

**Бигаева Алана Владиславовна, н.с.,  
Лазарева Екатерина Германовна, м.н.с.,  
Ржанова Ирина Владимировна, н.с.**

ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Москва

## **СОВРЕМЕННЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИРУСА БЫЧЬЕГО ЛЕЙКОЗА**

*Аннотация. Генотипическая неоднородность вируса лейкоза (ВБЛ) крупного рогатого скота, проявление которого регистрируют как в России, так и за рубежом, вызывает как общебиологический, так и прикладной интерес. Появляются работы по изучению особенностей течения лейкозной инфекции, ее этиологическом агенте, высокой степени агрессивности некоторых генотипов ВБЛ. Современные молекулярно-генетические методы исследования являются наиболее информативными в вопросе геноидентификации, как при использовании филогенетического анализа секвенируемых нуклеотидных последовательностей ДНК провируса, так и ПЦР-ПДРФ-анализа в соответствии с филогенетической классификацией возбудителя.*

*Ключевые слова: вирус бычьего лейкоза, ВБЛ, крупный рогатый скот, ген, генотип, геноидентификация, ПЦР, ПДРФ, секвенирование.*

**Bigaeva Alana Vladislavovna, Researcher,  
Lazareva Ekaterina Germanovna, Junior Researcher,  
Rzhanova Irina Vladimirovna, Researcher**

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

## **MODERN MOLECULAR-GENETIC IDENTIFICATION METHODS OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS**

*Annotation. Genotypic heterogeneity of Bovine leukemia virus (BLV), manifestation of which is recorded both in Russia and abroad, is of both general biological and applied interest. There are studies on course characteristics of leukemia infection, its etiological agent, and high aggressiveness degree of some BLV genotypes. Modern molecular genetic research methods are most informative on the issue of geno-identification, both when using phylogenetic analysis of sequenced DNA provirus sequences and PCR-RFLP analysis in accordance with pathogen phylogenetic classification.*

*Key words: Bovine leukemia virus, BLV, cattle, gene, genotype, geno-identification, PCR, RFLP, sequencing.*

Лейкоз крупного рогатого скота – опухолевое заболевание инфекционной природы, возбудителем которого, согласно международной вирусной таксономии [1], является вид *Bovine leukemia virus* рода *Deltaretrovirus* семейства *Retroviridae*.

Считается, что продукты питания от инфицированного скота могут представлять опасность для человека из-за влияния вредных метаболитов, образующихся в организме больного животного. Также имеет место инфицирование человека возбудителем заболевания в случаях недостаточной термической обработки сырья: пастеризация молока инактивирует вирус, но не деградирует его геном, при этом, в ассортименте молочной продукции есть целый ряд продуктов, в том числе напитков, в чью технологию производства входит щадящий режим пастеризации молока-сырья [2,3].

Сегодня для борьбы с распространением вируса лейкоза крупного рогатого скота в систему противоэпизоотических мероприятий внедряют раннюю генодиагностику возбудителя с последующим удалением инфицированных животных из стада. Наиболее информативными исследованиями являются филогенетический анализ секвенируемых нуклеотидных последовательностей ДНК провируса, либо ПЦР-ПДРФ-анализ [4,5] в соответствии с филогенетической классификацией возбудителя [5].

Нынешняя филогенетическая классификация ВБЛ представлена десятью генотипами, первые семь из которых описаны в работе S.M. Rodriguez и соавт. в 2009 г. [6], восьмой генотип описан российскими учеными [7], хорватскими [8] и европейскими учеными [9] в 2011-2013 гг., девятый генотип – группой аргентинских, чилийских и японских ученых [10] в 2016 г., и десятый генотип – группой исследователей из Таиланда и Южной Кореи [11] в 2016 г.

Основной задачей современных исследований является установление генотипической принадлежности изолятов ВБЛ, циркулирующих в животноводческих хозяйствах Республики Татарстан Российской Федерации, на основе филогенетического анализа секвенированных последовательностей локуса *env*-гена провируса ВБЛ, с апробацией стратегии ПЦР-ПДРФ-генотипирования, согласующейся с филогенетической классификацией возбудителя.

В исследовании [5] было установлено, что в популяциях крупного рогатого скота на территории Республики Татарстан циркулируют изоляты ВБЛ 4, 7-го и 8 генотипов. Предложенная в исследовании стратегия ПЦР-ПДРФ – генотипирования ВБЛ с подобранными условиями идентификации 8 генотипов ВБЛ по 5 эндонуклеазам рестрикции (*PvuII*, *SspI*, *HphI*, *HaeIII* и *BstYI*) согласована с современным подходом к оценке его генотипического разнообразия, основанным на филогенетическом анализе *env*-гена возбудителя.

В исследовании [12] было подтверждено, что генотипический состав идентифицированных изолятов ВБЛ, зафиксированных у крупного рогатого скота из животноводческих хозяйств 21 района Республики Татарстан Российской Федерации, представлен первым, четвертым, седьмым и восьмым генотипами изучаемого вирусного патогена. Также данным исследованием была показана несогласованность ряда использованных ранее стратегий ПЦР-ПДРФ-типизации с ны-

нешним подходом в оценке генотипического разнообразия ВБЛ филогенетическим анализом, что исправлено сейчас, в том числе благодаря пополнению знаний о количестве генотипов изучаемого заболевания.

Диагностика лейкоза крупного рогатого скота с точки зрения изучения генетического разнообразия его этиологического агента весьма актуальна, учитывая факт невозможности типирования возбудителя серологическими методами, с перспективой установления возможной связи генотипа вируса с его серологической специфичностью и развитием клинического лейкоза в будущем.

#### Список литературы

1. King A.M.Q., Adams J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. Virus Taxonomy: classification and nomenclature of viruses: Ninth Report of the ICTV. Amsterdam: Elsevier, Academic Press; 2012.

2. Reichert M., Grundboeck-Jusko J., Rulka J., Stec J., Kozaczynski W. Influence of selected technological treatments on the BLV provirus DNA occurring in the tissues of leukaemic cattle. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy. 1994, vol.38, no.2, pp. 52-60.

3. Свириденко Г.М., Семова Е.Г. Лейкоз скота и безопасность молочных продуктов. Молочная промышленность. 2003, № 7, С. 8-10.

4. Тюлькин С.В., Вафин Р.Р., Муратова А.В. и др. Разработка способа проведения ПЦР-ПДРФ на примере DGAT1-гена крупного рогатого скота. Фундаментальные исследования. 2015, № 2-17, С. 3773-3775.

5. Vafin R.R., Khazipov N.Z., Shaeva A.Y. and etc. Genotypic identification of the bovine leukemia virus. 2014, vol. 29, no. 4, pp. 195-203. DOI: 10.3103/S0891416814040120.

6. Rodriguez S.M., Golemba M.D., Campos R.H., Trono K, Jones L.R. Bovine leukemia virus can be classified into seven genotypes: evidence for the existence of two novel clades. J.Gen. Virol. 2009, vol. 90, no. 11, pp. 2788-2797. DOI: 10.1099/vir.0.011791-0.

7. Шаева А.Ю., Вафин Р.Р., Хазипов Н.З., Алимов А.М. Идентификация нового генотипа ВЛКРС. Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2012, Т. 211. С. 192-197.

8. Balic D., Lojkic I., Periskic M. and etc. Identification of a new genotype of bovine leukemia virus. Arch. Virol. 2012, vol. 157, no.7, pp. 1281-1290. DOI: 10.1007/s00705-012-1300-4.

8. Rosa-Luszczak M., Pluta A., Olech M., Donnik I. and etc. The molecular characterization of bovine leukaemia virus isolates from Eastern Europe and Siberia and its impact on phylogeny. PLoS One. 2013, vol. 8, no. 3, pp. e58705. DOI: 10.1371/journal.pone.0058705.

9. Povat M., Takeshima S.N., Hosomichi K. and etc. A new genotype of bovine leukemia virus in South America identified by NGS-based whole genome sequencing and molecular evolutionary genetic analysis. Retrovirology. 2016, vol. 13, no. 4. DOI:10.1186/s12977-016-0239-z.

10. Lee E., Kim E.J., Ratthanophart J., Vitoonpong R., Kim B.H., Cho I.S., Song J.Y., Lee K.K., Shin Y.K. Molecular epidemiological and serological studies of bovine leukemia virus (BLV) infection in Thailand cattle. *Infect. Genet. Evol.* 2016, vol. 41, no. 245-254. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.04.010.

11. Donnik I., Vafin R., Galstyan A., Krivonogova A., Shaeva A., Gilmanov K., Karimova R., Tyulkin S., Kuźmak J. Genetic identification of bovine leukaemia virus. *Food and Raw Materials*. 2018, vol. 6, no. 2, pp. 314–324. DOI: 10.21603/2308-4057-2018-2-314-324.