

## ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РОССИЙСКИХ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ ЛОШАДЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОПТИМИЗИРОВАННОЙ ДВУХРАУНДОВОЙ ПЦР

Н.Н. ГЕРАСИМОВА, О.Л. КОЛБАСОВА, С.Ж. ЦЫБАНОВ, Д.В. КОЛБАСОВ

Инфекционная анемия лошадей (ИНАН) — болезнь однокопытных, вызываемая вирусом рода *Lentivirus* семейства *Retroviridae*. Заболевание широко распространено, и его эпизоотии зарегистрированы практически на всех континентах земного шара. В Российской Федерации из года в год при плановых исследованиях на присутствие антител к вирусу ИНАН выявляются животные, серопозитивные в реакции диффузионной преципитации (РДП). В настоящее время опасность распространения вируса ИНАН признается во всем мире, а его контролю уделяется большое внимание, в связи с чем проводятся многочисленные исследования по выявлению вируса, определению его молекулярно-генетических характеристик и происхождения. В настоящей работе представлены данные по разработке тест-системы на основе ПЦР, позволяющей не только выявлять геном вируса ИНАН в различных образцах биологического материала, но и проводить дальнейшее секвенирование фрагментов генома этого инфекционного агента. Геном вируса ИНАН состоит из трех основных генов — *gag*, *pol*, *env* (расположены в направлении 5'→3'), из которых наиболее полезным маркером для изучения генетического разнообразия и филогенетических взаимоотношений между различными штаммами вируса ИНАН считается *gag*-ген, необходимый для внутриклеточной сборки и выхода вируса из клетки. С целью проведения молекулярно-генетических исследований нами была оптимизирована двухраундовая ПЦР без этапа обратной транскрипции и рассчитаны специфические олигонуклеотидные праймеры для второго раунда реакции, фланкирующие участок *gag*-гена провирусной ДНК вируса ИНАН размером 1018 п.н. В результате проведенных изысканий также были определены нуклеотидные последовательности и филогенетические отношения ранее выделенного отечественного штамма вируса ИНАН и двух современных изолятов, выявленных на территории нашей страны. Полученные данные позволили отнести штамм 3-К-ВНИИТИБП-ВИЭВ к группе североамериканского происхождения (гомология 98 %), а изоляты Нижний Новгород-2011 и Омск-2012 — к группе европейских (гомология 82-83 %). Таким образом, разработанная нами система идентификации вируса ИНАН с помощью ПЦР и филогенетического анализа позволяет устанавливать принадлежность выделяемых изолятов к определенной геногруппе и, следовательно, предположить их географическое происхождение. Эта информация необходима для определения источника и путей распространения возбудителя с целью прогнозирования эпизоотической ситуации и планирования мер борьбы с болезнью.

**Ключевые слова:** ИНАН, ПЦР, филогенетический анализ.

Инфекционная анемия лошадей (ИНАН) — болезнь однокопытных, которая сопровождается поражением органов кроветворения и проявляется рецидивирующей или постоянной лихорадкой, анемией и нарушением функций сердечно-сосудистой системы (1-4). Этиологический агент ИНАН имеет вирусную природу (Equine infectious anemia virus — EIAV) и относится к роду *Lentivirus* семейства *Retroviridae* (4, 5). Геном вируса ИНАН представлен двумя идентичными молекулами линейной одноцепочечной РНК позитивной полярности (4, 6-8) и состоит из трех основных структурных генов, расположенных последовательно в направлении 5'→3', — *gag* (кодирует вирионные коровые белки, необходим для внутриклеточной сборки и выхода вируса из клетки), *pol* (кодирует полипептиды, обладающие ревертазной, специфической РНК-азной и ДНК-эндонуклеазной активностью) и *env* (кодирует поверхностные вирионные гликопротеины, участвует в формировании оболочки вириона, специфическом узнавании клетки-хозяина и проникновении вируса через ее мембрану) (4, 8, 9). Кроме того, геном вируса ИНАН содержит три дополнительные открытые рамки считывания, с которых экспрессируются небольшие вспомогательные белки, участвующие в регуляции синтеза и процессинге

вирусной РНК, — *tat*, *rev* и *S2*. Вспомогательный белок *S2* — важная детерминанта репликации и патогенных свойств вируса ИНАН *in vivo* (4, 6, 8-10). Нуклеотидная последовательность вирусного генома на обоих концах имеет длинные концевые повторы (LTR), необходимые для встраивания провирусной ДНК (пДНК) в клеточный геном (8, 11).

К вирусу ИНАН восприимчивы представители семейства лошадиных (*Equidae*) — лошади, пони, ослы, мулы и лошаки (1, 2, 12-15). Заболевание инфекционной анемией негативно сказывается на промышленном разведении лошадей. В числе 11 инфекций однокопытных ИНАН входит в список World Organization for Animal Health (Международное эпизоотическое бюро, Париж, OIE — МЭБ), включающий заболевания, о вспышках которых страны обязаны информировать МЭБ (8, 16).

В связи с регистрацией болезни практически на всех континентах (17, 18-20) большое внимание уделяется проблеме контроля за распространением вируса ИНАН. Проводимый в разных странах филогенетический анализ местных изолятов и штаммов позволяет предположить, что существуют генетические подтипы вируса ИНАН, циркулирующие в настоящее время в мире (8, 14, 17).

В Российской Федерации из года в год при плановых исследованиях на присутствие антител к вирусу ИНАН выявляются животные, серопозитивные в реакции диффузионной преципитации (РДП). Так, с 2011 по 2015 год сероположительные лошади обнаружены более чем в 25 регионах России (21-23).

Несмотря на то, что случаи выявления положительно реагирующих в РДП на ИНАН животных в Российской Федерации регистрируются регулярно, в нашей стране единственным известным вариантом вируса ИНАН остается штамм 3, выделенный в Запорожье в 1967 году К.П. Юровым. Позднее этот штамм был адаптирован к культурам клеток и использован в качестве культурального под названием 3-К-ВНИИТИБП-ВИЭВ (коллекция Всероссийского научно-исследовательского и технологического института биологической промышленности, Московская обл.).

Важно отметить, что молекулярная эпизоотология вируса ИНАН в России до настоящего времени не исследована. В то же время молекулярно-генетическая оценка разнообразия изолятов вируса ИНАН и их филогенетический анализ необходимы для понимания особенностей появления и циркуляции этого вируса в нашей стране, а отсутствие таких данных служит фактором, осложняющим эпизоотическую ситуацию по ИНАН. Кроме того, изучение разнообразия российских изолятов вируса ИНАН существенно расширяет представления о генетической структуре его мировой популяции.

Нашей целью стала разработка тест-системы на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР), позволяющей выявлять вирус ИНАН, проводить секвенирование и анализ фрагментов его генома, а также исследовать молекулярно-генетические характеристики и филогенетические связи между известными и вновь выявляемыми изолятами этого вируса, циркулирующими на территории России.

*Методика.* Изучали единственный известный отечественный штамм вируса ИНАН 3-К-ВНИИТИБП-ВИЭВ (Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, Московская обл.) и два изолята, выявленные в мониторинговых исследованиях на территории РФ, — Нижний Новгород-2011 и Омск-2012 (коллекция Всероссийского НИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии).

Множественное выравнивание и расчет праймеров для секвенирования были выполнены с помощью пакетов программ BioEdit v. 7.0

(<http://www.mbio.ncsu.edu>) и Oligo v. 6.0 («Molecular Biology Insights, Inc.», США), используя нуклеотидные последовательности генома разных штаммов и изолятов вируса ИНАН, опубликованные в базе данных GenBank (the National Center for Biotechnology Information — NCBI).

Нуклеиновые кислоты выделяли из анализируемого биологического материала в соответствии с методикой, основанной на применении коммерческого реагента Trizol LS («Invitrogen», США) согласно рекомендациям производителя.

С целью накопления специфических продуктов для последующего секвенирования проводили двухраундовую (гнездовую) ПЦР без этапа обратной транскрипции с праймерами, описанными S. Саромассио с соавт. (13) (для первого раунда ПЦР), и оригинальными праймерами (для второго раунда ПЦР). Постановку гнездового варианта ПЦР и оптимизацию температурных режимов реакций осуществляли в термоциклере Gradient Palm Cycler («Corbett Research», Австралия).

Продукты реакции разделяли методом электрофореза в 1,5 % агарозном геле, содержащем 0,001 % бромистого этидия. Специфические продукты амплификации экстрагировали из агарозного геля, используя коммерческие наборы AxyPrep DNA Gel Extraction Kit («Axygen Scientific, Inc.», США) и QIAquick Gel Extraction Kit («Qiagen N.V.», Германия).

Секвенирование амплифицированных фрагментов ДНК по Сэнгеру выполняли в автоматическом анализаторе Applied Biosystems Genetic Analyzer 3130 («Applied Biosystems», США) с использованием набора реактивов Big Dye v. 3.1. Terminator и 5×Sequencing buffer («Applied Biosystems», США) в соответствии с прилагаемой инструкцией.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью алгоритма Neighbor-Joining с применением численного ресамплинга, или методов генерации повторных выборок, в программе MEGA v. 5.0 (24).

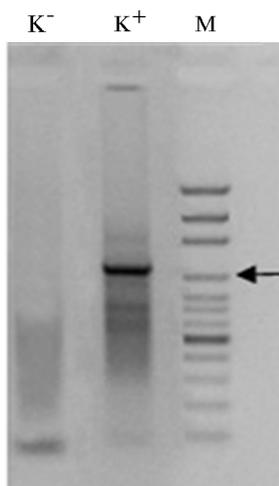
*Результаты.* Наиболее информативным маркером для изучения патогенности и генетического разнообразия между различными штаммами вируса ИНАН считается *gag*-ген, кодирующий основные матричные и капсидные белки, в связи с чем он часто используется в молекулярно-генетических исследованиях (13, 14, 17). Поэтому для оценки филогенетического родства между выявленными на территории России и зарубежными штаммами и изолятами вируса ИНАН, геномы которых представлены в GenBank, мы определили нуклеотидную последовательность именно этого гена.

Для амплификации фрагмента *gag*-гена были использованы праймеры, описанные S. Саромассио с соавт. (13). Эти праймеры (EIAV 1B и EIAV 5) фланкируют область вирусного генома размером 2233 п.н., включающую участок гена *tat* от экзона 1, полный *gag*-ген и начало нуклеотидной последовательности *pol*-гена. Постановку ПЦР осуществляли при градиенте температур 50–59 °С; положительным контролем служила нуклеиновая кислота штамма 3-К-ВНИИТИБП-ВИЭВ. Однако анализ электрофореграмм полученных амплифицированных фрагментов показал, что используемые праймеры работают только при очень низкой температуре отжига (50–54 °С) и дают несколько неспецифических продуктов.

Чтобы увеличить выход специфического продукта, мы рассчитали олигонуклеотидные последовательности праймеров для второго раунда гнездовой ПЦР. Эти праймеры (EA Fw/N2 и EA Rev/N2) фланкируют участок *gag*-гена размером 1018 п.н. внутри фрагмента, который, в свою очередь, фланкируют праймеры EIAV 1B и EIAV 5. Для постановки ПЦР с рассчитанными праймерами нами были подобраны условия: состав смеси, кон-

центрация праймеров, dNTPs, количество вносимой полимеразы и температурно-временные режимы.

В пределах от 51 до 60 °С температура 56 °С была оптимальной для гибридизации EA Fw/N2 и EA Rev/N2 (рис. 1). Смесь для амплификации включала праймеры (по 10 пмоль каждого: EIAV 1B и EIAV 5 — для первого раунда, EA Fw/N2 и EA Rev/N2 — для второго) — 2,0 мкл; dNTPs («Fermentas», Латвия) (10 mM) — 1 мкл; 5× буфер для ПЦР из набора реагентов АмплиСенс Blue (Россия) — 5 мкл; Taq ДНК-полимеразу («Евроген», Россия) (2,5 ед.) — 0,4 мкл; исследуемый образец нуклеиновой кислоты — 8 мкл; деионизированная вода — до 25 мкл. В гнездовой ПЦР первый раунд амплификации (с праймерами EIAV 1B и EIAV 5) проводили при 52 °С, второй (с праймерами EA Fw/N2 и EA Rev/N2) — при 56 °С. Праймеры EA Fw/N2 и EA Rev/N2 также использовались для секвенирования амплифицированных фрагментов ДНК.



**Рис. 1.** Электрофореграмма продуктов амплификации участка *gag*-гена (1018 п.н.) вируса инфекционной анемии лошадей во втором раунде ПЦР с рассчитанными олигонуклеотидными праймерами: K<sup>-</sup> — отрицательный контроль, K<sup>+</sup> — штамм 3-К-ВНИИТИБП-ВИЭВ; М — маркер молекулярных масс 100 bp Ladder DNA Marker («Ахуген», США). Стрелкой отмечен фрагмент 1000 п.н.

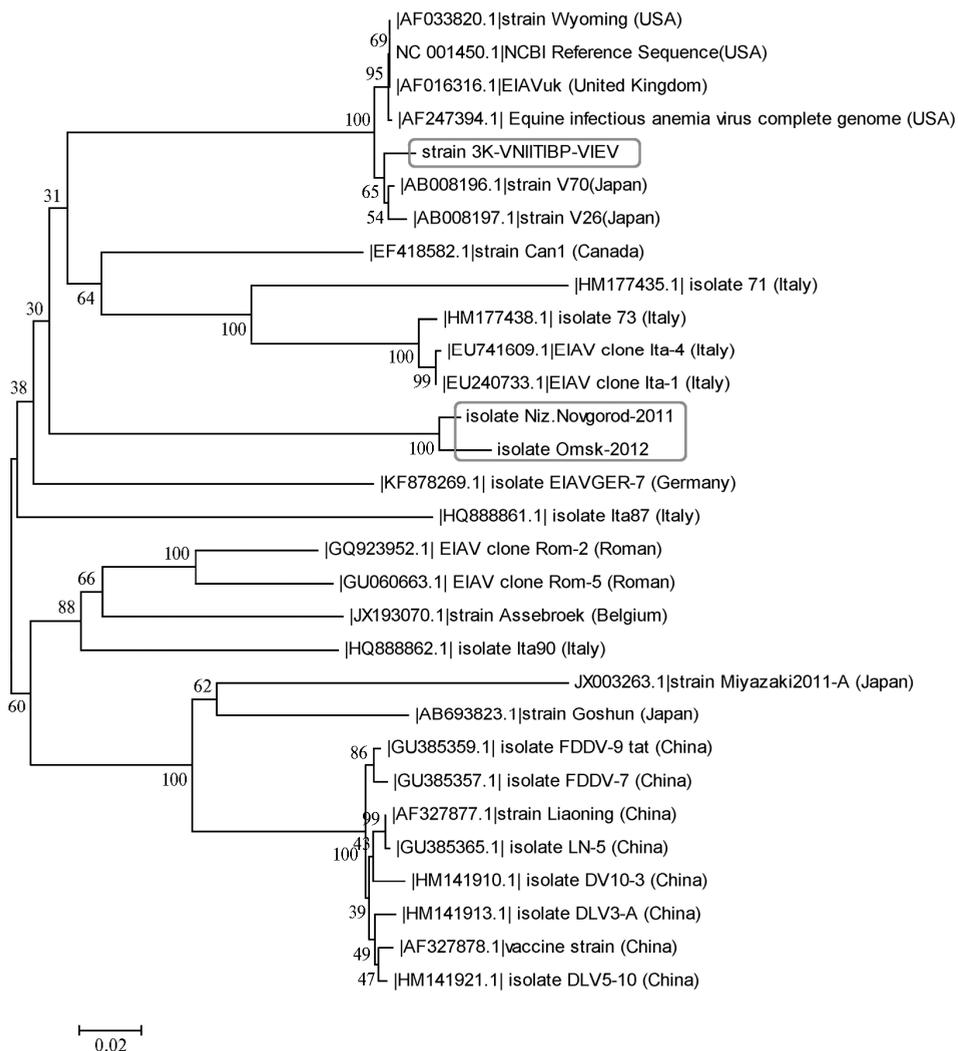
Оптимизированный протокол двухраундовой ПЦР позволил перейти к основной задаче работы — впервые определить молекулярно-генетические характеристики штамма 3-К-ВНИИТИБП-ВИЭВ и двух изолятов вируса ИНАН (Нижний Новгород-2011 и Омск-2012), выявленных при вспышках болезни в Российской Федерации (25), на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента *gag*-гена (участок размером 1018 п.н.).

При сравнении участков геномов отечественного штамма и изолятов с таковыми у референтных зарубежных штаммов из GenBank с помощью программы BioEdit v. 7.0 были выявлены многочисленные нуклеотидные замены. На основании множественного выравнивания и анализа полученных нами и размещенных в GenBank нуклеотидных последовательностей генома вируса ИНАН с помощью программы MEGA v. 5.0 была построена дендрограмма, отражающая филогенетические отношения изолятов и штаммов, взятых для сравнения (рис. 2).

Как видно из дендрограммы, штамм 3-К-ВНИИТИБП-ВИЭВ входит в один кластер со штаммами V70 и V26 (степень нуклеотидной идентичности — 98 %). По данным литературы, штаммы V70 и V26, выделенные в Японии, получены при пассировании североамериканского штамма EIAV<sub>Wyoming</sub> (Вайоминг) на естественно восприимчивых животных и входят с ним в одну генетическую группу (8, 9) с уровнем внутригрупповых различий, не превышающим 5 %. Гомология нуклеотидной последовательности участка *gag*-гена штаммов 3-К-ВНИИТИБП-ВИЭВ и EIAV<sub>Wyoming</sub> также составила 98 %.

Изоляты, выявленные на территории России в период с 2012 по 2014 год (Нижний Новгород-2011 и Омск-2012), оказались филогенетически наиболее близки к группе европейского происхождения. Самую высокую гомологию по нуклеотидным последовательностям участка *gag*-гена (1018 п.н.) отмечали между изученными российскими изолятами и

образцами из Германии (83 % для изолята EIAVGER-7) и Италии (82 % для изолята Ita87).



**Рис. 2.** Дендрограмма, отражающая филогенетические отношения между различными штаммами и изолятами вируса инфекционной анемии лошадей. Построена на основе анализа нуклеотидных последовательностей участков *gag*-гена (1018 п.н.) с использованием алгоритма Neighbor-Joining в программе MEGA v. 5.0.

Нуклеотидные последовательности участка *gag*-гена штамма 3-К-ВНИИТиБП-ВИЭВ и изолята Нижний Новгород-2011 вируса ИНАН были депонированы в международный банк данных GenBank (№ KM202106 и (№ KM248275) и в настоящее время доступны для других исследователей.

Таким образом, рассчитаны оригинальные праймеры и оптимизированы условия постановки гнездовой ПЦР, что позволило амплифицировать специфический участок (1018 п.н.) генома вируса инфекционной анемии лошадей в области *gag*-гена, широко используемого для оценки генетического разнообразия и родства изолятов. При этом нами впервые определен фрагмент нуклеотидных последовательностей геномов отечественного штамма вируса ИНАН и двух современных изолятов, обнаруженных на территории России. Данные выполненного секвенирования и филогенетического анализа позволили отнести штамм 3-К-ВНИИТиБП-

ВИЭВ к группе североамериканского происхождения. Кроме того, нам удалось установить наибольшую гомологию изолятов Нижний Новгород-2011 и Омск-2012 с изолятами европейского происхождения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Архипов Н.И., Бакулов И.А., Соковых Л.И. Медленные инфекции животных. М., 1987.
2. Юров К.П., Заблоцкий В.Т., Косминков Н.Е. Вирусные болезни лошадей. М., 2010.
3. Nagarajan M.M., Simard C. Detection of horses infected naturally with equine infectious anemia virus by nested polymerase chain reaction. J. Virol. Methods, 2001, 94: 97-109 (doi: 10.1016/S0166-0934(01)00283-X).
4. Leroux C., Cadore J.L., Montelaro R.C. Equine Infectious Anemia Virus (EIAV): what has HIV's country cousin got to tell us? Vet. Res., 2004, 35(4): 485-512 (doi: 10.1051/vetres:2004020).
5. Sellon D.C., Fuller F.J., McGuire T.C. The immunopathogenesis of equine infectious anemia virus. Virus Res., 1994, 32(2): 111-138 (doi: 10.1016/0168-1702(94)90038-8).
6. Инфекционная патология животных (в 2 т.) /Под ред. А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьева, Е.А. Непоклонова, Е.С. Воронина. М., 2006.
7. Сергеев В.А., Непоклонов Е.А., Алипер Т.И. Вирусы и вирусные вакцины. М., 2007.
8. Cook R.F., Leroux C., Issel C.J. Equine infectious anemia and equine infectious anemia virus in 2013: a review. Vet. Microbiol., 2013, 167(1-2): 181-204 (doi: 10.1016/j.vetmic.2013.09.031).
9. Dong J.B., Zhu W., Cook F.R., Goto Y., Horii Y., Haga T. Identification of a novel equine infectious anemia virus field strain isolated from feral horses in southern Japan. J. Gen. Virol., 2013, 94: 360-365 (doi: 10.1099/vir.0.047498-0).
10. Fagerness A.J., Flaherty M.T., Perry S.T., Jia B., Payne S.L., Fuller F.J. The S2 accessory gene of equine infectious anemia virus is essential for expression of disease in ponies. Virology, 2006, 349(1): 220-230 (doi: 10.1016/j.virol.2005.12.041).
11. Payne S.L., La Celle K., Pei X.F., Qi X.M., Shao H., Steagall W.K., Perry S., Fuller F. Long terminal repeat sequences of equine infectious anaemia virus are a major determinant of cell tropism. J. Gen. Virol., 1999, 80: 755-759 (doi: 10.1099/0022-1317-80-3-755).
12. Ataseven V.S., Arslan H.H. Equine infectious anemia in mules, donkeys, and horses: Epidemiologic studies in the different geographic regions of Turkey. Journal of Equine Veterinary Science, 2005, 25(10): 439-441 (doi: 10.1016/j.jevs.2005.09.007).
13. Capomaccio S., Willand Z.A., Cook S.J., Issel C.J., Santos E.M., Reis J.K., Cook R.F. Detection, molecular characterization and phylogenetic analysis of full-length equine infectious anemia (EIAV) *gag* genes isolated from Shackelford Banks wild horses. Vet. Microbiol., 2012, 157: 320-332 (doi: 10.1016/j.vetmic.2012.01.015).
14. Cappelli K., Capomaccio S., Cook F.R., Felicetti M., Marenzoni M.L., Coppola G., Verini-Supplizi A., Coletti M., Passamonti F. Molecular detection, epidemiology, and genetic characterization of novel European field isolates of equine infectious anemia virus. J. Clin. Microbiol., 2011, 4(1): 27-33 (doi: 10.1128/JCM.01311-10).
15. Cook S.J., Cook R.F., Montelaro R.C., Issel C.J. Differential responses of *Equus caballus* and *Equus asinus* to infection with two pathogenic strains of equine infectious anemia virus. Vet. Microbiol., 2001, 79(2): 93-109 (doi: 10.1016/S0378-1135(00)00348-5).
16. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Chapter 2. 5. 6. Equine infectious anaemia, 2013 [Электронный ресурс] (<http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online>).
17. Capomaccio S., Cappelli K., Cook R.F., Nardi F., Gifford R., Marenzoni M.L., Passamonti F. Geographic structuring of global EIAV isolates: a single origin for New World strains? Virus Res., 2012, 163(2): 656-659 (doi: 10.1016/j.virusres.2011.11.011).
18. List of countries by disease situation, 2015 [Электронный ресурс] ([http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statuslist](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statuslist)).
19. Bicout D.J., Carvalho R., Chalvet-Monfray K., Sabatier P. Distribution of equine infectious anemia in horses in the north of Minas Gerais State, Brazil. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 2006, 18(5): 479-482 (doi: 10.1177/104063870601800511).
20. Pagamjav O., Kobayashi K., Murakami H., Tabata Y., Miura Y., Boldbaatar B., Sentsui H. Serological survey of equine viral diseases in Mongolia. Microbiol. Immunol., 2011, 55(4): 289-292 (doi: 10.1111/j.1348-0421.2011.00312.x).
21. В Омской области среди лошадей началась инфекционная анемия. Россельхознадзор, 2015 [Электронный ресурс] (<http://www.fsvps.ru/fsvps/press/4175.html>).
22. Усикова Т.Н., Сергеева М.И. Инфекционная анемия лошадей в Республике Ха-

- касия. В сб.: Проблемы развития АПК Саяно-Алтая. Абакан, 2008: 101-102.
23. Detailed country(ies) disease incidence, 2015 [Электронный ресурс] ([http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail)).
  24. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.*, 2011, 28(3): 2731-2739 (doi: 10.1093/molbev/msr121).
  25. Герасимова Н.Н., Колбасова О.Л., Янжиева Д.В., Конвисарева Т.С., Еремец В.И. Использование серологических и молекулярно-генетических методов при исследовании на ИНАН проб от однокопытных животных Российской Федерации. В сб.: Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК. Щелково, 2014: 96-100.

ФГБНУ Всероссийский НИИ ветеринарной  
вирусологии и микробиологии,  
601120 Россия, Владимирская обл., Петушинский р-н, г. Покров,  
e-mail: gerasimova-nadya-88@yandex.ru

Поступила в редакцию  
1 сентября 2015 года

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2015, V. 50, № 6, pp. 803-809

## PHYLOGENETIC ANALYSIS OF RUSSIAN EIAV ISOLATES USING AN OPTIMIZED NESTED PCR

*N.N. Gerasimova, O.L. Kolbasova, S.Zh. Tsybanov, D.V. Kolbasov*

All-Russian Institute of Veterinary Virology and Microbiology, Federal Agency of Scientific Organizations, Pskov, Petushinskii Region, Vladimir Province, 601120 Russia, e-mail gerasimova-nadya-88@yandex.ru

Received September 1, 2015

doi: 10.15389/agrobiol.2015.6.803eng

### Abstract

Equine infectious anemia (EIA) is a viral disease which affects all members of Equine species and is caused by a virus belonging to the genus *Lentivirus* in the family *Retroviridae*. This disease has a worldwide distribution, and its epizooty is registered in all continents. AGID positively reacting animals are revealed at planned serological studies in the Russian Federation from year to year. At the moment, a lot of attention is paid to control of the EIA virus prevalence, therefore, all over the world there are numerous studies to identify the virus and determine its molecular and genetic characteristics and origin. This paper presents data on the development of test systems based on PCR, which allows not only to identify the EIA viral genome in various samples of biological material, but also to carry out further sequencing the genome fragments of different EIA strains and isolates. EIA virus genome consists of three major genes, *gag*, *pol*, *env* (5'→3'). And the most useful marker for studying genetic diversity between different EIAV strains is a *gag*-gene necessary for intracellular virus assembly and release from cells. For carrying out the molecular genetic studies, we optimized nested PCR without reverse transcription and designed specific oligonucleotide primers for the second round of the reaction which flanking 1018 bp of proviral DNA of *gag*-gene. In the research we also determined the nucleotide sequence and phylogenetic relationships between previously isolated Russian EIAV strain and two modern isolates revealed in Russia. The findings allowed assigning 3-K-VNIITIBP-VIEV EIAV strain to group of North American origin with homology of 98 %. Isolates Nizhniy Novgorod-2011 and Omsk-2012 were classified as isolates of European origin with 82-83 % homology. Thus, application of PCR and a phylogenetic analysis allows to establish the belonging of new virus isolates to a certain genogroups and to assume their geographical origin. This information is necessary to determine the source and ways of distribution of the pathogen for the purpose to predict future epidemic situation and planning measures against the disease.

Keywords: EIAV, PCR, phylogenetic analysis.

---

### Книги издательства «Академия»:

Никольский В.И. Генетика. 2 изд., перераб. и доп. М.: изд-во «Академия», 2014, 256 с.

Рассмотрены главнейшие научные открытия в биохимической и молекулярной генетике, приведшие к современным представлениям о сущности генетической информации и веществе наследственности, а также о некоторых механизмах регуляции работы генома в ходе индивидуального развития, описаны принципы некоторых генно-инженерных методов, которые использовались для решения практических задач. Книга содержит разработки ряда практических занятий по молекулярной генетике, словарь генетических терминов.