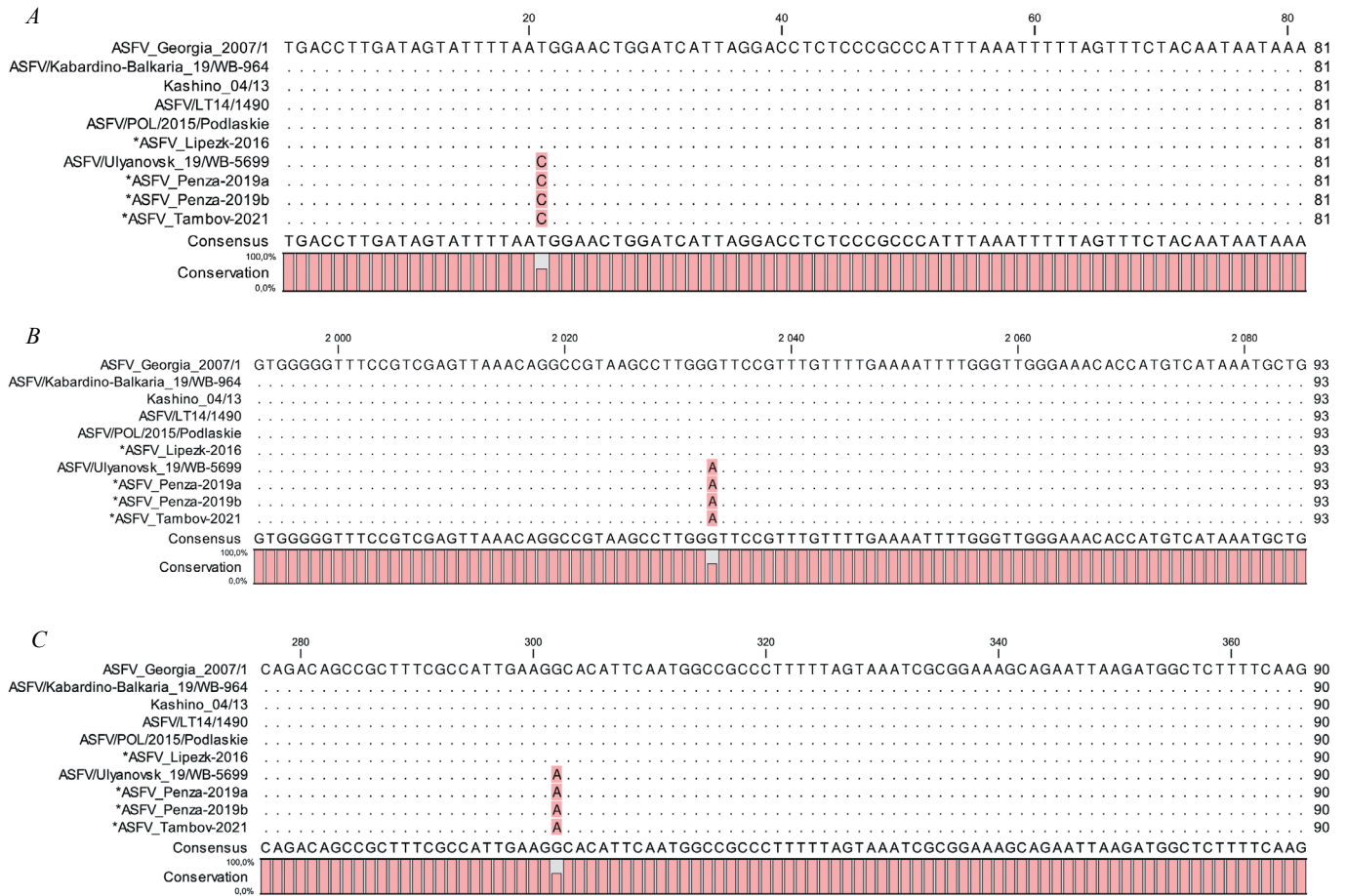


Рис. 4. Полиморфизмы, группирующие изоляты в последовательностях клады Georgia 2007.

A – IGR C62L – C962R; B – частичная последовательность гена D1133L; C – частичная последовательность гена Q706L. Изоляты, полученные в данном исследовании, отмечены*.

Fig. 4. Polymorphisms that allow grouping of isolates in the Georgia 2007 clade sequences.

A – IGR C62L – C962R; B – partial sequence of the D1133L gene; C – partial sequence of the Q706L gene. The isolates covered by this research are labeled with *.

шую ясность в понимание того, насколько широко распространена данная инсерция, может внести секвенирование дополнительных участков или полногеномное секвенирование ранее отобранных и новых изолятов АЧС.

Следующие три участка – это общие транзиции для 4 изолятов: ASFV/Ulyanovsk/19/WB-5699, ASFV_Penza-2019a, ASFV_Penza-2019b и ASFV_Tambov-2021, которые объединены географическим соседством мест выделения в Центральной России и небольшим временным расстоянием. Эти ОНП могут иметь филогенетическую значимость и позволить дифференцировать последовательности, полученные с 2019 г. в центральных регионах, от более ранних изолятов данной линии (рис. 4).

Первый из них – это транзиция Т>С в IGR C62L – C962R (рис. 4 А). Ожидается, что замена является довольно стабильной и подойдет в качестве маркерного участка, так как межгенные регионы не испытывают значимого давления отбора.

Второй – замена пролина на серин в положении 457 белка D1133L, вызванная транзицией G>A (рис. 4 В). Она не является строго консервативной,

так как, хотя заряд полярных группировок серина в нейтральной среде скомпенсирован и равен нейтральному пролину, но у этих аминокислот разная гидрофобность, что может несколько повлиять на структуру белка. Однако обнаружение данной мутации в нескольких изолятах говорит о том, что она не критично затрагивает нормальную функцию D1133L. D1133L – это промежуточно-поздний белок с ядерной и цитоплазматической локализацией во время инфекции [21]. Он обладает хеликазной активностью, а также может участвовать в метаболизме РНК и рибосомной функции [22]. При избыточной экспрессии D1133L вирионы АЧС эффективнее реплицируются в клетках [23]. *In vitro* он взаимодействует с несколькими белками хозяина – VIM и TRIM21, которые повышают репликацию вируса, и фактором элонгации транскрипции TUFM, препятствующим репликации вируса АЧС в культуре клеток [22]. Найденный полиморфизм может являться вероятным маркером, однако в силу возможного влияния отбора не столь надежным, как консервативная замена.

Третья замена – транзиция G>A – приводит ко вполне консервативной замене аланина на валин в поло-

жении 607 белка Q706L (рис. 4 C), которая не должна приводить к функциональным изменениям и испытывать повышенное давление отбора. Этот белок является РНК-хеликазой и довольно консервативен, хотя и имеет небольшую вариабельность между генотипами вируса АЧС из разных регионов [24]. В работе [16] приводится другой ОНП в этом гене, характеризующий изоляты из Брянской области. Предлагаемый нами ОНП также возможно отнести к маркерным для центральных регионов России с 2019 г.

Предложенные к использованию маркерные участки позволяют дифференцировать штаммы вируса АЧС из Центральной России, несущие полиморфизм CVR-V, а также штаммы, появившиеся после 2019 г, от более ранних вариантов. Вопрос о распространенности новой инсерции в *IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L* по отношению ко встречаемости CVR-V может прояснить полногеномное секвенирование большего числа изолятов вируса АЧС. Молекулярно-эпизоотологическая карта, показывающая распространение как подтвержденных, так и предположительно относящихся к линии Россия изолятов, с указанием их маркерных участков, приведена на рис. 5. На рис. 6 показана встречаемость генетических линий АЧС II генотипа в Европе согласно вышеупомянутым методическим рекомендациям.

В исследованных нами изолятах также присутствуют ранее не описанные вариации. Структура, подобная полиморфизмам 2153 и 2161, наблюдается в паралоге гена *MGF 360-1L – MGF 360-21R*, но другие характерные для этого участка замены не обнаружены. Также данная комбинация встречалась в некоторых неправильно собранных последовательностях из GenBank, которые не использовались нами для анализа. Эти два паралога – одни из наиболее тесно связанных в геноме вируса АЧС (идентичность 69%) [17], в связи с чем при сборке генома увеличивается вероятность ошибок. Ген *MGF-360-1L* не играет значительной роли в вирулентности АЧС [25], следовательно, данные мутации не должны приводить к изменению свойств вируса.

Замена Q>H в положении 22, наблюдающаяся в белке *MGF 360-11L ASFV_Penza-2019a, b* и *ASFV_Tambov-2021*, неконсервативна, что должно влиять на конформацию белковой молекулы. Белок *MGF 360-11L* оказывает угнетающее действие на продукцию интерферона (IFN) I типа и интерлейкинов IL-1β и IL-6, ингибируя активность промотора IFN-β и последовательности ISRE, препятствуя нормальной работе клеточного иммунного ответа и ограничивая синтез факторов воспаления [26].

Встретившаяся в *ASFV Penza-2019b* замена аланина на пролин в положении 85 белка E199L также встречалась и в других изолятах на территории России

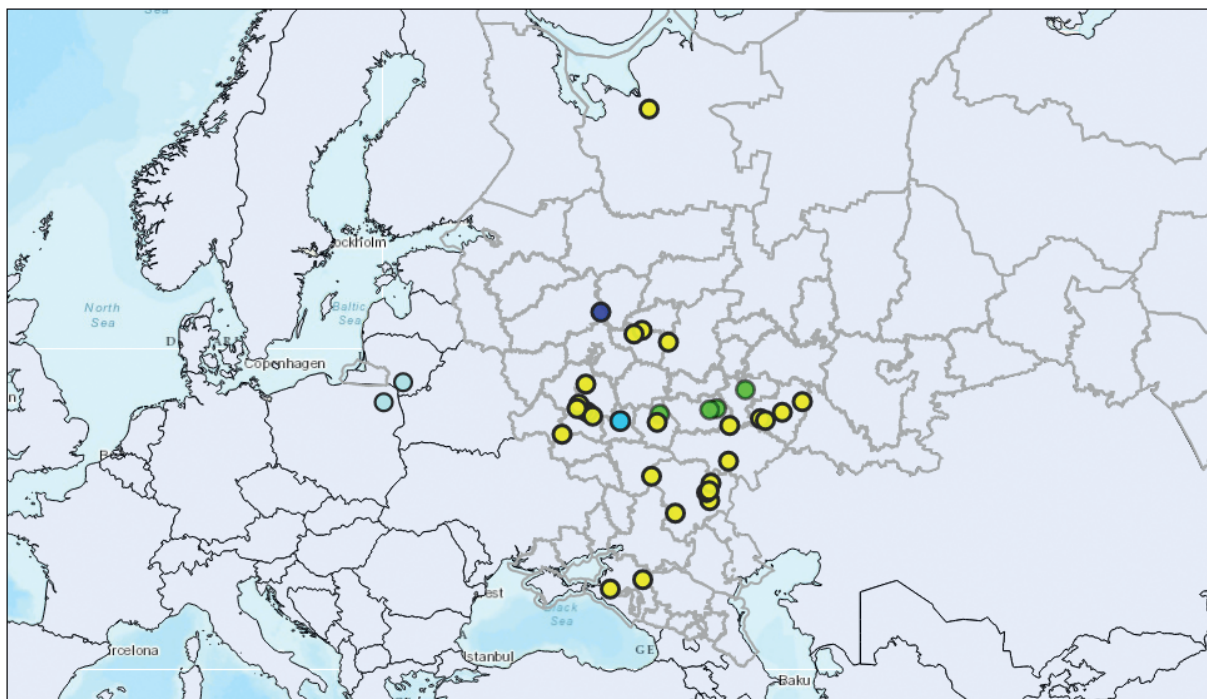


Рис. 5. Распространение изолятов линии «Россия».

● – вариант CVR-I; ● – вариант CVR-VI; ● – вариант CVR-V, содержит инсерцию CAGTCTATAAGA в *IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L*; ● – вариант CVR-V, содержит инсерцию в *IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L*, а также транзиции в *IGR C62L – C962R* и в генах *D1133L* и *Q706L*; ● – изоляты, несущие вариант CVR-V, предположительно относящиеся к линии «Россия».

Fig. 5. Distribution of isolates of the Russia lineage.

● – variant CVR-I; ● – variant CVR-VI; ● – variant CVR-V, contains the CAGTCTATAAGA insertion in *IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L*; ● – variant CVR-V, contains an insertion in *IGR MGF 360-13L – MGF 360-14L*, as well as transitions in *IGR C62L – C962R* and in genes *D1133L* and *Q706L*; ● – isolates carrying the CVR-V variant, presumably belonging to the Russia lineage.

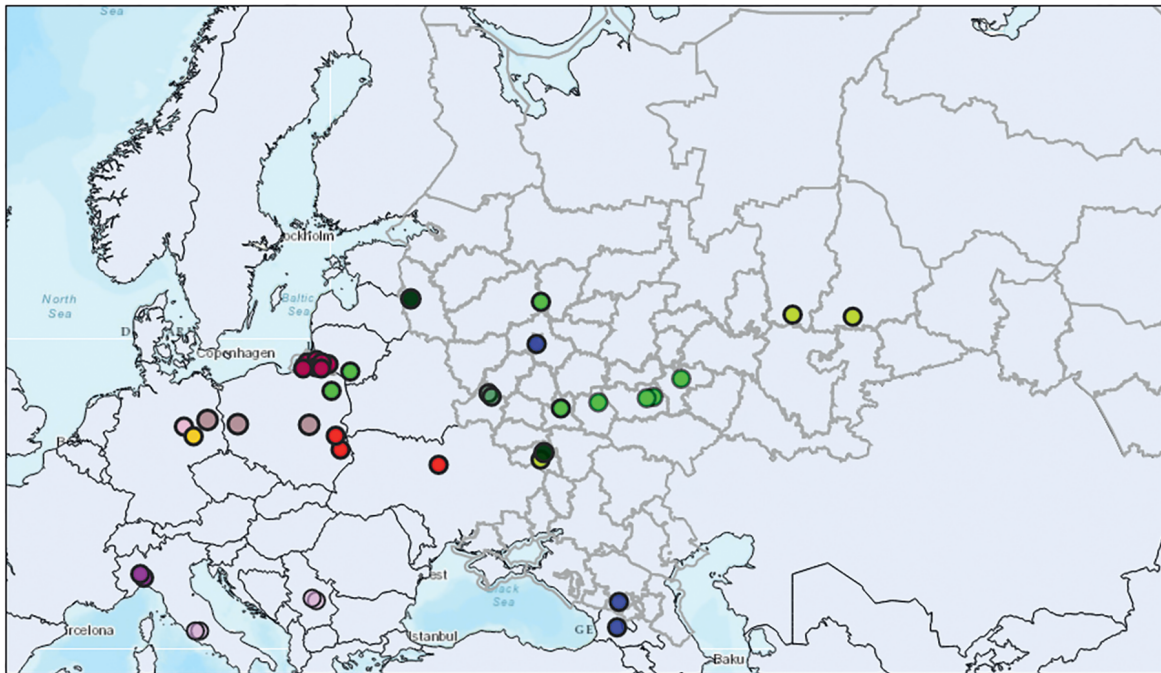


Рис. 6. Встречаемость генетических линий АЧС II генотипа в Европе. Изоляты, предположительно относящиеся к линии «Россия», не указаны.

● – Georgia 2007/Россия; ● – Georgia 2007/Неклассифицированные линии; ● – Восточная Европа/Польша; ● – Восточная Европа/Киев 2016; ● – Восточная Европа/Калининград; ● – Европа/Италия; ● – Европа/Сербия; ● – Восточная Европа/Германия 2020; ● – Восточная Европа/Германия 2021; ● – Европа/Псков 2021; ● – Европа/Центр России 2021; ● – Европа/Брянск 2021.

Fig. 6. Distribution of ASFV genotype II genetic lineages in Europe. Isolates presumably belonging to the Russia lineage are not listed.

● – Georgia 2007/Russia; ● – Georgia 2007/Unclassified lineages; ● – Eastern Europe/Poland; ● – Eastern Europe/Kyiv 2016; ● – Eastern Europe/Kaliningrad; ● – Europe/Italy; ● – Europe/Serbia; ● – Eastern Europe/Germany 2020; ● – Eastern Europe/Germany 2021; ● – Europe/Pskov 2021; ● – Europe/Central Russia 2021; ● – Europe/Bryansk 2021.

и других стран. Однако, как показано в работе [16], полиморфизм гена *E199L* не имеет значения в качестве маркера разнообразия, так как его изменения связаны не с географическим распространением, а с адаптацией вируса к хозяину. Этот белок необходим для события слияния, которое приводит к проникновению вируса в клетку-хозяина [27], а также индуцирует аутофагию [28]. То же касается и замены глутамина на гистидин в позиции 104 E199L в ASFV_Lipezk-2016.

Остальные обнаруженные уникальные полиморфизмы не приводят к изменению аминокислотной последовательности, хотя также могут иметь потенциальное филогенетическое значение в будущем, при описании новых полных последовательностей вируса, выделенных в центральных регионах России.

Заключение

На основании проведенного анализа было установлено, что изоляты вируса АЧС, выделенные на территории Липецкой, Пензенской и Тамбовской областей в период 2016–2021 гг. относятся к варианту CVR-V генетической линии «Россия» клады Georgia 2007. Был обнаружен новый вероятный маркер разнообразия в *IGR MGF 360-13L* – *MGF 360-14L* и предложены полиморфизмы в *IGR C62L* – *C962R* и в генах *D1133L* и *Q706L*, имеющие филогенетический потенциал для дифференцировки штаммов вируса АЧС в центральных регионах России.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Chen S., Wang T., Luo R., Lu Z., Lan J., Sun Y., et al. Genetic variations of African swine fever virus: major challenges and prospects. *Viruses*. 2024; 16(6): 913. <https://doi.org/10.3390/v16060913>
- Gallardo C., Casado N., Soler A., Djadjovski I., Krivko L., Madueño E., et al. A multi gene-approach genotyping method identifies 24 genetic clusters within the genotype II-European African swine fever viruses circulating from 2007 to 2022. *Front. Vet. Sci.* 2023; (10): 1112850. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1112850>
- Mazloun A., van Schalkwyk A., Chernyshev R., Igolkin A., Heath L., Sprygin A.A. Guide to molecular characterization of genotype II African swine fever virus: essential and alternative genome markers. *Microorganisms*. 2023; 11(3): 642. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030642>
- Chernyshev R., Igolkin A., van Schalkwyk A., Zinyakov N., Kolbin I., Shotin A., et al. A proposed update of African swine fever virus (genotype II) subgenotyping based on the central variable region (CVR) of Russian isolates. *Arch. Virol.* 2024; 169(7): 147. <https://doi.org/10.1007/s00705-024-06064-w>
- Nix R.J., Gallardo C., Hutchings G., Blanco E., Dixon L.K. Molecular epidemiology of African swine fever virus studied by analysis of four variable genome regions. *Arch. Virol.* 2006; 151(12): 2475–94. <https://doi.org/10.1007/s00705-006-0794-z>
- Mazloun A., van Schalkwyk A., Chernyshev R., Shotin A., Korennoy F.I., Igolkin A., et al. Genetic characterization of the central variable region in African swine fever virus isolates in the Russian Federation from 2013 to 2017. *Pathogens*. 2022; 11(8): 919. <https://doi.org/10.3390/pathogens11080919>
- Mazloun A., van Schalkwyk A., Shotin A., Igolkin A., Shevchenko I., Gruzdev K.N., et al. Comparative analysis of full genome sequences of African swine fever virus isolates taken from wild boars in Russia in 2019. *Pathogens*. 2021; 10(5): 521. <https://doi.org/10.3390/pathogens10050521>

8. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014; 30(15): 2114–20. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
9. Prjibelski A., Antipov D., Meleshko D., Lapidus A., Korobeynikov A. Using SPAdes de novo assembler. *Curr. Protoc. Bioinformatics*. 2020; 70(1): e102. <https://doi.org/10.1002/cpbi.102>
10. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M.; UGENE team. Uni-pro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*. 2012; 28(8): 1166–7. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
11. Danecek P., Bonfield J.K., Liddle J., Marshall J., Ohan V., Pollard M.O., et al. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *Gigascience*. 2021; 10(2): giab008. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giab008>
12. Tcherepanov V., Ehlers A., Upton C. Genome Annotation Transfer Utility (GATU): rapid annotation of viral genomes using a closely related reference genome. *BMC Genomics*. 2006; 7: 150. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-150>
13. Katoh K., Standley D.M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol.* 2013; 30(4): 772–80. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
14. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol. Biol. Evol.* 2021; 38(7): 3022–7. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
15. Mazur-Panasiuk N., Walczak M., Juszkiewicz M., Woźniakowski G. The spillover of African swine fever in western Poland revealed its estimated origin on the basis of O174L, K145R, MGF 505-5R and IGR I73R/I329L genomic sequences. *Viruses*. 2020; 12(10): 1094. <https://doi.org/10.3390/v12101094>
16. Chernyshev R., Mazloun A., Zinyakov N., Kolbin I., Shotin A., Korennyy F.I., et al. Unique nucleotide polymorphism of African swine fever virus circulating in East Asia and Central Russia. *Viruses*. 2024; 16(12): 1907. <https://doi.org/10.3390/v16121907>
17. Dixon L.K., Chapman D.A., Netherton C.L., Upton C. African swine fever virus replication and genomics. *Virus Res.* 2013; 173(1): 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.10.020>
18. Coulson D., Upton C. Characterization of indels in poxvirus genomes. *Virus Genes*. 2011; 42(2): 171–7. <https://doi.org/10.1007/s11262-010-0560-x>
19. Lovett S.T. Encoded errors: mutations and rearrangements mediated by misalignment at repetitive DNA sequences. *Mol. Microbiol.* 2004; 52(5): 1243–53. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04076.x>
20. Zhu Z., Xiao C.T., Fan Y., Cai Z., Lu C., Zhang G., et al. Homologous recombination shapes the genetic diversity of African swine fever viruses. *Vet. Microbiol.* 2019; 236: 108380. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.08.003>
21. Hou J., Shen C., Dajun Z., Yang B., Shi X., Zhang T., et al. Gene sequence analysis, protein structure prediction and subcellular localization of African swine fever virus helicase D1133L. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*. 2021; 52(7): 1953–62. <https://doi.org/10.11843/j.issn.0366-6964.2021.07.017>
22. Hao Y., Yang J., Yang B., Zhang T., Shi X., Yang X., et al. Identification and analysis of the interaction network of African swine fever virus D1133L with host proteins. *Front. Microbiol.* 2022; 13: 1037346. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1037346>
23. Zhang T., Yang B., Cui H., Yuan X., Zhao D., Yang J., et al. Establishment and preliminary application of MA-104 cell line over-expressing African swine fever virus D1133L protein. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*. 2022; 53(6): 1877–85. <https://doi.org/10.11843/j.issn.0366-6964.2022.06.021>
24. Freitas F.B., Frouco G., Martins C., Ferreira F. The QP509L and Q706L superfamily II RNA helicases of African swine fever virus are required for viral replication, having non-redundant activities. *Emerg. Microbes Infect.* 2019; 8(1): 291–302. <https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1578624>
25. Ramirez-Medina E., Vuono E.A., Rai A., Pruitt S., Silva E., Velazquez-Salinas L., et al. Evaluation in swine of a recombinant African swine fever virus lacking the MGF-360-1L gene. *Viruses*. 2020; 12(10): 1193. <https://doi.org/10.3390/v12101193>
26. Yang K., Xue Y., Niu H., Shi C., Cheng M., Wang J., et al. African swine fever virus MGF360-11L negatively regulates cGAS-STING-mediated inhibition of type I interferon production. *Vet. Res.* 2022; 53(1): 7. <https://doi.org/10.1186/s13567-022-01025-0>
27. Matamoros T., Alejo A., Rodríguez J.M., Hernández B., Guerra M., Fraile-Ramos A., et al. African swine fever virus protein pE199L mediates virus entry by enabling membrane fusion and core penetration. *mBio*. 2020; 11(4): e00789-20. <https://doi.org/10.1128/mbio.00789-20>
28. Chen S., Zhang X., Nie Y., Li H., Chen W., Lin W., et al. African swine fever virus protein E199L promotes cell autophagy through the Interaction of PYCR2. *Virol. Sin.* 2021; 36(2): 196–206. <https://doi.org/10.1007/s12250-021-00375-x>

Информация об авторах:

Скоробагатько Дарья Александровна ✉ – канд. биол. наук, специалист направления геномики и молекулярной биологии ООО НИЦ «Черкизово», Москва, Россия. E-mail: d.skorobagatko86@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-3239-9004>

Толькова Екатерина Сергеевна – главный специалист направления геномики и молекулярной биологии ООО НИЦ «Черкизово», Москва, Россия. E-mail: katerina.tolkova@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-4770-3796>

Шепелева Ольга Александровна – руководитель направления геномики и молекулярной биологии ООО НИЦ «Черкизово», Москва, Россия. E-mail: o.shepeleva@cherkizovo.com; <https://orcid.org/0000-0002-3366-8184>

Шаповалов Сергей Олегович – д-р биол. наук, директор ООО НИЦ «Черкизово», Москва, Россия. E-mail: s.shapovalov@cherkizovo.com; <https://orcid.org/0000-0002-5630-5247>

Участие авторов: Скоробагатько Д.А. – проведение биоинформатического анализа, интерпретация данных, критическая обработка и подготовка текста; Толькова Е.С. – разработка и концепция исследования, проведение экспериментов, сбор данных, биоинформатический анализ, подготовка текста; Шепелева О.А. – проведение экспериментов, подготовка текста; Шаповалов С.О. – окончательное утверждение статьи для публикации.

Поступила 10.11.2025
Принята в печать 16.01.2026
Опубликована 28.02.2026

Information about the authors:

Daria A. Skorobagatko ✉ – Candidate of Biological Sciences (Ph. D.), Specialist in Department of Genomics and Molecular Biology, Cherkizovo Research and Testing Center LLC, Moscow, Russia. E-mail: d.skorobagatko86@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-3239-9004>

Ekaterina S. Tolkova – Main Specialist in Department of Genomics and Molecular Biology, Cherkizovo Research and Testing Center LLC, Moscow, Russia. E-mail: katerina.tolkova@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-4770-3796>

Olga A. Shepeleva – Head of the Department of Genomics and Molecular Biology, Cherkizovo Research and Testing Center LLC, Moscow, Russia. E-mail: o.shepeleva@cherkizovo.com; <https://orcid.org/0000-0002-3366-8184>

Sergey O. Shapovalov – Doctor of Sciences in Biology, Head of the Cherkizovo Research and Testing Center LLC, 108805, Moscow, Russia. E-mail: s.shapovalov@cherkizovo.com; <https://orcid.org/0000-0002-5630-5247>

Contribution: Skorobagatko D.A. – conducting bioinformatic analysis, data interpretation, critical processing and text preparation; Tolkova E.S. – design and concept of research, conducting experiments, data collection, bioinformatic analysis, text preparation; Shepeleva O.A. – conducting experiments, text preparation; Shapovalov S.O. – final approval of the article for publication.

Received 10 November 2025
Accepted 16 January 2026
Published 28 February 2026