

DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-6-1020

EDN: FYDOJW

УДК 619:001.608.1:616-22.6:636.2



Научная статья

ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА: ПЕРВЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

*М.В. Петропавловский, И.М. Донник, Н.А. Безбородова,
В.А. Макутина, А.Г. Исаева, А.В. Лысов, А.С. Романова*

Аннотация

Целью исследования являлось изучение молекулярно-генетических свойств возбудителя лейкоза крупного рогатого скота, персистирующего на территории Республики Башкортостан.

Молекулярно-генетические исследования биологического материала от разновозрастных групп крупного рогатого скота республики, инфицированного вирусом лейкоза проведены методами ПЦР-ПДРФ, ДНК-секвенирования.

В результате получены новые знания о молекулярно-генетической структуре и основных полиморфизмах возбудителя лейкоза животных на территории Республики Башкортостан. Впервые осуществлена классификация изолятов вируса лейкоза крупного рогатого скота (BLV), выделенных на территории республики с помощью биоинформатических методов статистической обработки данных. Определены доминирующие генетические группы, дана оценка аминокислотным заменам в структуре поверхностного gp51 (SU) гликопротеина изолятов вируса лейкоза.

В результате проведенного кластерного анализа, большинство последовательностей из республики Башкортостан отнесено к генетической группе BLV 4 (бельгийский генотип по ПДРФ-реакции).

Биоинформатической обработкой определены однонуклеотидные SNP генотип-специфические аминокислотные полиморфизмы в структуре env гена исследуемых изолятов BLV, приводящие к аминокислотным изменениям в

структуре SU gp51 гликопротеина оболочки, основные из которых имели расположение в его N-концевой части.

Выполненные исследования расширяют научные знания о генетических свойствах отдельных генотипов возбудителя лейкоза. Эпизоотологический и молекулярно-генетический мониторинг позволяет также изучать особенности распространения генетических типов возбудителя лейкоза в различных условиях и на разных административных территориях Российской Федерации в корреляции с характером течения лейкозного патологического процесса среди популяций животных. Это позволяет прогнозировать возможности появления новых «агрессивных» генетических вариантов возбудителя, межвидовую передачу и своевременно разрабатывать современные методы диагностики и контроля за их распространением.

Ключевые слова: вирус лейкоза крупного рогатого скота; ДНК-секвенирование; филогенетический анализ; генетические группы; биоинформатический анализ

Для цитирования. Петропавловский М.В., Донник И.М., Безбородова Н.А., Макутина В.А., Исаева А.Г., Лысов А.В., Романова А.С. Особенности молекулярно-генетических свойств вируса лейкоза крупного рогатого скота: первые экспериментальные исследования на территории Республики Башкортостан // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. 2024. Т. 16, №6. С. 202-227. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-6-1020

Original article

NEWLY IDENTIFIED NUCLEOTIDE SUBSTITUTIONS IN BOVINE LEUKEMIA VIRUS ISOLATES FROM THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN

*M.V. Petropavlovskiy, I.M. Donnik, N.A. Bezborodova,
V.A. Makutina, A.G. Isaeva, A.V. Lysov, A.S. Romanova*

Abstract

The purpose of this paper is to study genetic properties of the causative agent of bovine leukemia, which persists in the territory of the Republic of Bashkortostan.

PCR-RFLP and DNA sequencing methods were used for bovine leukemia virus (BLV) detection in biological material obtained from different age groups of cattle.

The novelty of the research is that new knowledge has been obtained about the molecular genetic structure and the main polymorphisms of the causative agent of leukemia in animals on the territory of the Republic of Bashkortostan. For the first time, the classification of BLV isolates was carried out on the territory of the Republic using bioinformatic methods of statistical data processing. The dominant genetic groups were identified, and amino acid substitutions in the structure of the surface gp51 (SU) glycoprotein were evaluated.

As a result of the cluster analysis, most of the sequences from the Republic of Bashkortostan were assigned to the genetic group BLV 4 (Belgian genotype according to the PDRF reaction).

By bioinformatic processing, we determined single nucleotide SNP genotype-specific amino acid polymorphisms in the structure of the env gene of the studied BLV isolates, leading to amino acid changes in the structure of the SU gp51 shell glycoprotein, the main of which are located in its N-terminal part.

The performed research expands scientific knowledge about genetic properties of individual genotypes of causative agent of leukemia. Epizootological and genetic screening makes it possible to study characteristics of the distribution of genetic types of BLV in different conditions and geographic territories of the Russian Federation. Studies took into account correlation with the course of the leukemic pathological process. That allows us to predict the possibility of the emergence of novel “aggressive” genetic variants of the BLV, interspecies transmission and timely develop modern methods for diagnosing and monitoring pathogen spread.

Keywords: bovine leukemia virus; Sanger sequencing; phylogenetic analysis; genetic groups; bioinformatic analysis

For citation. Petropavlovskiy M.V., Donnik I.M., Bezborodova N.A., Makutina V.A., Isaeva A.G., Lysov A.V., Romanova A.S. Newly Identified Nucleotide Substitutions in Bovine Leukemia Virus Isolates from the Republic of Bashkortostan. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 2024, vol. 16, no. 6, pp. 202-227. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-6-1020

Введение

Лейкоз является одним из наиболее распространенных хронических инфекционных заболеваний крупного рогатого скота во многих странах мира и служит причиной существенных экономических потерь в отрасли животноводства. Этиологическим фактором болезни служит вирус лейкоза (BLV), относящийся к семейству *Retroviridae*, роду *Deltaretrovirus* [2; 9; 24; 27; 32; 37; 38; 39].

По мере развития патологического процесса, индуцируемого заболеванием, у животных происходит формирование функциональных нарушений иммунной системы [18; 20; 24; 37; 66].

Во многих исследованиях отмечено, что BLV имеет наибольший тропизм к субпопуляциям CD2⁺, CD3⁺, CD4⁺ [3; 6; 55], CD8⁺ [7; 57], γ/δ Т-клеток [30], CD5⁺ и CD5⁻ IgM⁺ В-клеток [34], моноцитам и гранулоцитам периферической крови и лимфоидных тканей крупного рогатого скота. Являясь основными мишенями CD5⁺ IgM⁺ В-клетки [2] больше всего подвержены поликлональной экспансии при прогрессировании стадий патологического состояния у инфицированных лейкозом животных, формируя в терминальных стадиях болезни опухолевые клетки [24; 36; 45; 49].

По мере реализации инфекционного процесса происходят нарушения дифференцировки, созревания и апоптоза иммунных клеток, что приводит к изменению соотношения популяций и субпопуляций клеток периферической крови. У инфицированных вирусом лейкоза животных дисфункция В-клеток приводит к ингибции необходимого уровня протективных иммуноглобулинов, что катализирует патологический процесс. Таким образом патоген избегает иммунного надзора, что позволяет осуществлять ему ускоренную репликацию [20].

Поэтому во многих неблагополучных сельскохозяйственных предприятиях отмечают снижение эффективности проводимой вакцинопрофилактики [20], потерю продуктивности животных, повышение восприимчивости их к инфекционным и незаразным патологиям [16; 17; 27; 37; 38; 39; 42; 54; 55; 61].

Типизация вируса лейкоза (BLV), изучение его генетической структуры, оценка мутаций и более подробное раскрытие биологических свойств патогена имеет важное фундаментальное и прикладное значение. Определенные аминокислотные замены в структурных белках возбудителя лейкоза могут оказывать влияние на его инфекционные свойства [10; 51; 59], а также на идентификацию лабораторно-диагностическими методами [19].

В настоящее время большинство научных работ по изучению генетического разнообразия возбудителя лейкоза посвящено изучению env гена [10; 12; 31; 65] ввиду его биологических функций, основными из которых является кодирование поверхностного гликопротеина SU gp51 и трансмембранного TM gp30 [15; 50]. Данные белки индуцируют экспрессию специфических иммуноглобулинов у инфицированных животных, а также играют ведущую роль в распознавании и связывании с поверхностными клеточными рецепторами, что впоследствии приводит к слиянию клеточ-

ных мембран и оболочки вируса [25; 26; 65]. Выявленные и описанные нуклеотидные замены в различных доменах env гена позволили классифицировать BLV на 12 генетических групп [48; 58]. Данные о последовательностях патогена важно учитывать при изучении его биологических свойств, усовершенствовании методов лабораторной диагностики, а также при разработке новейших средств специфической профилактики [24; 27; 32] и контроля за распространением заболевания [23; 44; 52], прогнозировании межвидовой передачи.

Изучение особенностей молекулярно-генетических свойств патогена на территории республики Башкортостан проведено впервые.

Материалы и методы исследования

Научная работа выполнена в Уральском НИВИ – структурном подразделении ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН. Клинические исследования проведены в сельскохозяйственных организациях республики Башкортостан. Объект исследования – крупный рогатый скот разновозрастных групп местного разведения.

Серологические исследования проводили методом ИФА, с использованием набора IDEXX Leukosis Serum Screening-тест (Франция) в соответствии с прилагаемой инструкцией. Учет результатов исследований методом твердофазного ИФА проводили на фотометре «iMark TM» (Bio-RAD, США).

Молекулярно-генетические исследования проводили по следующей схеме. Выделение ДНК производили из цельной крови с использованием набора «Diatom DNA Prep 200» (ООО «ИзоГен», Москва). Для первичного выявления возбудителя лейкоза у животных в образцах, применяли метод ПЦР, используя коммерческие наборы реагентов «Лейкоз» Ampli Sens (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва), в соответствии с инструкцией.

Для проведения гнездовой (nested) ПЦР применяли мастер микс наборы - БиоМастер HS-Тэг ПЦР (2^x), ООО «Биолабмикс» (Новосибирск).

Измерение концентрации ДНК проводили флуориметрическим методом при помощи прибора MaxLife H100 Mod.2 ООО «МВМ Диагностика» (Барнаул). Амплификацию в режиме реального времени с применением CFX96 Touch (Bio-Rad, США).

Фрагмент гена *env 444 п.н.* амплифицировали с помощью гнездовой (nested) ПЦР с использованием следующих праймеров: env 5032 tct-gtg-cca-agt-ctc-cca-gat-a, env 5608 aac-aac-aac-ctc-tgg-gaa-ggg-t, env 5099 ccc-

aca-agg-gcg-gcg-ccg-gtt-t, env 5521 gcg-agg-ccg-ggt-cca-gag-ctg-g [10], синтезированных компанией «Евроген» (Москва). С проведением двух последовательных реакций со следующими параметрами циклов: 2 минуты при +94°C (1 цикл), 30 секунд при +95°C, 30 секунд при +62°C (внешние праймеры) или 30 секунд +70°C (внутренние праймеры), 60 секунд +72°C (40 циклов), 4 минуты +72°C.

На первом этапе постановки гнездовой ПЦР, электрофоретическая подвижность ампликонов соответствовала длине фрагмента 600 п.н., на втором этапе - 444 п.н.

ПДРФ-анализ (RFLP - Restriction Fragment Length Polymorphism) проводили путём разрезания участка ДНК (444 п.н. env гена) с помощью (со следующими параметрами циклов: BamHI, PvuII - 37°C 2 часа; BclI – 55°C 2 часа. Анализ размеров образующихся фрагментов (рестриктов) проводили путём гель-электрофореза по методике Y. Asfaw et al., 2005 [4].

В качестве контроля амплификации, на всех этапах исследований использовали ДНК, выделенную из референтной линии клеток FLK-BLV. Культивирование клеточной линии FLK BLV (M. Van Der Maaten, J. Miller, A. Boothe, 1974) производили монослойным способом на среде 199, с добавлением 10 % бычьей эмбриональной сыворотки.

Учет реакции осуществляли методом горизонтального электрофореза с применением 1,5% агарозного геля с добавлением бромистого этидия в качестве интеркалирующего красителя для ДНК. В работе применяли оборудование, систему для гель-документирования с УФ источником света E-Gel Imagen Sistem (Termo Fisher Scientific Inc.). Для определения размера ампликонов, после проведения ПЦР исследований использовали маркер «Step100» ООО «Биолабмикс» (Новосибирск) и ДНК-маркеры 1 Kb НПО «СибЭнзим» (Новосибирск).

ДНК-секвенирование целевого участка гена env gp51, длиной 444 п.н. производили в двух направлениях, использовали генетический анализатор ABI 3500 Genetic Analyzer с набором реагентов ABI PRISM BigDye™ Terminator Cycle 3.1 (Applied Biosystems, США) в соответствии с прилагаемой к ним инструкцией.

Полученные последовательности обрабатывали биоинформатически. Первичные данные редактировали с применением пакета программ SeqScape 3 (Applied Biosystems, США). Множественное выравнивание производили на референсную последовательность (GenBank - FLK – BLV M35242.1.) при помощи программы MEGA X (S. Kumar et al., 2018), используя Muscle алгоритм.

Филогенетический (кластерный) анализ изолятов BLV проводили путем построения дендрограммы методом Neighbour-Joining [53] с использованием алгоритма расчета генетических дистанций Maximum Composite Likelihood и Kimura 2 – параметра модели с использованием дискретного гамма распределения для моделирования скорости эволюции между сайтами в программе MEGA X.

Позиции, содержащие пропуски и вырожденные нуклеотиды, исключались в процессе анализа при попарном сравнении последовательностей (опция Pairwise Deletion).

Для сравнительной оценки генетической изменчивости BLV в выборку к полученным в экспериментальном исследовании фрагментам включали последовательности из опубликованных сведений в базах данных NCBI GenBank, имеющие различное географическое происхождение и классификацию (генетическую группу BLV), а также образцы, полученные нами из регионов Российской Федерации в ходе предыдущих экспериментальных исследований (таблица 1).

Таблица 1.

Перечень последовательностей BLV из NCBI GenBank, включенных в биоинформатическую обработку данных

№	GenBank №, название	Происхождение	Генотип	Авторы	
1	EU266063.1 Tehran	Иран	1	Hemmatzadehh, F. 2007	
2	LC080654.1 lima40	Перу	2	Polat, M. et al, 2016	
3	KP201465.1 GBGS-12	Ю. Корея	3	Lee, E. et al, 2015	
4	M35242.1 FLK – BLV	США	1	Mamoun, R. et al, 1990	
5	JQ686091.1 MC45 Moscow	Московская область	4	Lomakina, A. et al, 2014	
6	HM563773.2 1. Russia	Краснодарский край		Rola-Luszczak, M. et al., 2013	
7	HM563772.2 2. Russia				
8	HM563770.2 4. Russia				
9	HM563771.2 5. Russia				
10	2K	Курганская область			
11	HM563782.2 3K	Курганская область			
12	HM563779.2 4Z	Челябинская область, Каслинский р-н			Pluta A., Kuzmak, J. et al., 2011
14	HM563783.2 6T	Тюменская область, Ялуторовский р-н			Rola-Luszczak, M. et al., 2013
15	EU262583.1 237_PL	Польша			
16	HM563778.2 70_PL		4В		

17	KF801459.2 8MD	Молдавия		Pluta, A. et al, 2017
18	JF720354.2 1C	Челябинская область Коелгинский р-н	4C	Rola-Luszczak, M. et al., 2013
19	JF720355.2 7C			
20	JF720356.2 8C			
21	JF720357.2 9C			
22	JF720358.2 10C			
23	EF065643.1 CRLV	Коста-Рика	5	Zhao, X. et al, 2007
24	FJ808582.1 PL-1238	Аргентина	6	Rodriguez, S. et al, 2009
25	JN695882.1 4V	Вологодская область	7A	Lomakina, A. et al, 2014
26	JQ686119.1 NK13	Новосибирск	7	
27	HM563753.2 4K	Курганская область	7A	Rola-Luszczak, M. et al., 2013
28	HM563751.2 3. Russia	Краснодарский край		
29	HM563750.2 2 2 Russia	Свердловская об- ласть		
30	HM563748 3 3 Russia			
31	HM563752.2 4 Russia			
32	HM563749 5 Russia			
33	HM563756.2 3T	Тюменская область, Ишимский р-н		
34	HM563757.2 4T	Тюменская область, Заводоуковский р-н		
35	HM563754.2 5T	Тюменская область, Ялуторовский р-н		
36	JQ353633.1 1S-c6			
37	JF720350.2 2S			
38	JF7203.2 3S			
39	JF720352.2 4S			
40	JF720353.2 5S			
41	HM563760.2 3-3 UA	Украина	7B	Rola-Luszczak, M et al., 2013
42	HM563763.2 160_PL	Польша	7C	
43	KF801457.1 13MD	Молдавия	7D	Pluta, A. et al, 2017
44	JQ675760.1 MKC3511	Московская область	8	Lomakina, A et al, 2014
45	LC080668.1 por28	Боливия	9	Polat, M. et al, 2016
46	KU233543.1 Ns80-D3	Таиланд	10	Lee, E. et al., 2016
47	OK945975.1 9S_BKO	Казахстан Восточно- Казахстанская обл.	12	Sultanov, A. et al., 2022

48	OK283585.1 1CH	Тюменская область, Тюменский р-н	4	Petropavlovskiy, M. et al., 2022
49	OK283599.1 2CH			
50	OK283602.1 3CH			
51	OK283604.1 4CH			
52	OK283606.1 5CH			
53	OK283608.1 6CH			
54	OK283610.1 7CH			
55	OK283612.1 8CH		7	
56	OK283614.1 9CH		4	
57	OK283570.1 10CH			
58	OK283572.1 12CH			
59	OK283574.1 13CH			
60	OK283576.1 15CH			
61	OK283580.1 17CH			
62	OK283582.1 18CH			
63	OK283584.1 19CH			
64	OK283588.1 21CH			
65	OK283591.1 23CH			
66	OK283593.1 24CH			
67	OK283595.1 25CH			
68	OK283596.1 26CH			
69	OK283597.1 27CH			
70	OK283598.1 28CH			
71	OK283601.1 30CH			
72	OK283586.1 1F	Тюменская область, Тавдинский район	4	
73	OK283600.1 2F			
74	OK283603.1 3F			
75	OK283605.1 4F			
76	OK283607.1 5F			
77	OK283609.1 6F			
78	OK283611.1 7F			
79	OK283613.1 8F			
80	OK283615.1 9F			
81	OK283571.1 10F			
82	OK283573.1 12F			
83	OK283575.1 13F			
84	OK283577.1 14F			
85	OK283578.1 15F			
86	OK283579.1 16F			
87	OK283581.1 17F			

88	OK283583.1 18F		
89	OK283587.1 20F		
90	OK283589.1 21F		
91	OK283590.1 22F		
92	OK283592.1 23F		
93	OK283594.1 24F		

Для обработки полученных данных использовали программу Microsoft Excel, входящую в пакет программ Microsoft Office Pro 19.

Результаты исследования и их обсуждение

Для реализации поставленных задач на первом этапе нами был отобран биологический материал от крупного рогатого скота от серопозитивных (РИД (+)) разновозрастных групп животных из неблагополучных сельскохозяйственных предприятий республики Башкортостан (n= 34).

При первичной серологической (ИФА) диагностике групп животных, процент ложноотрицательных результатов составил – 2,9%, при обследовании методом ПЦР (коммерческая тест система) – 8,6%, что диктовало необходимость детального изучения генетической структуры env гена возбудителя лейкоза выделенных образцов.

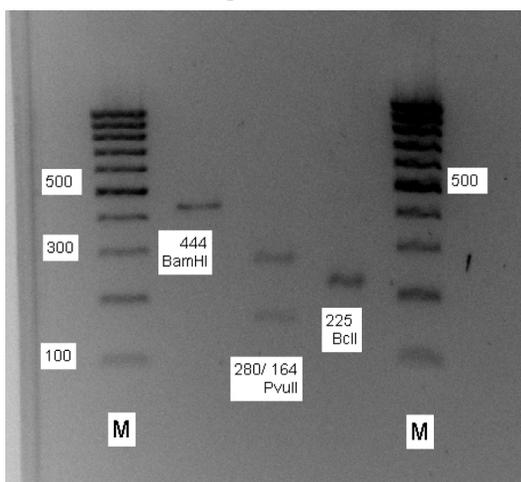


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов рестрикции: М - маркер с шагом 100 п.н.; длина сайтов рестрикции фрагмента гена env BLV (444 п.н.) при расщеплении рестриктазами - BamHI- 444 п.н., PvuII – 280, 164 п.н., BclI – 219 (Донник И.М., Петропавловский М.В., Безбородова Н.А.).

В ходе проведения молекулярно-генетических исследований биоматериалов от крупного рогатого скота, были получены специфические ДНК участки (n=34) гена env (gp51) BLV, длиной 444 п.н.

Методом ПЦР-ПДРФ геноидентификации данных фрагментов генома изолятов BLV, согласно алгоритму, разработанному Y Asfaw et al., 2005 [4], для большинства последовательностей установлен генотип вируса лейкоза «бельгийский» (n=33), для одной последовательности – нетипируемый (Рисунок 1).

В рамках дальнейшего изучения молекулярно-генетических характеристик возбудителя лейкоза подобраны образцы ДНК (n = 21), для которых проведено ДНК - секвенирование.

Биоинформатической обработкой данных установлено, что большинство изучаемых последовательностей из республики Башкортостан (n=21), (образцы №1,2,3,4,5,6,7,8,13,15,16,17,22,23,25,26,27) расположены в пределах 4 генетической группы, вместе с изолятами из Тюменской, Челябинской, Курганской, Московской областей, Краснодарского края, Молдавии, Польши. Однако, другая часть образцов (№ 11,12,18,20) расположена несколько обособленно от генетической группы 4, что предполагает их возможное отнесение к новому генотипу, для чего требуются дополнительные исследования (Рисунок 2).

При детальном изучении аминокислотных замен в структуре гликопротеина gp51 исследуемых образцов установлено (Рисунок 3), что последовательности генетической группы 4 имели генотип ассоциированные замены гистидина на аланин в 121 (aaRH) позиции в области эпитопа G. Интересно, что другая группа изолятов (11, 12, 28, 20) данных изменений не имела, однако в 150 (aaKR) позиции установлена замена аминокислоты лизина на аргинин в области нейтрализующего домена 2 (ND2), CD 8+ Т-клеточного эпитопа (N11, N12), области Zп-связывания (таблица 2). Подобный набор изменений в образцах из Российской Федерации зафиксирован впервые. Высока вероятность классификации этих последовательностей в новый генотип или субгенотип при дополнительных исследованиях.

Таблица 2.

Выявленные в образцах из республики Башкортостан аминокислотные замены в структуре гликопротеина SU gp 51

Номер образца	Позиции амк. замен	Область env gp51	Генотип BLV (RFLP)	Ген. группа BLV
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 13, 15, 16, 17, 22, 23, 25, 26, 27	121 (aaR-H)	эпитоп G	бельгийский (B)	4
11, 12, 28, 20	150 (aaK-R)	Нейтрализующий домен 2 (ND2), CD 8+ Т-клеточный эпитоп (N11, N12), область Zп-связывания		

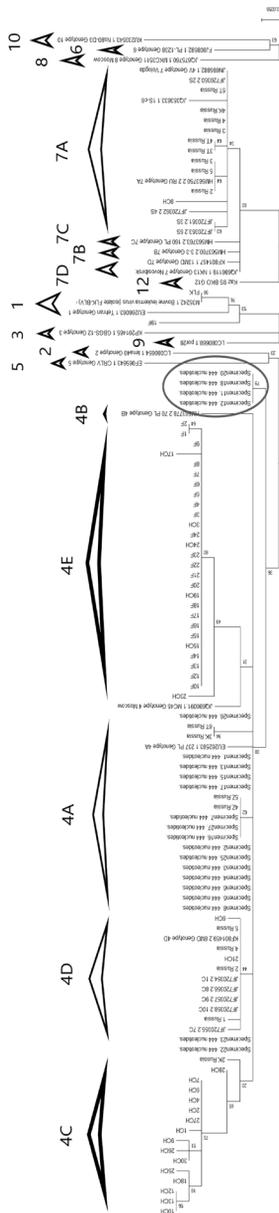


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное на основе биоинформатической обработки нуклеотидных последовательностей фрагментов 117 фрагментов генов envBLV (общая длина 445 п.н.). Номера соответствуют номерам сиквенса-типов в базе NCBI. Дерево построено методом Neighbor-joining с использованием алгоритма расчета генетических дистанций Maximum Composite Likelihood и Kimura 2 – параметра модели [52] с использованием дискретного гамма распределения для моделирования скорости эволюции между сайтами в программе MEGA X. На изображении обозначены генетические группы BLV изолятов (Авторы: И.М. Донник, М.В. Петропавловский, 2022 г.).

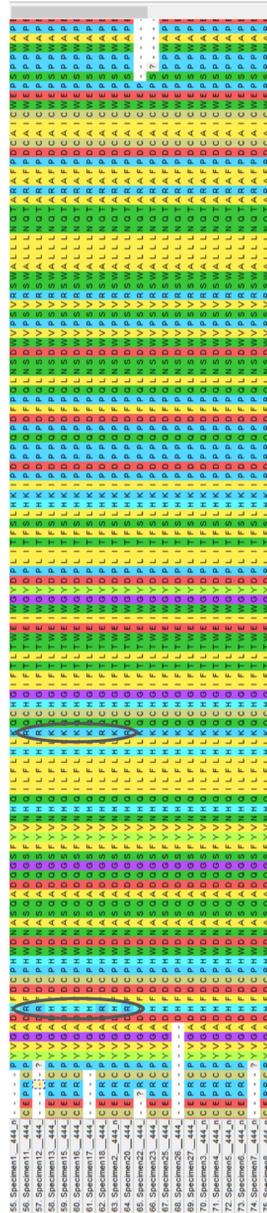


Рис. 3. Анализ аминокислотных последовательностей (n=21) env участка гена BLV (444 п.о.) образцов из республики Башкортостан. Выравнивание произведено на референсную последовательность FLK BLV (GenBank - M35242.1), использован MUSCLE алгоритм, скриншот из программы MEGA X. Овалом отмечены аминокислотные замены в структуре gp 51 (SU). (М.В. Петропавловский)

Выводы

Впервые на территории республики Башкортостан проведено генотипирование вируса лейкоза крупного рогатого скота с установлением генетической группы патогена методами ПЦР-ПДРФ и ДНК-секвенирования. Биоинформатическая обработка образцов из республики Башкортостан проведена в сравнении с выделенными на территории Российской Федерации последовательностями вируса лейкоза, а также с общеизвестными опубликованными данными генетических групп (12) BLV из библиотеки NCBI (таблица 1). Таким образом филогенетическое дерево выстроено на основе 117 нуклеотидных последовательностей, представляющих из себя фрагменты гена *env* BLV (общей длиной 445 п.н.).

В результате проведенного кластерного анализа, большинство последовательностей из республики Башкортостан отнесено к генетической группе BLV 4 (бельгийский генотип по ПДРФ-реакции).

Определение всех сиквенсов в группы и субгруппы производили согласно исследованию, проведенному A. Pluta et al. [47]. Мы распределили выделенные на территории Российской Федерации последовательности гена *env* на генотипы (4,7,8) субгенотипы (4A-E, 7A-D). В результате филогенетической оценки образцов из республики Башкортостан, одна часть выделенных нами последовательностей из текущего исследования была классифицирована в субгенотипы 4A, 4D, однако другая (19% сиквенсов) имела расположение обособленно от изолятов всех известных генетических групп патогена. Это предполагает возможную их классификацию к новому генотипу, чего требует дополнительных исследований.

Характерной особенностью распределения изолятов вируса лейкоза на территории Российской Федерации является то, что мы чаще всего в настоящее время регистрируем 4 генетический тип BLV во многих регионах. Ранее, на примере Тюменской области, мы уже описывали замещение 7 генетической группы вируса лейкоза на 4 группу [43; 44].

Согласно сведениям, предоставленным государственной ветеринарной службой Тюменской области, основной импорт в регион поголовья крупного рогатого скота производили из стран Европейского союза и США в 2000-е годы. Предполагаем, что вирус лейкоза генетической группы 4 именно в этот период имел широкое распространение. На это указывает также и то, что на территории Свердловской области в 100% случаев регистрировали генотип вируса лейкоза 7, где крайний завоз племенного крупного рогатого скота голштинско-фризской породы из ФРГ, ГДР, Польши и Дании датируется 80-ми годами [1].

Возможно, генотип BLV 4 отличается более высокой степенью иммуногенности, чем другие генетические варианты (7 и 8) патогена, персистирующие на территории Российской Федерации [43-45; 51].

Биоинформатической обработкой мы определили однонуклеотидные SNP генотип-специфические аминокислотные полиморфизмы в структуре env гена обследуемых изолятов BLV, приводящие к аминокислотным изменениям в структуре SU gp51 гликопротеина оболочки, основные из которых имели расположение в его N-концевой части.

Данный структурный белок имеет ключевое значение в инфекционности и иммуногенности вируса лейкоза, взаимодействуя с трансмембранными рецепторами клеток восприимчивого организма, принимает участие в интеграции чужеродного генетического материала в целевые клетки-мишени, индуцирует экспрессию специфических иммуноглобулинов. Помимо гуморального звена иммунитета, SU gp51 инициирует Т-клеточный иммунный ответ (в структуре SU имеются Т-хелперные CD4+ и цитотоксические (CTL) CD8+ эпитопы Т-лимфоцитов) [6; 7; 11-13; 46; 55; 65].

Наиболее выраженным генотип-ассоциированным полиморфизмом для 4 группы BLV определена замена гистидина на аланин в 121(aaR-H) позиции [46; 47; 51; 59]. Данное аминокислотное замещение было выявлено как в образцах 4 генетической группы, изучаемых ранее, так и при современном исследовании, и имело расположение в конформационном эпитопе G gp51 (SU). Интересно, что другая группа изолятов (11, 12, 28, 20) данных изменений не имела, однако в 150 (aaKR) позиции установлена замена аминокислоты лизина на аргинин в области нейтрализующего домена 2 (ND2), CD 8+ Т-клеточного эпитопа (N11, N12) в области Zn-связывания.

Иммунные В-клетки макроорганизма, согласно их мембраносвязанным рецепторам, участвуют в распознавании чужеродных антигенных и в ответ вырабатывают специфичные иммуноглобулины, которые конформационно-комплементарны с ними в определенных сайтах соответствия [12]. Для эпитопов env gp51 (SU) региона возбудителя лейкоза важными в иммуногенности являются конформационные антигенные детерминанты F, G, H [35; 59; 65]. Аминокислотные изменения в данных регионах (для образцов из исследования это эпитоп G) влияют на конформацию gp51 (SU) гликопротеина, что может приводить к потере распознавания связывающими антителами.

Полиморфизм в позиции 150 (aaK-R) цинк-связывающего региона gp51 (SU) в области нейтрализующего домена 2 (ND2) и CD 8+ Т-клеточно-

го эпитопа (N 11, 12) не был описан ранее для последовательностей из Российской Федерации [14; 48; 51]. Образцы с данными аминокислотными изменениями не имели генотип – ассоциированных (для генетической группы 4) замен в 121(aaR-H) позиции, поэтому можно их кластеризовать к новому генетическому типу или подтипу BLV.

Нейтрализующий домен 2 (ND2) имеет поверхностную локализацию так как гликопротеин gp51 (SU) имеет третичную пептидную структуру [50]. Возникающие в этом регионе полиморфизмы оказывают влияние на общий заряд спирали белка gp51 (SU), снижая его иммунореактивность [35; 65]. Ранее уже было показано участие цинк-связывающей области нейтрализующего домена 2 (ND2) в слиянии вирусной оболочки, что коррелирует со степенью инфекционности BLV [12], поэтому так важно анализировать полиморфизмы этого участка в разных географических локациях. Выявленные в регионах Российской Федерации генотип-специфичные изменения могли оказать влияние на усиление патогенных свойств возбудителя, что могло послужить одним из факторов широкого распространения вируса лейкоза генетического типа 4.

Предполагаем, что выявленные при исследовании образцов из республики Башкортостан мутации в положениях 121(aaR-H) и 150 (aaK-R) могут снижать распознавание антигенных детерминант gp51 (SU) специфическими иммуноглобулинами макроорганизма [51].

Также следует учитывать, что при первичной серологической диагностике животных из данной выборки (Республика Башкортостан) процент ложноотрицательных результатов составлял – 2,9%, при обследовании методом ПЦР (коммерческая тест система) – 8,6%. Возможно, что замены в структуре поверхностного гликопротеина могли оказывать влияние на серологическую [19] и молекулярно-генетическую диагностику вируса лейкоза крупного рогатого скота.

Ряд нуклеотидных изменений в геноме BLV носит единичный характер и, по-видимому, является частью стратегии возбудителя, связанной с уклонением его от иммунного надзора восприимчивого организма [31; 33; 38; 64].

Выполненные исследования расширяют научные знания о генетических свойствах отдельных генотипов возбудителя лейкоза, персистирующих на отдельных географических территориях. Эпизоотологический и молекулярно-генетический мониторинг позволяет также изучать особенности распространения генетических типов возбудителя лейкоза в различных условиях и на разных административных территориях Российской Федерации в корреляции с характером течения лейкозного патологиче-

ского процесса среди популяций животных. Полученные в ходе научных исследований результаты открывают возможности для прогнозирования возникновения новых «агрессивных» генетических вариантов возбудителя лейкоза, межвидовой передачи и своевременной разработки современных методологических подходов в диагностике (серологической и молекулярно-генетической) и контроле за их распространением.

Заключение комитета по этике. Проведение исследований было одобрено Комитетом по институциональной этике ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (протокол № 36 от 14 марта 2024 г.).

Информация о конфликте интересов. Конфликт интересов отсутствует.

Информация о финансировании. Исследование проведено в рамках государственного задания №0532-2021-0007.

Список литературы / References

1. Донник И.М. Биологические особенности и устойчивость к лейкозу крупного рогатого скота в различных экологических условиях Урала: Автореф. дис. д-ра биол. наук: 06.02.01, 16.00.03. Новосибирск, 1997. 48 с. (Donnik I.M. Biological features and resistance to bovine leukemia in various environmental conditions of the Urals. Novosibirsk, 1997, 48 p.).
2. Aida Y. Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus / Y. Aida, H. Murakami, M. Takahashi et al. // Front Microbiol. 2013. Vol. 4. P. 328. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00328>
3. Amills M. Reduced IL-2 and IL-4 mRNA expression in CD4+ T cells from bovine leukemia virus-infected cows with persistent lymphocytosis / M. Amills, V. Ramiya, J. Norimine et al. // Virology. 2002. Vol. 304. P. 1-9. <https://doi.org/10.1006/viro.2002.1651>
4. Asfaw Y. Distribution and superinfection of bovine leukemia virus genotypes in Japan / Y. Asfaw, S. Tsuduku, M. Konishi et al. // Arch Virol. 2005. Vol. 150. P. 493-505. <https://doi.org/10.1007/s00705-004-0433-5>
5. Bai L. Identification and characterization of common B cell epitope in bovine leukemia virus via high-throughput peptide screening system in infected cattle / L. Bai, H. Otsuki, H. Sato et al. // Retrovirology. 2015. Vol. 12. P. 106. <https://doi.org/10.1186/s12977-015-0233-x>

6. Bai L. Mapping of CD4+ T-cell epitopes in bovine leukemia virus from five cattle with differential susceptibilities to bovine leukemia virus disease progression / L. Bai, Sn. Takeshima, M. Sato et al. // *Virol. J.* 2019. Vol. 16. P. 157. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1259-9>
7. Bai L. Novel CD8+ cytotoxic T cell epitopes in bovine leukemia virus with cattle / L. Bai, S. Takeshima, E. Isogai et al. // *Vaccine.* 2015. Vol. 33. P. 7194-7202. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.10.128>
8. Bao Y. The immune potential and immunopathology of cytokine-producing B cell subsets: a comprehensive review / Y. Bao, X. Cao // *J. Autoimmun.* 2014. Vol. 55. P. 10-23. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2014.04.001>
9. Bartlett P.C. Current developments in the epidemiology and control of enzootic bovine leukosis as caused by bovine leukemia virus / P.C. Bartlett, V.J. Ruggiero, B. Norby et al. // *Pathogens.* 2020. Vol. 9. №12. P. 1-13. <https://doi.org/10.3390/pathogens9121058>
10. Beier D. Identification of different BLV provirus isolates by PCR RFLPA and DNA sequencing / D. Beier, P. Blankenstein, O. Marquard et al. 2001. Vol. 114. P. 252-256.
11. Callebaut I. Mapping of B-neutralizing and T-helper cell epitopes on the bovine leukemia virus external glycoprotein gp51 / I. Callebaut, V. Voneche, A. Mager et al. // *J. Virol.* 1993. Vol. 67. P. 5321-5327. <https://doi.org/10.1128/jvi.67.9.5321-5327.1993>
12. De Brogniez A. Determinants of the bovine leukemia virus envelope glycoproteins involved in infectivity, replication and pathogenesis / A. De Brogniez, J. Mast, L. Willems et al. // *Viruses.* 2016. Vol. 8. P. 88. <https://doi.org/10.3390/v8040088>
13. De Brogniez A. Mutation of a Single Envelope N-Linked Glycosylation Site Enhances the Pathogenicity of Bovine Leukemia Virus / A. De Brogniez, A.B. Bouzar, J.R. Jacques et al. // *J. Virology.* 2015. №89 (17). P. 8945-8956. <https://doi.org/10.1128/JVI.00261-15>
14. Donnik I.M., Krivonogova A.S., Petropavlovsky M.V., Shkuratova I.A., Rola-Łuszczak M., Kuzrmak J. Revisiting the issue of the molecular-genetic structure of the causative agent of the bovine leukemia virus in the Russian Federation // *Indian Journal of Science and Technology.* 2016. Vol. 9. № 42. P. 104253. <https://doi.org/10.17485/ijst/2016/v9i42/104253>
15. Dube S. The complete genomic sequence of an in vivo low replicating BLV strain / S. Dube, L. Abbott, D.K. Dube // *Virol. J.* 2009. Vol. 6. P. 120. <https://doi.org/10.1186/1743-422x-6-120>
16. Emanuelson U. Relationships between herd bovine leukemia-virus infection status and reproduction, disease incidence, and productivity in swedish dairy

- herds. *Prev / U. Emanuelson, K. Scherling, H. Pettersson // Vet. Med.* 1992. Vol. 12. P. 121-131. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(92\)90075-Q](https://doi.org/10.1016/0167-5877(92)90075-Q)
17. Erskine R.J. Bovine leukemia virus infection in dairy cattle: effect on serological response to immunization against J5 Escherichia coli bacterin / R.J. Erskine, P.C. Bartlett, K.M. Sabo // *Vet. Med. Int.* 2011. <https://doi.org/10.4061/2011/915747>
18. Erskine R.J. Effect of infection with bovine leukosis virus on lymphocyte proliferation and apoptosis in dairy cattle / R.J. Erskine, C.M. Corl, J.C. Gandy // *Am. J. Vet. Res.* 2011. Vol. 72. P. 1059-1064. <https://doi.org/10.2460/ajvr.72.8.1059>
19. Fechner H. Provirus variants of the bovine leukemia virus and their relation to the serological status of naturally infected cattle // H. Fechner, P. Blankenstein, A.C. Looman et al. // *Virology.* 1997. Vol. 237. P. 261-269. <https://doi.org/10.1006/viro.1997.8784>
20. Frie M.C. Bovine leukemia virus: a major silent threat to proper immune responses in cattle / M.C. Frie, P.M. Coussens // *Vet Immunol Immunopathol.* 2015. № 163(3-4). P. 103-114. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.11.014>
21. Gatot J.S. Bovine Leukemia Virus SU Protein Interacts with Zinc, and Mutations within Two Interacting Regions Differentially Affect Viral Fusion and Infectivity In Vivo / J.S. Gatot, I. Callebaut, C. Van Lint et al. // *J. Virol.* 2002. Vol. 76. P. 7956-7967. <https://doi.org/10.1128/JVI.76.16.7956-7967.2002>
22. Gatot J.S. Conservative mutations in the immunosuppressive region of the bovine leukemia virus transmembrane protein affect fusion but not infectivity in vivo / J.S. Gatot, I. Callebaut, J.P. Mornon et al. // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 12870-12880. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.21.12870>
23. Gulyukin M.I. Genetic polymorphism of the bovine leukemia virus in the Russian federation / M.I. Gulyukin, N.G. Kozyreva, L.A. Ivanova et al. // *Russ. Agricult. Sci.* 2016. Vol. 42. P. 472-475. <https://doi.org/10.3103/S1068367416060112>
24. Gutiérrez G. Vaccination against δ -retroviruses: The bovine leukemia virus paradigm / G. Gutiérrez, S.M. Rodríguez, A. De Brogniez et al. // *Viruses.* 2014. Vol. 6. P. 2416-2417. <https://doi.org/10.3390/v6062416>
25. Johnston E.R. Envelope Proteins Containing Single Amino Acid Substitutions Support a Structural Model of the Receptor-Binding Domain of Bovine Leukemia Virus Surface Protein / E.R. Johnston, L.M. Albritton, K. Radke // *J. Virol.* 2002. № 76. P. 10861-10872. <https://doi.org/10.1128/JVI.76.21.10861-10872.2002>
26. Johnston E.R. The SU and TM envelope protein subunits of bovine leukemia virus are linked by disulfide bonds, both in cells and in virions / E.R. Johnston, K.J. Radke // *Virol.* 2000. № 74(6). P. 2930-2935. <https://doi.org/10.1128/JVI.74.6.2930-2935.2000>

27. Juliarena M.A. Bovine leukemia virus: Current perspectives / M.A. Juliarena, C.N. Barrios, C.M. Lützelshwab et al. // *Virus Adapt Treat.* 2017. № 9. P. 13-26. <https://doi.org/10.2147/VAAT.S113947>
28. LaDronka R.M. Prevalence of Bovine Leukemia Virus Antibodies in US Dairy Cattle / R.M. LaDronka, S. Ainsworth, M.J. Wilkins et al. // *Vet. Med. Int.* 2018. № 8. <https://doi.org/10.1155/2018/5831278>
29. Lavanya M. Cell surface expression of the bovine leukemia virus-binding receptor on B and T lymphocytes is induced by receptor engagement / M. Lavanya, S. Kinet, A. Montel-Hagen et al. // *J. Immunol.* 2008. Vol. 181. P. 891-898. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.2.891>
30. Lundberg P. Gamma delta + T-lymphocyte cytotoxicity against envelope-expressing target cells is unique to the alymphocytic state of bovine leukemia virus infection in the natural host / P. Lundberg, G.A. Splitter // *J. Virol.* 2000. Vol. 74. P. 8299-8306. <https://doi.org/10.1128/JVI.74.18.8299-8306.2000>
31. Mamoun R.Z. Sequence variability of bovine leukemia virus env gene and its relevance to the structure and antigenicity of the glycoproteins / R.Z. Mamoun, M. Morisson, N. Rebeyrotte et al. // *J. Virol.* 1990. Vol. 64. P. 4180-4188. <https://doi.org/10.1128/jvi.64.9.4180-4188.1990>
32. Marawan M.A. Bovine Leukaemia Virus: Current Epidemiological Circumstance and Future Prospective / M.A. Marawan, A. Alouffi, S. El Tokhy // *Viruses.* 2021. № 13. P. 2167. <https://doi.org/10.3390/v13112167>
33. Matsumura K. Molecular epidemiology of bovine leukemia virus associated with enzootic bovine leukosis in Japan / K. Matsumura, E. Inoue, Y. Osawa et al. // *Virus Res.* 2011. Vol. 155. P. 343-348. <https://doi.org/10.1016/j.virus-res.2010.11.005>
34. Meirum R. Bovine leukemia virus-gp51 antigen expression is associated with CD5 and IgM markers on infected lymphocytes / R. Meirum, S. Moss, J. Brenner // *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1997. Vol. 59. P. 113-119. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(97\)00056-1](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(97)00056-1)
35. Mirsky M.L. The prevalence of proviral bovine leukemia virus in peripheral blood mononuclear cells at two subclinical stages of infection / M.L. Mirsky, C.A. Olmstead, Y. Da et al. // *J. Virol.* 1996. Vol. 70. P. 2178-2183. <https://doi.org/10.1128/jvi.70.4.2178-2183.1996>
36. Moratorio G. Adetailed molecular analysis of complete bovine leukemia virus genomes isolated from B-cell lymphosarcomas / G. Moratorio, S. Fischer, S. Bianchi et al. // *Vet. Res.* 2013. Vol. 44. P. 19. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-19>
37. Nakada S. Estimation of economic loss by carcass weight reduction of Japanese dairy cows due to infection with bovine leukemia virus / S. Nakada, Y.

- Fujimoto, J. Kohara et al. // *Prev Vet Med.* 2022. № 198. P. 105528. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105528>
38. Nekouei O. Lifetime effects of infection with bovine leukemia virus on longevity and milk production of dairy cows / O. Nekouei, J. VanLeeuwen, H. Stryhn et al. // *Prev Vet Med.* 2016. Vol. 133. P. 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.09.011>
 39. Ott S.L. Association between bovine-leukosis virus seroprevalence and herd-level productivity on US dairy farms / S.L. Ott, R. Johnson, S.J. Wells // *Prev Vet Med.* 2003. Vol. 61. P. 249-262. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2003.08.003>
 40. Panei C. J. Estimation of bovine leukemia virus (BLV) proviral load harbored by lymphocyte subpopulations in BLV-infected cattle at the subclinical stage of enzootic bovine leucosis using BLV-CoCoMo-qPCR // C.J. Panei, S.N. Takeshima, T. Omori et al. 2013. № 9 (95). <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-95>
 41. Paul P.S. Evidence for the replication of bovine leukemia virus in B lymphocytes / P.S. Paul, K.A. Pomeroy, D.W. Johnson et al. // *American Journal of Veterinary Research.* 1977. Vol. 38. P. 873-876. <https://doi.org/10.2460/ajvr.1977.38.06.873>
 42. Petropavlovskiy M. Comparative evaluation of amino acid composition of colostrum from BLV-infected and seronegative cows / M. Petropavlovskiy, A. Poryvaeva, A. Lysov, N. Dudkina, L. Khalturina // *Reproduction in domestic animals.* 2021. P. 86.
 43. Petropavlovskiy M.V. Detection and immunobiological characterizations of bovine leukemia virus in Russian Federation territory in dependence on geographical variations / M.V. Petropavlovskiy, I.M. Donnik, N.A. Bezborodova, A.S. Krivonogova // *Journal of Integrated OMICS.* 2019. Vol. 9. № 1. P. 23-27. <https://doi.org/10.5584/jiomics.v9i1.255>
 44. Petropavlovskiy M.V. Epizootiological and genetic characterization of the bovine leukemia virus in the Russian Federation-evaluation of bovine leukemia virus in Russia / M. V. Petropavlovskiy, I. Donnik, N. Bezborodova // *Veterinarski Arhiv.* 2019. Vol. 89. № 6. P. 785-798. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.0555>
 45. Petropavlovskiy M.V. Immuno-biological evaluation of individual genetic variants of bovine leukemia virus in the conditions of the Ural region / M. V. Petropavlovskiy, N. A. Vereshchak, N. A. Bezborodova, O. Yu. Oparina // *Digital agriculture - development strategy: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference.* Ekaterinburg, 2019. P. 372-377. <https://doi.org/10.2991/ispc-19.2019.84>
 46. Pluta A. Computational analysis of envelope glycoproteins from diverse geographical isolates of bovine leukemia virus identifies highly conserved peptide

- motifs / A. Pluta, L.M. Albritton, M. Rola-Luszczak et al. // *Retrovirology*. 2018. Vol. 15. <https://doi.org/10.1186/s12977-017-0383-0>
47. Pluta A. Molecular characterization of bovine leukemia virus from Moldovan dairy cattle / A. Pluta, M. Rola-Luszczak, P. Kubis et al. // *J. Arch. Virol.* 2017. Vol. 162. P. 1563-1576. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3241-4>
48. Pluta A Rola-Łuszczak M, Hoffmann FG, Donnik I, Petropavlovskiy M, Kuźmak J. Genetic Variability of Bovine Leukemia Virus: Evidence of Dual Infection, Recombination and Quasi-Species // *Pathogens*. 2024. Vol. 13(2), 178. <https://doi.org/10.3390/pathogens13020178>
49. Polat M. Epidemiology and genetic diversity of bovine leukemia virus / M. Polat, S.N. Takeshima, Y. Aida // *Virol J.* 2017. Vol. 14 (1). P. 209. <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0876-4>
50. Rice N.R. The nucleotide sequence of the env gene and the post-env region of bovine leukemia virus / N.R. Rice, R.M. Stephens, D. Couez et al. // *Virology*. 1984. № 138. P. 82-93. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(84\)90149-1](https://doi.org/10.1016/0042-6822(84)90149-1)
51. Rola-Łuszczak M. The Molecular Characterization of Bovine Leukaemia Virus Isolates from Eastern Europe and Siberia and Its Impact on Phylogeny / M. Rola-Łuszczak, A. Pluta, M. Olech, I. Donnik, M. Petropavlovskiy // *PLoS One*. 2013. Vol. 8. Issue 3. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058705>
52. Ruggiero V.J. Controlling bovine leukemia virus in dairy herds by identifying and removing cows with the highest proviral load and lymphocyte counts / V.J. Ruggiero, B. Norby, O.J. Benitez et al. // *J Dairy Sci.* 2019. № 102 (10). P. 9165-9175. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16186>
53. Saitou N. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees / N. Saitou, M. Nei // *Mol. Biol. Evol.* 1987. Vol. 4. P. 406-425.
54. Sandev N. Influence of enzootic bovine leucosis virus upon the incidence of subclinical mastitis in cows at a different stage of infection / N. Sandev, M. Koleva, R. Binev, D. Ilieva // *Veterinarski Archiv*. 2004. Vol. 76. P. 411-416.
55. Stone D.M. CD4 T lymphocyte activation in BLV-induced persistent B lymphocytosis in cattle / D.M. Stone, L.K. Norton, J.C. Chambers // *Clin. Immunol.* 2000. Vol. 96. P. 280-288. <https://doi.org/10.1006/clim.2000.4900>
56. Stone D.M. Up-regulation of IL-2 receptor alpha and MHC class II expression on lymphocyte subpopulations from bovine leukemia virus infected lymphocytotic cows / D.M. Stone, A.J. Hof, W.C. Davis // *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1995. Vol. 48. P. 65-76. [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(95\)05423-4](https://doi.org/10.1016/0165-2427(95)05423-4)
57. Stott M.L. Integrated bovine leukosis proviral DNA in T helper and T cytotoxic/suppressor lymphocytes / M.L. Stott, M.C. Thurmond, S.J. Dunn // *J. Gen. Virol.* 1991. Vol. 72. P. 307-315. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-2-307>

58. Sultanov A., Rola-Luszczak M., Mamanova S., Rylo A., Osinski Z., Saduakassova M.A., Bashenova E., Kuzmak J. Molecular Characterization of Bovine Leukemia Virus with the Evidence of a New Genotype Circulating in Cattle from Kazakhstan // *Pathogens*. 2022. Vol. 11, 180. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020180>
59. Suzuki A. Phylogenetic Analysis of South African Bovine Leukaemia Virus (BLV) Isolates / A. Suzuki et al. // *Viruses*. 2020. № 12 (8). P. 898. <https://doi.org/10.3390/v12080898>
60. Suzuki S. Expression analysis of Foxp3 in T cells from bovine leukemia virus infected cattle / S. Suzuki, S. Konnai, T. Okagawa // *Microbiol. Immunol.* 2013. Vol. 57. P. 600-604. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12073>
61. Thompson-Crispi K.A. Incidence rates of clinical mastitis among Canadian Holsteins classified as high, average, or low immune responders / K.A. Thompson-Crispi, F. Miglior, B.A. Mallard // *Clin. Vaccine Immunol.* 2013. Vol. 20. P. 106-112. <https://doi.org/10.1128/CVI.00494-12>
62. Trueblood E.S. B-lymphocyte proliferation during bovine leukemia virus-induced persistent lymphocytosis is enhanced by T-lymphocyte - derived interleukin-2 / E.S. Trueblood, W.C. Brown, G.H. Palmer // *J. Virol.* 1998. Vol. 72. P. 3169-3177. <https://doi.org/10.1128/JVI.72.4.3169-3177.1998>
63. Yu C. Genotyping bovine leukemia virus in dairy cattle of Heilongjiang, north-eastern China / C. Yu, X. Wang, Y. Zhou // *BMC Vet. Res.* 2019. Vol. 15. P. 179. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1863-3>
64. Zavorotinskaya T. Suppression of a fusion defect by second site mutations in the ecotropic murine leukemia virus surface protein / T. Zavorotinskaya, L.M. Albritton // *J Virol.* 1999. Vol. 73. P. 5034-5042. <https://doi.org/10.1128/JVI.73.6.5034-5042.1999>
65. Zhao X. Natural genetic variations in bovine leukemia virus envelope gene: possible effects of selection and escape / X. Zhao, G.C. Buehring // *Virology*. 2007. Vol. 366. P. 150-165. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.03.058>

ВКЛАД АВТОРОВ

Петропавловский М.В.: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи, обработка и анализ данных.

Донник И.М.: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи.

Безбородова Н.А.: составление черновика рукописи, проведение лабораторных исследований.

Макутина В.А.: проведение лабораторных исследований.

Исаева А.Г.: обработка и анализ данных.

Лысов А.В.: проведение лабораторных исследований.

Романова А.С.: обработка и анализ данных.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Maxim V. Petropavlovskiy: study conception and design, drafting of the manuscript, data processing and analysis.

Irina M. Donnik: study conception and design, drafting of the manuscript.

Natalia A. Bezborodova: drafting of the manuscript, conducting laboratory tests.

Valeria A. Makutina: conducting laboratory tests.

Albina G. Isaeva: data processing and analysis.

Alexey V. Lysov: conducting laboratory tests.

Alisa S. Romanova: data processing and analysis.

ДАнные ОБ АВТОРАХ

Петропавловский Максим Валерьевич, д.в.н., ведущий научный сотрудник отдела мониторинга и прогнозирования инфекционных болезней *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН)*
ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Российская Федерация
petropavlovsky_m@mail.ru

Донник Ирина Михайловна, д.б.н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник отдела мониторинга и прогнозирования инфекционных болезней *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН)*
ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Российская Федерация
ktqrjp7@yandex.ru

Безбородова Наталья Александровна, к.в.н., старший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский*

*центр Уральского отделения Российской академии наук (ФГБНУ
УрФАНИЦ УрО РАН)
ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Российская Федерация
n-bezborodova@mail.ru*

Макутина Валерия Андреевна, к.б.н., старший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных
*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский
центр Уральского отделения Российской академии наук (ФГБНУ
УрФАНИЦ УрО РАН)
ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Российская Федерация
makutina_v@rambler.ru*

Исаева Альбина Геннадьевна, д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник отдела ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией
*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский
центр Уральского отделения Российской академии наук (ФГБНУ
УрФАНИЦ УрО РАН)
ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Российская Федерация
isaeva.05@bk.ru*

Лысов Алексей Викторович, к.в.н., ведущий научный сотрудник отдела ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией
*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский
центр Уральского отделения Российской академии наук (ФГБНУ
УрФАНИЦ УрО РАН)
ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Российская Федерация*

Романова Алиса Сергеевна, к.т.н., старший научный сотрудник отдела ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией
*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский*

*центр Уральского отделения Российской академии наук (ФГБНУ
УрФАНИЦ УрО РАН)
ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Российская Феде-
рация
Alisic_kolotova@mail.ru*

DATA ABOUT THE AUTHORS

Maxim V. Petropavlovskiy, Dr. of Vet. Sc., Leading Researcher of the Department of Monitoring and Forecasting of Infectious Diseases
*Ural Federal Agrarian Scientific Research Center; Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (FSBSI UrFASRC, UrB of RAS)
112a, Belinski Str., Ekaterinburg, 620142, Russian Federation
petropavlovsky_m@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9892-6092>
SPIN-code: 7603-9476
Scopus Author ID: 57205067665*

Irina M. Donnik, Dr. of Biol. Sc., Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher of the Department of Monitoring and Forecasting of Infectious Diseases
*Ural Federal Agrarian Scientific Research Center; Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (FSBSI UrFASRC, UrB of RAS)
112a, Belinski Str., Ekaterinburg, 620142, Russian Federation
ktqrjp7@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8349-3004>
SPIN-code: 2610-5633
ResearcherID: 313786
Scopus Author ID: 55625475300*

Natalia A. Bezborodova, Cand. Vet. Sc., Senior Researcher at the Department of Genomic Research and Animal Breeding
*Ural Federal Agrarian Scientific Research Center; Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (FSBSI UrFASRC, UrB of RAS)
112a, Belinski Str., Ekaterinburg, 620142, Russian Federation
n-bezborodova@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2793-5001>
SPIN-code: 7012-0999
Scopus Author ID: 57210813542*

Valeria A. Makutina, Cand. Biol. Sc., Senior Researcher at the Department of Genomic Research and Animal Breeding

Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (FSBSI UrFASRC, UrB of RAS)

112a, Belinski Str., Ekaterinburg, 620142, Russian Federation

makutina_v@rambler.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1127-2792>

Albina G. Isaeva, Dr. of Biol. Sc., Asc. Prof., Leading researcher of the Department of Veterinary Laboratory Diagnostics with a testing laboratory

Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (FSBSI UrFASRC, UrB of RAS)

112a, Belinski Str., Ekaterinburg, 620142, Russian Federation

isaeva.05@bk.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8395-1247>

SPIN-code: 7308-9644

Scopus Author ID: 57196947397

Alexey V. Lysov, Cand. Vet. Sc., Leading researcher at the Department of Veterinary and Laboratory Diagnostics with a testing laboratory

Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (FSBSI UrFASRC, UrB of RAS)

112a, Belinski Str., Ekaterinburg, 620142, Russian Federation

boris.wet@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2480-2019>

SPIN-code: 3549-5800

Alisa S. Romanova, Cand. Of Eng. Sc., Senior Researcher at the Department of Veterinary Laboratory Diagnostics with a testing laboratory

Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (FSBSI UrFASRC, UrB of RAS)

112a, Belinski Str., Ekaterinburg, 620142, Russian Federation

Alisic_kolotova@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0189-2963>

SPIN-code: 9488-1815

Поступила 02.04.2024

После рецензирования 20.05.2024

Принята 25.05.2024

Received 02.04.2024

Revised 20.05.2024

Accepted 25.05.2024