ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КАЗАНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ ИМЕНИ Н.Э. БАУМАНА

На правах рукописи

Гильманов Хамид Халимович

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПО ГЕНАМ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИМ УСТОЙЧИВОСТЬ К ЛЕЙКОЗУ, И ГЕНОИДЕНТИФИКАЦИЯ ЕГО ЭТИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТА

06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных
06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор
Ахметов Т.М.
Научный консультант:
доктор биологических наук, профессор РАН
Вафин Р.Р.

Казань – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

	ВВЕДЕНИЕ	4
1	**ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**	12
1.1	Главный комплекс гистосовместимости	12
1.2	Система BoLA – главный комплекс гистосовместимости крупного рогатого скота	14
1.3	Ген *BoLA-DRB3*	15
1.4	Ассоциация гена *BoLA-DRB3* с устойчивостью и чувствительностью к лейкозу крупного рогатого скота	17
1.5	Ассоциация гена *BoLA-DRB3* с признаками молочной продуктивности крупного рогатого скота	18
1.6	Гены цитокиновой сети и индуцибельной синтазы оксида азота	19
1.7	Лейкоз крупного рогатого скота	21
1.8	Вирус бычьего лейкоза	23
1.9	Геномная организация вируса бычьего лейкоза	24
1.10	Методы диагностики лейкоза крупного рогатого скота	26
2	**ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**	33
2.1	**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**	33
2.2	**РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**	42
2.2.1	Оценка аллельного полиморфизма гена *iNOS* у исследуемой выборки животных на основе разрабатываемого способа проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 анализируемого гена	42
2.2.2	Изучение ассоциативной связи генотипов полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков	45
2.2.3	Оптимизация условий проведения ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus*, пригодной для дальнейшей	47

процедуры типирования методом секвенирования (SBT)

2.2.4 Полиморфизм гена *BoLA-DRB3* и генетический статус выборки быков-производителей по отношению к лейкозу крупного рогатого скота 50

2.2.5 Изучение ассоциативной связи групп генотипов *BoLA-DRB3* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков 64

2.2.6 Эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в Республике Татарстан 68

2.2.6.1 Сводная информация по серологическим и гематологическим исследованиям крупного рогатого скота на лейкоз за 2013-2017 гг. 68

2.2.6.2 Степень инфицированности поголовья крупного рогатого скота вирусом бычьего лейкоза в Республике Татарстан за 2013-2017 гг. 68

2.2.7 Генотипическая принадлежность изолятов вируса бычьего лейкоза, циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан 74

2.2.8 Типизация изолятов ВБЛ с расшифрованными нуклеотидными последовательностями локуса *env*-гена в зависимости от выбранной стратегии геноидентификации возбудителя 77

2.2.9 Совершенствование стратегии ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ, согласуемой с филогенетической классификацией возбудителя 81

3 **ЗАКЛЮЧЕНИЕ** 92

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ 106

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ 107

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 110

ПРИЛОЖЕНИЯ 133

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Одной из приоритетных задач в молочном скотоводстве нашей страны является повышение экономической эффективности отрасли. При этом повышенная молочная продуктивность коров, как правило, сопряжена со снижением устойчивости к различным заболеваниям крупного рогатого скота, что негативно сказывается на процессе производства из-за увеличения стоимости выходной продукции [24, 126], выбраковки животных с клиническими признаками заболевания, а также уменьшения среднего уровня молочной продуктивности по стаду [109].

В селекционно-племенной работе для формирования популяций высокопродуктивных молочных стад ведется скрининг по различным вариантам генов хозяйственно-значимых признаков [62], в т.ч. определяющих устойчивость к различным заболеваниям, включая лейкоз крупного рогатого скота, этиологическим агентом которого является вирус бычьего лейкоза, циркулирующий на территории и Российской Федерации [10].

Поэтому в системе противолейкозных мероприятий, наряду с применением методов ранней диагностики вируса бычьего лейкоза [34], особого внимания заслуживает маркер-ориентированная селекция на устойчивость к лейкозу крупного рогатого скота [64].

Важную роль в резистентности к вирусу бычьего лейкоза играет главный комплекс гистосовместимости (сокр. ГКГ, англ. *MHC, Major Histocompatibility Complex*) [108], представленный группой генов, ключевым из которых является *BoLA-DRB3*, ассоциированный с развитием иммунного ответа организма на вирусную инфекцию [121].

Высокий полиморфизм *BoLA-DRB3* [180], чьи аллели связаны с устойчивостью или восприимчивостью к лейкозу крупного рогатого скота [59, 72] позволяет рассматривать анализируемый ген в качестве молекулярного маркера, используемого в селекционно-генетических исследованиях [30].

В качестве потенциального ДНК-маркера резистентности крупного рогатого скота к лейкозу рассматривается и индуцибельная синтаза оксида азота (*iNOS*),

чей аллель *A* и гомозиготный вариант *AA* полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* ассоциирован с устойчивостью, а аллель *B* и генотип *BB* сопряжен с восприимчивостью к инфицированию вирусом бычьего лейкоза [67].

Данное направление исследования является актуальным, в том числе в контексте влияния генотипов по генам *BoLA-DRB3* [22, 33, 53, 60] и *iNOS* на показатели молочной продуктивности крупного рогатого скота, до настоящего времени до конца не изученные.

Молекулярно-генетические методы исследования позволяют оценить генетическое многообразие вируса бычьего лейкоза [104], и являются наиболее информативными подходами к его геноидентификации, как при использовании филогенетического анализа секвенируемых нуклеотидных последовательностей ДНК провируса, так и ПЦР-ПДРФ-анализа в соответствии с филогенетической классификацией возбудителя [186].

Степень разработанности темы. Изучение гена *iNOS Bos taurus* с описанием его гаплотипов и возможности использования в качестве SNP маркеров для идентификации крупного рогатого скота отражено в работе Heaton M.P. et al. (2002) [122]. В работе Чичининой С.В. (2005) [67] осуществлена постановка метода генотипирования маркера AH13-1 гена *iNOS* с использованием локус-специфичной и аллель-специфичной ПЦР с последующей оценкой распределения частот встречаемости аллелей и генотипов этого полиморфизма в изучаемых группах животных в контексте генетической устойчивости и чувствительности к лейкозу крупного рогатого скота. При этом ассоциативная связь генотипов полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* крупного рогатого скота с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности не изучена.

BoLA-типирование методом секвенирование (*SBT, Sequence Based Typing*), как наиболее информативный подход к генотипированию крупного рогатого скота по гену *BoLA-DRB3* впервые отражен в исследовании Miltiadou D. et al. (2003) [156] по расшифровке всего экзона 2 *DRB3*, предварительно амплифицированного в двухраундной ПЦР (nested PCR). В последующем, Baxter

R. et al. (2008) [83] оптимизировали протокол проведения PCR-SBT до уровня проведения однораундной ПЦР с применением набора праймеров DRB3FRW и DRB3REV, фланкирующих анализируемый экзон 2 *DRB3*. Позже, Takeshima S.N. et al. (2011) [180], комбинацией двух общеизвестных способов предложил усовершенствованную технику PCR-SBT для *BoLA*-типирования, где праймеры DRB3FRW и DRB3REV, инициирующую амплификацию локуса *BoLA-DRB3*-гена длиной 319 bp, также используются в качестве сиквенсных при расшифровке анализируемой нуклеотидной последовательности каппилярным секвенатором для последующей оценки аллельного полиморфизма анализируемого гена и установления генотипической структуры исследуемой популяции.

Ассоциативная связь групп генотипов *BoLA-DRB3* крупного рогатого скота с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности отражена в трудах Ковалюк Н.В. и др. (2010) [33], Гладырь Е.А. и др. (2012) [21] и Рузиной М.Н. (2012) [53].

Современная филогенетическая классификация ВБЛ регламентирует наличие десяти генотипов, первые семь из которых впервые описаны аргентинскими учеными в 2009 г. [169], восьмой генотип – исследователями из России [9, 68, 69], Хорватии [82] и коллаборацией европейских ученых [170] в 2011-2013 гг., девятый генотип – группой японских, чилийских и аргентинских ученых в 2016 г. [165], и десятый генотип – коллективом исследователей из Южной Кореи и Тайланда [139], в том же году.

Цель и задачи исследований. Цель настоящей работы – оценка полиморфизма генов *iNOS* и *BoLA-DRB3* в их ассоциативной связи с хозяйственно-полезными признаками в контексте научно-методических подходов к генотипированию крупного рогатого скота по аллельным вариантам генов, определяющих устойчивость и чувствительность к лейкозу, а также геноидентификации его этиологического агента – вируса бычьего лейкоза.

В соответствии с целью работы были поставлены следующие задачи:

– оценить аллельный полиморфизм гена *iNOS* у исследуемой выборки животных на основе разрабатываемого способа проведения ПЦР-ПДРФ для

генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 анализируемого гена;

– изучить ассоциативную связь генотипов полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков;

– оптимизировать условия проведения ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus*, пригодной для дальнейшей процедуры типирования методом секвенирования (SBT);

– оценить аллельный полиморфизм гена *BoLA-DRB3* в исследуемой выборке быков-производителей с помощью *BoLA*-типирования методом секвенирования (SBT) с установлением генотипической структуры анализируемой популяции животных в контексте генетической устойчивости и чувствительности к лейкозу крупного рогатого скота;

– изучить ассоциативную связь групп генотипов *BoLA-DRB3* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков;

– проанализировать эпизоотическую ситуацию по лейкозу крупного рогатого скота в Республике Татарстан;

– установить генотипическую принадлежность изолятов вируса бычьего лейкоза, циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан;

– провести типизацию изолятов ВБЛ с расшифрованными нуклеотидными последовательностями фрагмента *env*-гена в зависимости от выбранной стратегии геноидентификации возбудителя;

– усовершенствовать стратегию ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ, согласуемую с современной филогенетической классификацией изучаемого возбудителя.

Научная новизна работы. Разработан способ проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 анализируемого гена, а также оптимизированы условия проведения ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus* до уровня, пригодного для дальнейшей процедуры типирования методом

секвенирования (SBT). Оценен аллельный полиморфизм генов *iNOS* и *BoLA-DRB3* и установлена генотипическая структура анализируемой популяции животных в контексте генетической устойчивости и чувствительности к лейкозу крупного рогатого скота. Изучена ассоциативная связь генотипов полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* и групп генотипов *BoLA-DRB3* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков. Установлена генотипическая принадлежность изолятов вируса бычьего лейкоза, циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан, в т.ч. на основе усовершенствованной стратегии ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ, согласуемой с современной филогенетической классификацией изучаемого возбудителя.

Теоретическая и практическая значимость работы. Основные положения и выводы научно-квалификационной работы пополняют теоретические данные относительно маркер-ориентированной селекции крупного рогатого скота на устойчивость к лейкозу и геноидентификации его этиологического агента – вируса бычьего лейкоза. Предложенные научно-методические подходы к генотипированию крупного рогатого скота по генам *iNOS* и *BoLA-DRB3*, а также геноидентификации вируса бычьего лейкоза будут внедрены в систему скрининговых исследований поголовья по ДНК-маркерам, определяющим генетическую резистентность и восприимчивость к лейкозу, а также в систему молекулярного мониторинга инфицированности стад генотипами ВБЛ. Изученная ассоциативная связь генотипов полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* и групп генотипов *BoLA-DRB3* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков будет учитываться в селекционно-племенной работе при воспроизводстве молочного стада с генетической устойчивостью к лейкозу крупного рогатого скота.

Методология и методы исследований. При выполнении научно-квалификационной работы использован комплекс общенаучных и специальных методов исследований. Примененные общенаучные методы включали в себя теоретическую (аналогия, синтез, индукция, дедукция) и практическую

(наблюдение, сравнение, моделирование) составляющую. В арсенал специальных методов входили зоотехнические, эпизоотологические, молекулярно-генетические методы исследований с применением математических и статистических методов при расчёте количественных показателей, что в совокупности обеспечило получение объективных результатов.

Основные положения, выносимые на защиту:

– Апробацией разработанного способа проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* обеспечена корректная процедура оценки его аллельного полиморфизма и определения генотипической принадлежности исследуемой выборки быков-производителей.

– Изучением ассоциативной связи генотипов полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков выявлена взаимосвязь повышенной молочной продуктивности с генетической восприимчивостью к инфицированию вирусом бычьего лейкоза и заболеванию лейкозом крупного рогатого скота.

– Апробацией оптимизированных условий проведения ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus*, пригодной для дальнейшей процедуры типирования методом секвенирования (SBT), обеспечена корректная процедура оценки его аллельного полиморфизма и установления генотипической структуры анализируемой популяции животных в контексте генетической устойчивости и чувствительности к лейкозу крупного рогатого скота.

– Изучением ассоциативной связи групп генотипов *BoLA-DRB3* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков наблюдалась взаимосвязь сниженной молочной продуктивности с генетической резистентностью к инфицированию вирусом бычьего лейкоза и заболеванию лейкозом крупного рогатого скота, а также положительная корреляция между повышенной молочной продуктивностью и генетической предрасположенностью к повышенным объемам удоев.

– Установлением генотипической принадлежности изолятов ВБЛ, циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан, с использованием ПЦР-ПДРФ и филогенетического анализа секвенируемых последовательностей фрагмента *env*-гена возбудителя констатируется факт циркуляции в исследуемом ареале четырех из десяти открытых генотипов ВБЛ – представителей 1-го, 4-го, 7-го и 8-го генотипов, соответственно.

– Типизацией 505 изолятов ВБЛ с расшифрованными нуклеотидными последовательностями фрагмента *env*-гена в зависимости от выбранной стратегии геноидентификации и последующей оценкой степени согласованности генотипических подходов подтверждена несогласованность ряда использованных ранее стратегий ПЦР-ПДРФ-типизации с нынешним подходом в оценке его генотипического многообразия филогенетическим анализом.

– Усовершенствованной стратегией ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ, согласуемой с его филогенетической классификацией идентифицируются все десять открытых на сегодняшний день генотипов изучаемого вирусного патогена диагностически значимой интерпретацией генерируемых 57 генотип-ассоциированных комбинаций ПЦР-ПДРФ-профилей.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность исследований подтверждена использованием комплекса методов и программ, а также выраженной согласованностью полученных результатов и выводов.

Основные положения диссертации доложены, обсуждены и одобрены: на ежегодных отчётах кафедры технологии животноводства ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» (г. Казань, 2016-2018 гг.); Международной научно-практической конференции «Наука сегодня: глобальные вызовы и механизмы развития» (г. Вологда, 2017 г.); Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (г. Санкт-Петербург, 2016-2017 гг.); Международной научно-практической конференции «Вопросы современных научных исследований» (г. Омск, 2018 г.); Международной научно-практической конференции, посвященная памяти

Василия Матвеевича Горбатова «Инновационно-технологическое развитие пищевой промышленности – тенденции, стратегии, вызовы» (г. Москва, 2018 г.).

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 12 статей, в том числе 4 публикации в ведущих рецензируемых научных изданиях рекомендованного перечня ВАК, и 1 публикация в рецензируемом научном издании, входящего в международную реферативную базу данных и систему цитирования (Web of Science / Scopus).

Структура и объем диссертационной работы. Диссертация изложена на 163 страницах компьютерного текста и включает: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, заключение, практические предложения, список сокращений и условных обозначений, список литературы (196 источников, в т.ч. 73 отечественных и 123 зарубежных) и приложения. Диссертация иллюстрирована 18 рисунками и включает 29 таблиц.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Главный Комплекс Гистосовместимости

Главный комплекс гистосовместимости (сокр. ГКГ, англ. *MHC, Major Histocompatibility Complex*) – это семейство генов и кодируемых ими антигенов клеточной поверхности, играющие ключевую роль в распознавании чужеродного антигена и развитии иммунологической реактивности организма [107].

Открытие K. Landsteiner в 1900 году систем групп крови, положило начало исследованиям по совместимости тканей животных. В 20-е годы прошлого столетия были установлены генетические локусы, обозначенные как локусы гистосовместимости. Изучение гистосовместимости осуществлялось в основном на мышах, которые являются уникальными млекопитающими, у которых антигены тканевой совместимости находятся не на лейкоцитах как принято, а на эритроцитах. Вследствие чего создалось мнение, что основные антигены, ответственные за совместимость тканей, содержатся на эритроцитах. Результат экспериментов по пересадке лоскутов ткани, у максимально совместимых по эритоцитарным антигенам особей одного вида, показал данные об обнаружении антигенов лейкоцитов, которые ответственны за отторжение тканей. В последствии аналогичные комплексы были идентифицированны у всех изученных видов животных и птиц. Вскоре открытая система антигенов лейкоцитов получила свое название – главный комплекс гистосовместимости (ГКГ).

Система ГКГ на сегодняшний день изучена у млекопитающих, птиц, рыб и рептилий [112, 113, 131, 167], также проведены исследования различных видов домашних животных: крупный рогатый скот (*BoLA*) [79, 96, 178], курица (*B*) [90], коза (*GLA*) [97], свинья (*SLA*) [125], лошадь (*ELA*) [77], овца (*OLA*) [102].

Главный комплекс гистосовместимости имеет следующие функции: ассоциация с иммунным ответом организма; роль антигенов в межклеточных взаимосвязях, то есть гистосовместимость. Антигены ГКГ представляют собой гликопротеиды, находящиеся на поверхности клеток, они играют важнейшую

роль в регуляции иммунного ответа на чужеродные антигены и сами являются сильными антигенами.

Наиболее детально изучен ГКГ человека (*HLA – Human Leucocyte Antigens*), структура ГКГ довольно консервативна и в отличае от других видов, у человека комплекс генов расположен на одной хромососме, поэтому целесообразно рассмотреть строение комплекса гистосовместимости на примере *HLA*.

ГКГ расположен у человека на шестой хромосоме и занимает существенный участок ДНК, при этом плотность генов в пределах комплекса высокая по сравнению с остальным геномом, включающий в себя около 50-ти генов. Гены системы *HLA*, принято подразделять на антигены класса I II и III, различающихся по строению и функциям кодируемых белков.

Антигены класса I – это классические транслантационные антигены *HLA-A*, – *B* и – *C* (характеризующиеся нормальной экспрессией) и неклассические *HLA-D*, – *E*, – *F* и – *G* (характеризующиеся низкой экспрессией), представленные на поверхности ядросодержащихся клеток. Функция антигенов данного класса, состоит в представлении чужеродных антигенов на поверхности клеток после внутриклеточного процессинга цитотоксическим Т-клеткам, обеспечивая цитотоксическую реакцию против клеток, инфицированных внутриклеточными патогенами. Функция Т-киллеров состоит в устранении мутантных, преобразованных и инфицированных вирусом клеток, экспрессирующих чужеродные антигены.

Антигены класса II – гены иммунного ответа организма, к которым относятся *DR, DQ, DP* районы. Функция антигенов данного класса, состоит в обеспечении взаимодействия Т-лимфоцитов и макрофагов в процессе иммунного ответа. Т-хелпиры распознают чужероднее белки после внутриклеточного процессинга и затем стимулируют иммунный ответ соответствующего гуморального типа [137].

Характерной чертой комплекса является его значительная полигенность (наличие нескольких неаллельных близкосцепленных генов, белковые продукты которых сходны в структурном отношении и выполняют идентичные функции) и

ярко выраженный полиморфизм (существование большого количества различных аллелей в пределах каждого гена). Гены отличаются между собой по нуклеотидным последовательностям, входящим в вариабельный участок ДНК, которые определяют антигенную индивидуальность особей. В популяции, подверженных воздействию многочисленных патогенов, преимущество будут иметь гетерозиготы, так как могут связывать большое количество чужеродных объектов [20].

Генетический полиморфизм ГКГ обуславливается высоким разнообразием аллелей и большим количеством отличай в соотношении G-C нуклеотидных пар.

1.2 Система BoLA – главный комплекс гистосовместимости крупного рогатого скота

Существование ГКГ у крупного рогатого скота, было показано с использованием серологических методов несколькими группами ученых [79, 96, 178].

В 1978 году в городе Эдинбург состоялось Международное совещание девяти лабораторий, где было принято решение о названии номенклатуры лейкоцитарной системы антигена крупного рогатого скота, в результате получившее наименование как система BoLA – Bovine Leukocyte Antigenes [140, 177].

Система BoLA – главный комплекс гистосовместимости крупного рогатого скота, локализованная на 23-й хромосоме [50, 84, 123, 141], содержит более 150-ти генов и разделена на три класса I, II и III [145, 190].

Класс I представлен генами *BoLA-A*, *-B*. Для изучения полиморфизма гена *BoLA-A* у различных пород крупного рогатого скота, использовали серологический метод. Для типирования генов *DQ*, *DR* применяют метод смешанной культуры лимфоцитов (СКЛ), чья чувствительность выше, что способствует выявлению большого числа аллелей. Также, антигенную

специфичность изучают с помощью изоэлектрофокусирования и двумерного электрофореза [20, 76].

В настоящее время основное внимание уделяется изучению на молекулярном уровне. Для этого используются следующие методы: полимеразная цепная реакция (ПЦР), полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ), алелль-специфичная ПЦР (АС-ПЦР), ПЦР-SBT (англ. *SBT, Sequence Based Typing*).

К классу II относится несколько локусов, каждый из которых обычно представлена двумя-тремя генами, находящимися на областях: IIa и IIb. В области IIa иденцифицированы следующие гены: *BoLA-DQA1, -DQA2, -DQB1, -DQB2, -DQB3, -DQB4, -DRA, -DRB1, -DRB2, -DRB3*, область IIb представлена генами *BoLA-DIB, -DOB, -DYA, -DYB* [80, 176, 178]. Среди представленных генов, *BoLA-DRA* является мономорфным [74], в то время как *-DRB3, -DQA* и *-DQB* являются высокополиморфными генами [143].

Расшифровка нуклеотидных последовательностей генов *BoLA* показала высокий уровень полиморфизма генов класса II BoLA-системы, среди которых наиболее высокополиморфным является ген *BoLA-DRB3*.

1.3 Ген *BoLA-DRB3*

Ген *BoLA-DRB3* кодирует антиген класса II ГКГ крупного рогатого скота, расположенный на внешней стороне мембраны В-лимфоцитов в области IIa сублокуса DR BoLA-системы.

Пептидная конструкция с рецепторной функцией, включает в себя *ά*- и *β*-цепи, являющиеся трансмембранными полипептидами, внеклеточная часть которых организованна в 2 домена по 90 аминокислотных остатков. Гидрофобный трансмембранный домен содержит 30, а цитоплазматический участок 12-15 остатков. Внеклеточная часть пептида образует трёхмерную структуру, боковые стены которой ограничены *ά*-спиралями, а дно *β*-складчатостью [86].

Основным локусом является высокополиморфный экзон 2 гена *BoLA-DRB3*, кодирующий β1-домен антигена класса II [164] с широким спектром вариабельности строения щели, как рецептора по отношению к чужеродным антигенам [87, 115, 149].

Для идентификации аллелей гена *BoLA-DRB3*, ассоциированных с устойчивостью и чувствительностью к лейкозу применяют различные молекулярно-генетические подходы.

Способ типизации групп аллелей *BoLA-DRB3* на основе PCR-SSP метода (*Sequence-Specific Primers* – метод специфических праймеров), ранее разработанный S.N. Takeshima et al. (2001) [181], реализован в ПЦР с восемью специфическими праймерами к первой гипервариабельной области полиморфного экзона 2. Однако для этого способа проведения PCR-SSP требуется проведение восьми реакций ПЦР каждого образца и дополнительных процедур секвенирования, данные которых не включают первые 30 оснований экзона 2 вышеупомянутой гипервариабельной области, что является существенным недостатком [180].

Для решения этих проблем D. Miltiadou et al. (2003) [156] разработали способ BoLA-типирования методом секвенирования (*SBT, Sequence Based Typing*) с расшифровкой всего экзона 2 DRB3, предварительно амплифицированного в двухраундной ПЦР (nested PCR).

В последующем, R. Baxter et al. (2008) [83] оптимизировали протокол проведения PCR-SBT до уровня проведения однораундной ПЦР с применением набора праймеров DRB3FRW и DRB3REV, фланкирующих анализируемый экзон 2 DRB3.

Позже, S.N. Takeshima et al. (2011) [180], комбинацией двух общеизвестных способов [83, 182], предложил усовершенствованную технику PCR-SBT для BoLA-типирования, где праймеры DRB3FRW и DRB3REV, инициирующую амплификацию локуса *BoLA-DRB3*-гена длиной 319 bp, также используются в качестве сиквенсных при расшифровке анализируемой нуклеотидной последовательности каппилярным секвенатором.

1.4 Ассоциация гена *BoLA-DRDB3* с устойчивостью и чувствительностью к лейкозу крупного рогатого скота

Ценность выбора гена *BoLA-DRB3* в качестве ДНК-маркера устойчивости и чувствительности к лейкозу крупного рогатого скота подтверждается исследованиями его аллельного полиморфизма у различных пород во многих странах мира, в том числе и в России.

На сегодняшний день методами рестрикционного анализа ДНК описано 54 аллеля данного гена, пронумерованных от 1 до 54 [187, 189, 194]. По результатам, полученных с помощью секвенирования, описано более 100 аллелей, названных по номеру последовательности [80, 150, 181].

Функциональная значимость *BoLA-DRB3*-аллелей, ассоциированных с устойчивостью или восприимчивостью к лейкозу крупного рогатого скота [59, 72, 128, 172, 179], позволяет рассматривать анализируемый ген в качестве молекулярного маркера, используемого в селекционно-генетических исследованиях [30].

Аллели гена *BoLA-DRB3* разделяют как на связанные с устойчивостью (У) к лейкозу крупного рогатого скота, представленные аллелями *11, *23, *28, так и на связанные с чувствительностью (Ч): *8, *16, *22 и *24 [59]. Остальные аллели гена *BoLA-DRB3* не имеют связи с лейкозом крупного рогатого скота, и называются нейтральными (Н). В дальнейшем было показано, что аллель *7 также ассоциирован с устойчивостью к лейкозу крупного рогатого скота [53, 64].

На основании представленных выше литературных данных, с устойчивостью к лейкозу крупного рогатого скота связаны следующие *BoLA-DRB3*-аллели – *7, *11, *23, *28, с чувствительностью – *8, *16, *22, *24. При этом животные-носители хотя бы одного из аллелей устойчивости не будут генетически восприимчивы к данному заболеванию из-за того, что резистентность к лейкозу является доминантным признаком, а чувствительность наследуется как рециссивный признак. [37, 58, 64, 195].

Исследования различных авторов [61, 64, 128] указывают на то, что аллели *2, *3, *10, *11, *12, *18 и *40 могут иметь определенную связь с устойчивостью или чувствительностью к лейкозу крупного рогатого скота, и соответственно, не принадлежать нейтральным аллелям гена *BoLA-DRB3*.

Для установления ассоциации аллелей с глубиной протекания лейкозного процесса были определены короткие аминокислотные последовательности (мотивы), обусловливающие связь аллелей гена *BoLA-DRB3* с лейкозом крупного рогатого скота.

Анализом трехмерной структуры антигенов класса II и изучением нуклеотидной последовательности было показано, что все аллели, ассоциированные с устойчивостью к лейкозу крупного рогатого скота, кодируют аминокислотный мотив ER (Glu-Arg) в позиции 70-71 домена β-1 [142, 195].

Аминокислотный мотив VDTY (Val-Asp-thr-tyr) в позиции 75-78, расположенный в месте связывания с рецепторами Т-клеток, предполагает связь с чувствительностью к лейкозу крупного рогатого скота. Также следует отметить снижение возможности распознать вирусный белок у носителей *BoLA-DRB3*-аллелей, кодирующих мотив VDTV (Val-Asp-Thr-Val).

На основании изучения структуры молекул класса II ГКГ прослеживается наличие мотивов в положении 70-71 (ER) и 75-78 (VDTY, VDTV) аминокислотных последовательностей BoLA-DRB3, учитываемые при выборе молекулярных маркеров устойчивости и чувствительности к лейкозу крупного рогатого скота.

1.5 Ассоциация гена *BoLA-DRB3* с признаками молочной продуктивности крупного рогатого скота

Молоко лейкозных коров является, как правило, неполноценным, некачественным и небезопасным. А получение высококлассного молочного сырья – важнейшая задача, особенно при производстве функциональных и геродиетических молочных продуктов [15, 16, 17].

Применение ДНК-маркеров устойчивости к заболеваниям крупного рогатого скота в молочном скотоводстве позволит воспроизводить здоровое потомство с желательными генотипами.

Исследователями получены данные об ассоциации разных аллельных вариантов гена *BoLA-DRB3* с признаками молочной продуктивности крупного рогатого скота [31, 32, 61, 171, 174].

Таким образом, *BoLA-DRB3*-аллели *8, *11, и *23 ассоциированы с повышенным объемом удоев, аллель *22 – со сниженным объемом удоев.

Представленная ассоциация обусловлена локализацией гена *BoLA-DRB3* находящегося в близости с генами, детерминирующими хозяйственно-полезные признаки.

В работах [13, 53] представлена связь полиморфизма гена *BoLA-DRB3* с признаками молочной продуктивности.

Исследование А.Е. Волченко (2015) [13] показывает, что связь гена *BoLA-DRB3* с молочной продуктивностью не является линейной, то есть присутствие в генотипе определенного аллеля не гарантирует проявление определенного качества.

В исследовании А.А. Серемягина и др. (2016) [55], прослеживается закономерность повышенной молочной продуктивности, которая сопряжена со снижением устойчивости к лейкозу крупного рогатого скота. Наблюдается плейотропное действие *BoLA-DRB3*-аллелей на показатели молочной продуктивности.

1.6 Гены цитокиновой сети и индуцибельной синтазы оксида азота

Гены цитокиновой сети вовлечены в патогенез хронических инфекций [78, 135, 136, 138, 162, 188].

Цитокины – большое семейство полипептидных молекул, продукты активированных клеток иммунной системы, основная масса которых образуется лимфоцитами. Продуцируются клетками различных типов и воздействуют на

клетки местно, либо системно в низких концентрациях (10^{-10}-10^{-15} моль/л). На данный момент известно более 150 цитокинов и их рецепторов [118].

Хемокины – это группа провоспалительных цитокинов является важной для индукции и регуляции иммунного ответа, стимулирует транспорт лейкоцитов к месту инфицирования, обеспечивая адгезию лейкоцитов с эндотелиальными клетками. На данный момент обнаружено около 50-ти хемокинов и идентифицировано 20 рецепторов.

Взаимодействуют хемокины также и с другим медиатором апоптоза, регулятором системы врожденного иммунитета, коротко живущими молекулами оксида азота (NO). Показано, что в эндотелиальных клетках после индукции в них синтеза *iNOS* (ген, кодирующий синтазу оксида азота) и, как следствие, повышения уровня оксида азота, наблюдается увеличение синтеза IL-8 и его секреции клетками.

Оксид азота (NO) является медиатором различных важных патофизиологических состояний [88 ,89].

Во время воспаления, как правило, цитотоксический эффект NO достигается путем формирования сильного оксиданта пероксинитрита, с которым ассоциированы бактерицидные и противоопухолевые свойства активированных макрофагов [99].

Оксид азота (NO) в качестве модулятора процессов, может как вызывать, так и предотвращать апоптоз через изменение уровня p53 [114].

Самым известным из NO-синтаз, является индуцибельная (iNOS) способная нарабатывать большое количество оксида азота. При ретровирусной инфекции индукция iNOS2 в Т-клетках приводит к прогрессии заболевания, в то время как ингибиторы iNOS частично блокируют репликацию вируса. Такое повышение оксида азота, способно индуцировать IL8.

Комбинация вирусной dsRNA с у- интерфероном (IFny) индуцирует синтез iNOS и соответственно NO, в следствии чего значительно повышается количество Р-клеток, входящих в апоптоз [147]. Механизм апоптоза может быть использован вирусом в стратегии выживания для массового высвобождения вирусных частиц.

Кроме того, показано, что NO может модулировать уровень транскрипции LTR (long terminal repeat) с провирусной ДНК [127].

Изучена также роль аллельной вариабельности генов цитокинов и индуцибельной синтазы оксида азота (*iNOS*) [67]. Ген *iNOS* содержит 3 полиморфных маркера AH13-1, AH13-2, AH13-3 в третьем интроне.

Чичининой С.В. (2005) [67] исследован аллельный полиморфизм полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* и установлена связь с восприимчивостью и устойчивостью к заражению вирусом бычьего лейкоза.

Литературный анализ данных показывает, что данный ген вовлечен в патогенез хронической вирусной инфекции.

1.7 Лейкоз крупного рогатого скота

Лейкоз крупного рогатого скота – хроническое инфекционное заболевание вирусной природы, проявляющееся лимфоцитозом и ростом злокачественных лимфоидных клеток; наносит существенный экономический ущерб отрасли молочного и мясного скотоводства вследствие падежа и вынужденного убоя животных, недополучения продукции и падения ее качества, а также затрат на осуществление противолейкозных мероприятий. Заболевание имеет повсеместное распространение практически во всех странах мира [3, 25, 95], в том числе на территории Российской Федерации, включая Республику Татарстан, что подтверждено молекулярно-генетическими методами исследований его этиологического агента – вируса бычьего лейкоза [10, 65, 68, 69].

Различают две формы лейкоза крупного рогатого скота: спорадическую и энзоотическую (англ. *EBL, Enzootic Bovine Leukosis*). Спорадическая форма встречается редко, и в основном, поражает молодняк до 3-х летнего возраста. Она характеризуется увеличением лимфатических узлов, инфильтрацией костного мозга (ювинальный лейкоз), увеличением тимуса (тимусный лейкоз) и узелковой лейкемической инфильтрацией кожи [124, 134]. Возбудитель спорадической формы до конца не идентифицирован [6, 134].

Энзоотический лейкоз крупного рогатого скота характеризуется длительным латентным периодом, наличием в крови специфических антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота, лимфоцитозом и образованием опухолей [56, 98, 185, 192].

Заболевание животных энзоотическим лейкозом представлено 4-мя стадиями инфекционного процесса: инкубационный период, стадия бессимптомного вирусоносительства, гематологических изменений и терминальная (опухолевая) стадия [41].

Продукты питания от животных из стад, неблагополучных по лейкозу, могут представлять опасность для человека из-за влияния вредных метаболитов, образующихся в организме крупного рогатого скота. При этом, сам возбудитель заболевания – вирус бычьего лейкоза, обнаруживается в сырье (молоко, мясо, субпродукты) и в продуктах его переработки, оставаясь потенциальным источником инфицирования человека [75, 160, 191].

Пастеризация молока инактивирует вирус, но не деградирует его геном, а ингредиенты, применяемые при консервировании мяса и мясопродуктов, также сохраняют целостность генетического материала провируса [168]. При этом, в ассортименте молочной продукции есть целый ряд продуктов, в технологию производства которых заложен щадящий режим пастеризации сырья-молока. К данной категории продуктов относятся классические сыры, зерненый творог, сухое молоко с низкой температурой нагрева и др. Действующие согласно нормативно-технической документации параметры температурной обработки не способны разрушать вредные метаболиты, а в некоторых случаях даже могут не оказать летального действия на вирус [54].

Ряд публикаций указывают на обнаружение провирусной ДНК вируса бычьего лейкоза в эпителиальных клетках молочных желез женщин, в том числе больным раком молочной железы, с выдвижением концепции, что вирус бычьего лейкоза влияет на дестабилизацию генома хозяина и приводит к развитию ракового перерождения клетки [66, 92, 93, 94, 154].

1.8 Вирус бычьего лейкоза

На протяжении более века исследователи из разных государств мира изучали этиологию лейкоза крупного рогатого скота, но впервые морфология вируса была достоверно описана в 1969 году, что ознаменовано в истории годом изучения лейкоза и открытия его этиологического агента – вируса лейкоза крупного рогатого скота, или вируса бычьего лейкоза (сокр. ВБЛ, англ. *BLV, Bovine Leukemia virus*) [155].

Возбудитель лейкоза крупного рогатого скота принадлежит к РНК-содержащим вирусам, патогенным к различным видам животных [85, 110, 146, 157, 169].

Современная классификация семейства *Retroviridae*, принятая Международным комитетом по таксономии вирусов в 2005 году, определила 7 родов, в том числе род *Deltaretrovirus*, в состав которого входит ВБЛ [22, 169].

Вирус бычьего лейкоза в морфологическом аспекте проявляет схожесть с возбудителями, вызывающими лейкоз у других видов животных. При этом антигенная структура вируса существенно различается.

По морфологии, структурным, генетическим и функциональным особенностям вирус бычьего лейкоза подобен вирусу Т-клеточного лейкоза человека HTLV-1 и HTLV-2 и вместе с ним относится к особой группе, обозначенной типом Е, однако в отличие от него поражает В-лимфоциты.

Геном вируса бычьего лейкоза содержит гены: *gag* – кодирует структурные белки; *env* – кодирует гликопротеид оболочки; *pol* – кодирует РНК-зависимую ДНК-полимеразу. В своем геноме вирус бычьего лейкоза имеет онкогены V-onko [27].

Согласно данным многих ученых вирусные частицы (вирионы) имеют выраженный полиморфизм.

Вирионы имеют сферическую, округлую форму диаметром 90-120 нм, состоящие из сердцевины, внутренней белковой мембраны и окружены оболочкой. На поверхности внешней оболочки вируса выявляют пепломеры

(шипики) с утолщением на конце длиной 8-11 нм., состоящие из субъединиц, которые образованы двумя типоспецифичными вирусными белками (gp51, gp30). В центральной части различают капсулу сердцевины с иксоэдральным происхождением и нуклеотид, расположенный в центре вириона размером 60-90 нм. [45].

Устойчивость ВБЛ во внешней среде крайне мала. Известно, что вирус чувствителен к воздействиям температур; нагревание при 56ºС в течение 15 минут приводит к разрушению. При пастеризации молока в течение 16-17 секунд при температуре 70-74 ºС происходит инактивация вируса, т.е. теряется его инфекционность. Прямое попадание солнечного света приводит к потере активности ВБЛ в течение 4 часов, УФ лучи – в течение 30 минут. Известна чувствительность вируса к воздействиям температур: повторное замораживание и оттаивание, или 15-ти минутное нагревание при 56 °С убивает вирус.

1.9 Геномная организация вируса бычьего лейкоза

Геном вируса бычьего лейкоза представлен 70S РНК, состоящий из двух 38 субъединиц [129], содержащий регуляторные и структурные гены. Геном вируса бычьего лейкоза секвенирован С. Дьюб и др. [105, 106].

Гены *gag* и протеазы. Ген *gag* кодируемый предшественником $Pr44^{gag}$, впоследствии разрезается на белки вирусных частиц (p12, p15 и p24) [130, 193].

Белок p12 составляет нуклеокапсид. У него высокое содержание глицина и пролина, что определяет низкий уровень вторичной организации белковой молекулы. В вирионе он тесно связан с вирусной РНК и имеет изоэлектрическую точку 8,0. [119].

Белок p15 является фосфорилированным полипептидом, не содержащим остатки метионина. Одни молекулы белка связаны с геномной вирусной РНК, другие взаимодействуют с липидным слоем вирусной мембраны [173].

Белок p24 является нейтральным и умеренно гидрофобным, оставаясь основной мишенью для распознавания иммунной системой посредством антител, обнаруживаемых в сыворотке инфицированных животных [119].

Функциональное предназначение гена *gag* – вирусная инфекционность *in vivo* [120, 151, 161, 184].

Ген *pol*. Ген транслируется с помощью сдвига рамки считывания в белок-предшественника массой 145 кДа. Pr145 содержит пептиды протеазы *gag*, таким образом представляя продукт элонгации – $Pr66^{gag\text{-}pol}$ [116].

Данный ген кодирует обратную транскриптазу массой 89 кДа – РНК-зависимую ДНК-полимеразу, а также кодирует интегразу массой 32 кДа. Обратная транскриптаза ВБЛ не чувствительна к трифосфатным аналогам нуклеотидов, которые могут является ингибиторами вируса иммунодефицита человека, тем самым обладает более высокой специфичностью. Интеграза действует как эндонуклеаза, т.е. может разрезать двухцепочечную ДНК по определенным последовательностям, а также присоединяется к концам провирусной ДНК и отвечает за интеграцию вирусного генома в ДНК клетки хозяина.

Ген *env*. Ген кодирует оболочку ВБЛ, транскбируется как 5,1 кДа мРНК, последующей трансляцией белка-предшественника $pr72^{env}$ [100, 101, 196], белки которого транспортируются в комплекс Гольджи, где расщепляется на два гликолизированных белка оболочки: трансмембранный gp30 и внеклеточный gp51.

Трансмембранный gp30, является слабоимунногенным, а внеклеточный gp51 вызывает высокую экспрессию специфических антител у инфицированных животных. Моноклональные антитела к gp51, взаимодействуют с эпитопами (F, G и H) на молекуле белка, определяющими инфекционость вируса. Данный факт позволяет предположить, что в отсутствии эпитопов F, G и H, происходит потеря инфекционности.

***R3- и G4*-гены *orf*.** Промежуточные регионы R3 и G4 открытых рамок считывания (orf), расположены между генами *tax-rex* и *env*.

R3-белок содержит 17 аминокислотных оснований, который также присутствует в Rex, и 27 аминокислот из R3 orf [152, 153].

Белки R3 могут быть задействованы в посттранскрипционной регуляции экспрессии вируса. R3 и G4 локализованы в ядре и митохондриях, подобно p12 и p13 HTLV-1, соответственно [132].

Ген *Rex*. Последовательность гена *rex* высоко консервативна в разных изолятах ВБЛ, уровень вариации которой составляет менее 5 %; локализован в ядре и ассоциирован с ядерными белками.

***Tax*-трансактиватор.** Транскрипционный активатор вирусной экспрессии. Между *env*-геном и LTR (3′-конец) локализована открытая рамка считывания Tax – самая большая в X-регионе. Мишенью для иммунного ответа Т- и В-клеточными эпитопами является Tax-белок, с локацией участков 110-130/131-150 и 261-280, соответственно [159].

1.10 Методы диагностики лейкоза крупного рогатого скота

При диагностике лейкоза крупного рогатого скота применяют следующие методы: клинический, паталогоанатомический, гистологический, гематологический, серологический и молекулярно-генетический. Заключением при постановке диагноза на лейкоз крупного рогатого скота является процедура гистологического исследования, которая обнаруживает у инфицированных (больных) животных, нарушение нормального созревания кроветворных клеток органов и соединительной ткани.

Клинические признаки лейкоза крупного рогатого скота можно разделить на специфические и неспецифические. Подразумевается появление сначала неспецифических признаков (нарушение сердечно-сосудичтой системы, нерегулярная жвачка и нарушение работы пищеварительного тракта), а в дальнейшем проявление специфических, по которым можно констатировать диагноз.

Гематологический метод. Диагностика лейкоза крупного рогатого скота гематологическим методом позволяет выявить больных животных на ранних стадиях заболевания. Гематологическое исследование заключается в подсчете лейкоцитов в единице объема крови и его качественной оценки лимфоцитов. В периферической крови больных животных находятся и незрелые лимфоидные клетки, которые в зависимости от морфологических признаков, определяют форму и вид лейкоза крупного рогатого скота.

В 1954 году Гетце Р. был предложен первый «лейкозный ключ», впоследствии модифицированный исследователями различных стран применительно к местным породам и условиям. Поэтому в настоящее время в мире насчитывается более десяти различных лейкозных ключей.

В 1965 году группой отечественных ученых ВИЭВ также был разработан «лейкозный ключ», модифицированный в 1969 и 1976 году.

Исследованию гематологическим методом подвергают животных, в сыворотке крови которых серологическими методоми (РИД, ИФА) обнаружены специфические антитела к ВБЛ.

Гематологические исследования позволяют выявлять больных животных, а также проводить дифференциальную диагностику форм и стадий болезни.

Недостатком гематологического метода является то, что изменения показателей крови не являются строго специфичными и могут быть связаны с другими этиологическими факторами. Данный метод не всегда позволяет исключить патологические состояния нелейкозной этиологии. Поэтому гематологические исследования могут позволить лишь контролировать саму болезнь, не позволяя выявить реальную степень поражения поголовья скота, так как в оздоровленных хозяйствах, в программы которых включены лишь гематологические исследования, в последующем вновь обнаруживаются больные лейкозом животные, которые ранее находились в инкубационном периоде.

Реакция иммунной диффузии (РИД). Основным методом прижизненной диагностики лейкоза крупного рогатого скота до настоящего времени является реакция иммунной диффузии в агаровом геле (сокр. РИД, англ. *AGID, agar gel*

imodiffusion). В отличии от клинического и гематологического исследования, РИД используется в качестве диагностики лейкоза крупного рогатого скота, начиная с 4-6 месячного возраста [8]. Основой метода служит выявление специфических антител к ВБЛ, что указывает о персистенции вируса в организме животного. При этом данный метод обладает довольно низкой чувствительностью.

Диагностика лейкоза крупного рогатого скота с помощью РИД способна идентифицировать зараженных на всех стадиях протекания инфекционного процесса, кроме латентной стадии, так как в крови животного отсутствуют антитела к ВБЛ, что значительно усложняет диагностику заболевания. Особенностью ВБЛ у крупного рогатого скота является образование специфических антител к вирусным антигенам, которые выявляются в крови от двух недель до нескольких месяцев после заражения животных.

РИД способна обеспечить оздоровление неблагополучного по лейкозу хозяйства. Животных с положительным результатом считают инфицированными. Таким образом, выводя из стада РИД-позитивных животных, теоретически можно добиться полного оздоровления [49]. Перспектива использования РИД для установления инфицированных и больных животных была достоверно доказана [14, 28, 38].

Недостатками РИД являются выпадение серологического ответа и невозможность исследовать молодняк до 6-месячного возраста. Среди инфицированных ВБЛ животных, преимущественно у отдельных особей дойного стада, сыворотки крови реагируют в РИД отрицательно [1, 2, 7].

Выпадение реакции при исследованиях РИД на лейкоз возможно обусловлено не только вирусоносительством без образования антител, но и низкой чувствительностью метода, что затрудняет своевременное выявление и изолирование больных животных. Использование РИД в качестве основного метода диагностики лейкоза крупного рогатого скота не приводит к полному оздоровлению региона или хозяйства от данного заболевания [26, 40].

В настоящее время метод РИД продолжает совершенствоваться за счет разработки новых антигенов, более того были предложены другие серологические

реакции такие как реакция связывания комплимента (РСК), реакция иммуннофлюоресценции (РИФ), реакция радиоиммуннопреципитации (РИА), реакция нейтрализации (РН), однако представленные методы не получили широкого применения [4, 71, 91].

Иммуноферментный анализ (ИФА). Метод непрямого иммуноферментного анализа (сокр. ИФА, англ. *ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay*), основанный на использовании антивидового конъюганта с применением ферментных маркеров. Данный метод является одним из наиболее чувствительных по сравнению с РИД, обеспечивая автоматизацию процесса. С помощью метода ИФА выявляют антитела к ВБЛ не только в сыворотке крови, но и в биологических жидкостях (молоко, моча) [73].

Появление на рынке доступных коммерческих ИФА-наборов позволяет широко использовать метод ИФА в борьбе с лейкозом крупного рогатого скота [26]. Однако, как и другие методы диагностики, ИФА имеет свои недостатки, связанные с иммунологическими реакциями, включая возможность выявить антитела только лишь через 1,5-2 месяца после заражения.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Современным методом прижизненной диагностики лейкоза крупного рогатого скота в настоящее время является полимерзная цепная реакция (сокр. ПЦР, англ. *PCR, polymerase chain reaction*). Данный метод находит широкое применение в молекулярно-генетических исследованиях. Высокая специфичность метода ПЦР позволяет выявить с высокой достоверностью инфицированных животных на более ранних стадиях заболевания.

С помощью ПЦР удается обнаружить даже денатурированную нуклеиновую кислоту, присутствующую в следовых количествах. Метод ПЦР может использоваться для диагностики лейкоза крупного рогатого скота в особо важных случаях и в качестве подтверждающего теста.

Однако ПЦР-диагностику не рассматривают как массовый метод исследования при лейкозе крупного рогатого скота. При этом использование ПЦР наряду с серологическими методами преимущественно в племенных хозяйствах

на завершающей стадии оздоровления является более эффективным вариантом [29].

Основой метода ПЦР служит обнаружение провирусной ДНК ретровируса, позволяющее идентифицировать единичные копии вируса в исследуемом образце в раннем инкубационном периоде благодаря высокой чувствительности метода, что показывает существенное преимущество над имунологическими методами диагностики лейкоза крупного рогатого скота. Метод ПЦР позволяет обнаружить гены гликопротеина ВБЛ в материале через 1-2 недели после инфицирования, из чего следует, что метод применим для молодняка старше 15-дневного возраста.

Известно, что с помощью ПЦР удается выявить инфицированных животных, которые ранее считались отрицательными по данным иммунологических исследований [23].

Использование метода ПЦР не лишено определенных недостатков. Исследования Н.В. Ковалюк [34, 35, 36], показывают возможность возникновения недостоверных результатов, связанных с несоответствием ПЦР результатов с иммунологическими исследованиями. Несмотря на высокую чувствительность ПЦР, в период минимальной провирусной нагрузки данный метод не спобен обнаружить ДНК провируса; в таких случаях РИД может оказатся более информативным. Для более эффективного оздоровления стада имеет смысл «дочищать» ПЦР-, РИД- и ИФА-негативных животных комбинированным использованием диагностических методов [36, 51].

ПДРФ-анализ. Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (сокр. ПДРФ, англ. *RFLP, restriction fragment length polemorphism*) – метод исследования геномной ДНК разрезанием эдонуклеазой рестрикции и дальнейшим анализом размеров образующихся фрагментов в гель-электрофорезе [61].

ПДРФ-анализ ПЦР-амплифицированной ДНК широко используется при идентификации (типировании) аллельных вариантов генов хозяйственно-значимых признаков [11, 62], в т.ч. определяющих устойчивость животных к различным заболеваниям, включая лейкоз крупного рогатого скота [121].

В настоящее время для искоренения лейкоза крупного рогатого скота в систему противоэпизоотических мероприятий внедряют раннюю генодиагностику возбудителя с последующим удалением инфицированных животных из стада.

Молекулярно-генетические методы исследования позволяют оценить генетическое многообразие ВБЛ [12] и являются наиболее информативными подходами к его геноидентификации, как при использовании филогенетического анализа секвенируемых нуклеотидных последовательностей ДНК провируса, так и ПЦР-ПДРФ-анализа в соответствии с филогенетической классификацией возбудителя [186].

В 1997 году G. Fechner et al. [111], исследованы провирусные образцы ДНК от коров различных стад Германии путем предложенной стратегии типирования ВБЛ, основанной на ПДРФ-анализе локуса *env*-гена с применением пяти эндонуклеаз рестрикции (*Bam*HI, *Bcl*I, *Bgl*I, *Hae*III *и Pvu*II). Изученные в результате исследования изоляты ВБЛ были разделены на семь групп: «A», «B», «C», «D», «E», «F» и «G».

В 2001 году группа ученых [85] разработала собственную стратегию типирования ВБЛ, применив три ретриктазы (*Pvu*II, *Bam*HI *и Bcl*I). На основании молекулярно-генетических характеристик и географического распространения возбудителя, представители ВБЛ были разделены на 3 подгруппы – Австралийскую, Бельгийскую и Японскую.

Позднее, M. Licursi et al. в 2002 году предложили типизацию ВБЛ на основе использования также трех эндонуклеаз рестрикции (*Bcl*I, *Hae*III *и Pvu*II), разделив представителей ВБЛ на 6 генотипов – 1, 2, 3, 4, 5 и 6 [146].

Филогенетический анализ. Подходом к теоретическому изучению структуры, функции и эволюционной изменчивости генетических макромолекул является филогенетический анализ. Цель данного метода заключается в изучении эволюционного порядка дивергенции последовательностей генов, а также в восстановлении эволюционных событий в предковых линиях.

Инструментом филогенетического анализа является реконструкция эволюционной истории путем сравнения близких по структуре, функциям и их первичных последовательностей генов или белков.

Эволюционный консерватизм является важным свойством функционально значимых структур макромолекул, и чем меньше важность отдельных участков генов, тем больше они имеют тендецию к эволюционной изменчивости.

Эволюционные отношения в филогенетических исследованиях представлены в виде эволюционных или филогенетических деревьев – дендрограмм или филограмм [43]. Способы построения дендрограмм (филограмм) делятся на две основные группы – матричные (дистанционные) и анализ дискретных признаков [43].

ВБЛ формирует отдельную ветвь семейства ретровирусов. Расхождение нуклеотидных последовательностей генов *pol* и *env* составляет 6 %, что указывает на высокую степень консерватизма вируса [116].

S.M. Rodriguez et al. [169] в 2009 году предложили генотипировать ВБЛ методом филогенетического анализа *env*-гена, определив для данного возбудителя 7 генотипов, что нашло подтверждение в поздней работе других исследователей [157].

При этом современная филогенетическая классификация ВБЛ предусматривает наличие десяти генотипов, первые семь из которых были впервые описаны исследователями из Аргентины в 2009 г. [169], восьмой генотип – учеными из России [9, 68, 69], Хорватии [82] и коллаборацией европейских ученых [170] в 2011-2013 гг., девятый генотип – группой изссследователей из Японии, Чили и Аргентины в 2016 г. [165], и десятый генотип – учеными из Южной Кореи и Тайланда [139], в том же году.

2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились в 2016-2018 годы на базе межкафедральной лаборатории иммунологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана», в ГУП ГПП «Элита» Высокогорского района Республики Татарстан, НПК «Синтол» (г. Москва), а также в сельскохозяйственных предприятиях районов Республики Татарстан.

Исследования по оценке аллельного полиморфизма генов *iNOS* и *BoLA-DRB3* проводили на выборке из 68 быков-производителей молочного и мясного направления продуктивности, принадлежащих ГУП ГПП «Элита» Высокогорского района Республики Татарстан.

Для экстракции ДНК из цельной консервированной крови крупного рогатого скота использовали комплект реагентов «ДНК-сорб В» (ЦНИИ Эпидемиологии).

Постановку ПЦР для амплификации локуса гена *iNOS* длиной 258 bp осуществляли набором реактивов «Encyclo Plus PCR kit» (ЗАО «Евроген») с применением набора специфических праймеров [19] (табл. 1) при следующих условиях термоциклирования на многоканальном амплификаторе «Терцик» (ООО «ДНК-технология»): предварительная денатурация при 94 °С – 4 мин.; далее 35 циклов: денатурация 94 °С – 10 сек., отжиг 58 °С – 10 сек., синтез 72 °С – 10 сек; досинтез при 72 °С – 5 мин (табл. 1).

Оценку аллельного полиморфизма гена *iNOS* у исследуемой выборки животных проводили на основе разработанного способа проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 анализируемого гена, для чего образцы амплифицированного продукта обрабатывали 5 ед. эндонуклеазы рестрикции *Hinf*I в 1× буфере «О»

(ООО «СибЭнзим») при 37 °С в течение ночи. Спектр генерируемых в процессе реакции генотип-специфичных фрагментов ДНК представлен в табл. 1.

Таблица 1 – Протокол ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS*

ПЦР-протокол

Реагент	**Исходная концентрация**	**Рабочая концентрация**	**1 проба (мкл)**	**10 проб (мкл)**
Стерильная вода			12,8	128
5× Encyclo Red буфер	5×	1×	4	40
50× смесь dNTP	50×	1×	0,4	4
Праймер iNOS-F	50 мкМ	0,5 мкМ	0,2	2
Праймер iNOS-R	50 мкМ	0,5 мкМ	0,2	2
50× Encyclo полимераза	50×	1×	0,4	4
Проба ДНК			2	
ИТОГО			**20**	

Нуклеотидные последовательности праймеров:
iNOS-F: 5′-AGGCGGGTTTAAGCTCCTAG-3′ (20 н.)
iNOS-R: 5′-ACACTGGACCCATCAGCTGC-3′ (20 н.)

Режим амплификации:
×1: 94^{0}C – 4 мин.
×35: 94^{0}C – 10 сек, 58^{0}C – 10 сек, 72 ^{0}C – 10 сек.
×1: 72 ^{0}C – 5 мин.

Электрофорез в 2% агарозе

ПЦР-продукт 258 bp

<u>Протокол ПДРФ</u>

Реагент	**Исходная концентрация**	**Рабочая концентрация**	**1 проба (мкл)**	**10 проб (мкл)**
dH_2O			2,25	22,5
SE-буфер O	10×	1×	2,5	25
HinfI	20 U	5 U	0,25	2,5
ПЦР-проба			20	
ИТОГО			**25**	

Инкубация при 37 ^{0}C в течение ночи

ПЦР-ПЦРФ-фрагменты
Генотип *AA* = 192/66 bp
Генотип *BB* = 258 bp
Генотип *AB* = 258/192/66 bp

При постановке ПЦР для амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus* использовали набор реактивов «Encyclo Plus PCR kit» (ЗАО «Евроген») рассчитанный на 200 проб, в комплект которого входит: 50× смесь полимераз Encyclo (100 мкл); 10× Encyclo буфер (600 мкл); 5× Encyclo Red буфер (1.2 мл); 2× Encyclo GC буфер (2 × 1.5 мл); 50× смесь dNTP (120 мкл); стерильная вода для ПЦР (3 × 1.5 мл). Компоненты трех использованных реакционных ПЦР-смесей представлены в табл. 2.

Таблица 2 – Компоненты трех использованных реакционных ПЦР-смесей для амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus*

Компонент	**Реакция с Encyclo Red буфером (мкл)**	**Реакция с Encyclo буфером (мкл)**	**Реакция с Encyclo GC буфером (мкл)**	**Конечная концентрация компонента**
Стерильная вода	16,5	19	7	-
5× Encyclo Red буфер	5	-	-	1×
10× Encyclo буфер	-	2,5	-	1×
2× Encyclo GC буфер	-		12,5	1×
DRB3FRW	0,25	0,25	0,25	0,5 мкМ
DRB3REV	0,25	0,25	0,25	0,5 мкМ
50× Encyclo полимераза	0,5	0,5	0,5	1×
Проба ДНК	2	2	4	-
Конечный объем	25 мкл	25 мкл	25 мкл	-

Режимы термоциклирования на многоканальном амплификаторе «Терцик» (ООО «ДНК-технология») представлены в табл. 3.

Таблица 3 – Режимы термоциклирования для амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus*

Стадия	**Цикл**	**Режим №1**	**Режим №2**	**Режим №3**	**Режим №4**	**Режим №5**
Предварительная денатурация	×1	94 ^{0}C – 4 мин.				
Денатурация	×40	94 ^{0}C – 30 с.	94 ^{0}C – 10 секунд			
Отжиг		57 ^{0}C – 30 с.	58 ^{0}C – 10 с.	59 ^{0}C – 10 с.	61 ^{0}C – 10 с.	62 ^{0}C – 10 с.
Синтез		72 ^{0}C – 30 с.	72 ^{0}C – 10 с.			
Досинтез	×1	72 ^{0}C – 7 м.	72 ^{0}C – 5 мин.			
Хранение 10 ^{0}C						

Электрофоретическую детекцию образующихся ПЦР и ПЦР-ПДРФ-фрагментов проводили с использованием комплекта реагентов «ЭФ-генотип 200» (ЦНИИ Эпидемиологии) в 2 % агарозном геле в буфере ТБЕ, содержащим бромид этидия, с последующей визуализацией ДНК в УФ-трансиллюминаторе (Vilber Lourmat) и фиксацией результата ПЦР-ПДРФ на цифровую фотокамеру (Canon).

Выравнивание частичных нуклеотидных последовательностей аллельных вариантов *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS*: CLUSTAL W (v. 1.83) (http://www.genome.jp/tools/clustalw/).

Моделирование ПЦР-ПДРФ-профилей: NEBcutter v.2.0.

Для *BoLA*-типирования методом секвенирования (SBT) ампликоны анализируемого локуса секвенировали на генетическом анализаторе "ABI PRISM 3100" (Applied Biosystems, США) с последующим их выравниванием в BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgic) с соответствующими частичными нуклеотидными последовательностями аллелей *BoLA-DRB3*.

Частоту встречаемости генотипов по генам *iNOS* и *BoLA-DRB3* определяли по формуле [47]:

$p = \frac{n}{N}$, где p – частота генотипов; n – количество особей, имеющих определенный генотип, N – общее число обследованных особей.

Расчет частоты отдельных аллелей определяли по формуле:

$p = (2N1+N2)/2n$, где $N1$ – число гомозигот по исследуемому аллелю, $N2$ – число гетерозигот, n – объем выборки.

Расчет частоты встречаемости генотипов и аллелей также выражен в процентном отношении.

Наблюдаемую гетерозиготность рассчитывали по формуле:

$H_o = N/n$, где H_o – наблюдаемая гетерозиготность, N – количество гетерозигот, n – объем выборки

Ожидаемую гетерозиготность рассчитывали по формуле:

$H_e = 1-(p^2+q^2)$, где: H_e – ожидаемая гетерозиготность, p – частота аллеля *A*, q – частота аллеля *B*.

Для оценки избытка гетерозигот в изучаемой выборке животных использовали коэффициент Селендера:

$D = (H_o - H_e)/H_e$, где: H_o – наблюдаемая гетерозиготность, H_e – ожидаемая гетерозиготность.

Ожидаемые частоты генотипов в исследуемой выборке рассчитывали согласно закону Харди-Вайнберга [52].

Для сопоставления наблюдаемого и ожидаемого распределения частот генотипов использовали критерий соответствия «хи-квадрат» (χ^2) [47].

При изучении ассоциативной связи генотипов по генам *iNOS* и *BoLA-DRB3* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков использованы также данные зоотехнического и племенного учета исследуемого хозяйства: племенные карточки (форма 1-МОЛ), каталоги, племенные свидетельства быков-производителей.

Вычислен РИБ – родительский индекс быка по Н.А. Кравченко (1963) [39] для каждого быка по удою и жирномолочности их женских предков.

РИБ = (2М+ММ+МО)/4, где *М* – матери, *ММ* – матери матерей, *МО* – матери отцов.

Полученные результаты исследования обработаны биометрическим методом [46]. Уровень их достоверности определяли по критерию Стьюдента.

При проведении эпизоотологического исследования обрабатывались статистические материалы ветеринарной отчетности, а также результаты лабораторной диагностики лейкоза крупного рогатого скота реакцией иммунодиффузии (РИД) и гематологией.

Молекулярно-генетическим исследованиям было подвергнуто 179 образцов крови РИД-положительных коров из сельхозпредприятий 21 района Республики Татарстан Российской Федерации (табл. 4) на предмет геноидентификации выявляемых представителей вируса бычьего лейкоза (ВБЛ) филогенетическим анализом секвенируемых нуклеотидных последовательностей фрагмента *env*-гена возбудителя, а также ПЦР-ПДРФ-генотипированием, согласуемым с филогенетической классификацией инфекционного агента.

Таблица 4 – Происследованные 179 образцов образцов крови РИД-положительных коров сельхозпредприятий 21 района Республики Татарстан

Район Республики Татарстан		**Исследовано**
1	Азнакаевский	10
2	Алькеевский	13
3	Арский	7
4	Буинский	7
5	Высокогорский	4
6	Дрожжановский	12
7	Заинский	8
8	Кайбицкий	7
9	Лаишевский	13
10	Лениногорский	19
11	Мамадышский	10
12	Мензелинский	6
13	Муслюмовский	4
14	Нижнекамский	14
15	Пестречинский	1
16	Рыбнослободский	8
17	Сармановский	2
18	Спасский	9
19	Тукаевский	9
20	Тюлячинский	6
21	Чистопольский	10
ВСЕГО ОБРАЗЦОВ		179

Выделение ДНК из цельной консервированной крови крупного рогатого скота осуществлено коммерческим набором «ДНК-сорб Б» (ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора МЗ РФ).

При постановке nested ПЦР с экстрагированными пробами провирусной ДНК ВБЛ применены «внешние» («env5032» и «env5608») и «внутренние» («env5099» и «env5521») праймеры (табл. 5), инициируемые на завершающем этапе реакции наработку фрагмента *env*-гена возбудителя длиной 444 bp [85, 111, 146]. Соответствующие эндонуклеазы рестрикции, использованные при ПЦР-ПДРФ-генотипировании ВБЛ, согласуемой с его филогенетической классификацией, указаны в табл. 6. Для ПЦР-ПДРФ-моделирования использован web-ресурс NEBcutter v.2.0 (http://nc2.neb.com/NEBcutter2/).

Таблица 5 – Протокол «Netsed» ПЦР (амплификация фрагмента *env*-гена ВБЛ)

1-ый раунд ПЦР

Реактив	**Исходная концентрация**	**Рабочая концентрация**	**1 проба (мкл)**	**10 проб (мкл)**
dH_2O			13,4	134
dNTPs	2,5 мМ	0,25 мМ	2	20
Буфер для Taq ДНК полимеразы	10×	1×	2	20
Taq ДНК полимераза	5 ед	1 ед	0,2	2
Внешний праймер «env5032»	50 мкМ	0,5 мкМ	0,2	2
Внешний праймер «env5608»	50 мкМ	0,5 мкМ	0,2	2
Проба ДНК			2	
ИТОГО			20	

Внешние праймеры:
«env5032»: 5′-TCTGTGCCAAGTCTCCCAGATA-3′ (22 н.)
«env5608»: 5′-AACAACAACCTCTGGGAAGGGT-3′ (22 н.)
Режим амплификации:
1× 94^0C – 4 мин.
40× 94^0C – 30 сек, 62^0C – 30 сек, 72^0C – 60 сек.
1× 72^0C – 5 мин.

2-ой раунд ПЦР

Реактив	**Исходная концентрация**	**Рабочая концентрация**	**1 проба (мкл)**	**10 проб (мкл)**
dH_2O			36,6	366
dNTPs	2,5 мМ	0,25 мМ	5	50
Буфер для Taq ДНК полимеразы	10×	1×	5	50
Taq ДНК полимераза	5 ед	2 ед	0,4	4
Внутренний праймер «env5099»	50 мкМ	0,5 мкМ	0,5	5
Внутренний праймер «env5521»	50 мкМ	0,5 мкМ	0,5	5
Проба ДНК 1-го раунда ПЦР			2	
ИТОГО			50	

Внутренние праймеры:
env5099: 5′-CCCACAAGGGCGGCGCCGGTTT-3′ (22 н.)
env5521: 5′-GCGAGGCCGGGTCCAGAGCTGG-3′ (22 н.)
Режим амплификации:
1× 94^0C – 4 мин.
40× 94^0C – 30 сек, 68^0C – 30 сек, 72^0C – 60 сек.
1× 72^0C – 5 мин.
Электрофорез в 2,5 % агарозе
ПЦР-продукт 444 bp

Таблица 6 – ПДРФ-протокол генотипирования ВБЛ

1. *Pvu*II-ПДРФ

Реактив	**Исходная концентрация**	**Рабочая концентрация**	**1 проба (мкл)**	**10 проб (мкл)**
dH_2O			5,8	58
BSA	10 мг/мл	0,1 мг/мл	0,2	2
SE-буфер G	10×	1×	2	20
*Pvu*II	10 ед	20 ед	2	20
ДНК 2-го раунда ПЦР			10	
ИТОГО			**20**	

Инкубация при 37^0С в течение ночи

2. *Ssp*I-ПДРФ

Реактив	**Исходная концентрация**	**Рабочая концентрация**	**1 проба (мкл)**	**10 проб (мкл)**
dH_2O			6,8	68
BSA	10 мг/мл	0,1 мг/мл	0,2	2
SE-буфер K	10×	1×	2	20
*Ssp*I	10 ед	10 ед	1	10
ДНК 2-го раунда ПЦР			10	
ИТОГО			**20**	

Инкубация при 37^0С в течение ночи

3. *Asu*HPI-ПДРФ

Реактив	**Исходная концентрация**	**Рабочая концентрация**	**1 проба (мкл)**	**10 проб (мкл)**
dH_2O			7	70
SE-буфер O	10×	1×	2	20
*Asu*HPI	4 ед	4 ед	1	10
ДНК 2-го раунда ПЦР			10	
ИТОГО			**20**	

Инкубация при 37^0С в течение ночи

4. *Hae*III-ПДРФ

Реактив	**Исходная концентрация**	**Рабочая концентрация**	**1 проба (мкл)**	**10 проб (мкл)**
dH_2O			6	60
SE-буфер G	10×	1×	2	20
*Hae*III	10 ед	20 ед	2	20
ДНК 2-го раунда ПЦР			10	
ИТОГО			**20**	

Инкубация при 37^0С в течение ночи

5. *Bst*X2I -ПДРФ

Реактив	**Исходная концентрация**	**Рабочая концентрация**	**1 проба (мкл)**	**10 проб (мкл)**
dH_2O			7	70
SE-буфер G	10×	1×	2	20
*Bst*X2I	10 ед	10 ед	1	10
ДНК 2-го раунда ПЦР			10	
ИТОГО			**20**	

Инкубация при 60^0С в течение ночи

Для детекции полученных результатов ПЦР- и ПЦР-ПДРФ-анализа применен горизонтальный электрофорез в 2,5 % агарозном геле с буфером TBE (pH 8,0), содержащим бромистый этидий, с последующим рассмотрением электрофореграмм в УФ-трансиллюминаторе (λ=310 нм). Размеры генерируемых фрагментов ДНК были оценены сопоставлением со стандартными маркерами молекулярного веса ДНК (ООО «СибЭнзим»).

Секвенирование продуктов ПЦР-амплификации фрагмента *env*-гена выявляемых провирусных изолятов ВБЛ проведено на генетическом каппилярном анализаторе (секвенаторе) «ABI PRISM 3100» («Applied Biosystems», США) в лаборатории НПК «Синтол» (Россия) с применением «внутренних» олигонуклеотидных праймеров «env5099» и «env5521» в качестве сиквенсных. Выравнивание секвенируемых последовательностей фрагмента *env*-гена провирусных изолятов ВБЛ с соответствующими нуклеотидными последовательностями референсных изолятов ВБЛ, ранее депонированных в GenBank, осуществлено с использованием программ BLAST и MEGA-4 с последующим филогенетическим анализом.

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 Оценка аллельного полиморфизма гена *iNOS* у исследуемой выборки животных на основе разрабатываемого способа проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 анализируемого гена

Оценку аллельного полиморфизма гена *iNOS* у исследуемой выборки животных выполнили на основе разработанного нами способа проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 анализируемого гена.

Расчетные данные для верификации предложенного способа ПЦР-ПДРФ были получены исходя из анализа выравнивания и *Hinf*I-рестрикционного картирования амплифицируемых с помощью праймеров iNOS-F и iNOS-R частичных нуклеотидных последовательностей аллельных вариантов *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS Bos taurus* (рис. 1) с моделированием генерируемых ПЦР и *Hinf*I-ПДРФ-профилей соответствующих генотипов (рис. 2).

```
Ген/аллель        Праймер iNOS-F
iNOS/A     001 AGGCGGGTTT AAGCTCCTAG AGAGGCCAGA GAGGAAGAAA GTAGAAAGAC CTTGGCTTCT
iNOS/B     001 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
               ********** ********** ********** ********** ********** **********
Ген/аллель            HinfI AH13-1
iNOS/A     061 TCAGGGAGTC GTCACAGTGA GCCCGCCTCC GTGAGCCTAG TGCCTCATCA GTGRCCCATT
iNOS/B     061 .........T .......... .......... .......... .......... ..........
               *********  ********** ********** ********** ********** **********
Ген/аллель
iNOS/A     121 TCCTTGGTTT CTTTCTGACT TGAAACCATT TRGAGGAGAC AGGGGGGATC TTTAAGAGGT
iNOS/B     121 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
               ********** ********** ********** ********** ********** **********
Ген/аллель                                                                    __
iNOS/A     181 AACTTCAGTC TTCGAGGTTA GGGTCCCCAC TTTGTAGAGG GGATGAGAAR TTGGTTTTGC
iNOS/B     181 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
               ********** ********** ********** ********** ********** **********
Ген/аллель        Праймер iNOS-R ПЦР-продукт GenBank A/N
iNOS/A     241 AGCTGATGGG TCCAGTGT 258 п.н.    AF465168
iNOS/B     241 .......... ........ 258 п.н.    AF465168
               ********** ********
Ген/аллель HinfI-рестрикционное картирование HinfI-ПДРФ-профиль
iNOS/A     1-66/67-258 н.                    192/66 п.н.
iNOS/B     1-258 н.                          258 п.н.
```

Рисунок 1 – Результат выравнивания и *Hinf*I-рестрикционного картирования амплифицируемых с помощью праймеров iNOS-F и iNOS-R частичных нуклеотидных последовательностей аллельных вариантов *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS Bos taurus*

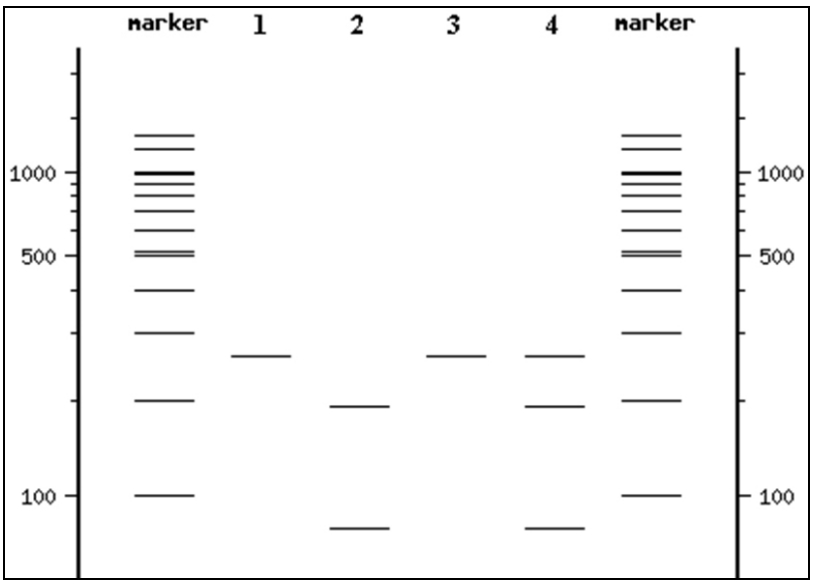

Рисунок 2 – Моделирование ПЦР и *Hinf*I-ПДРФ-профилей генотипов полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS Bos taurus* (праймеры iNOS-F и iNOS-R)

Обозначения: 1) ПЦР-продукт (258 п.н.); 2-4) ПДРФ-профили: 2) генотип *AA* (192/66 п.н.); 3) генотип *BB* (258 п.н.); 4) генотип *AB* (258/192/66 п.н.).

Так, праймеры iNOS-F и iNOS-R инициируют амплификацию локуса полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* крупного рогатого скота длиной 258 п.н., а *Hinf*I-ПДРФ-анализ генерируемых генотип-специфичных фрагментов (*AA*=192/66 п.н., *BB*=258 п.н. и *AB*=258/192/66 п.н.) обеспечивает корректную процедуру генотипирования (рис 3.).

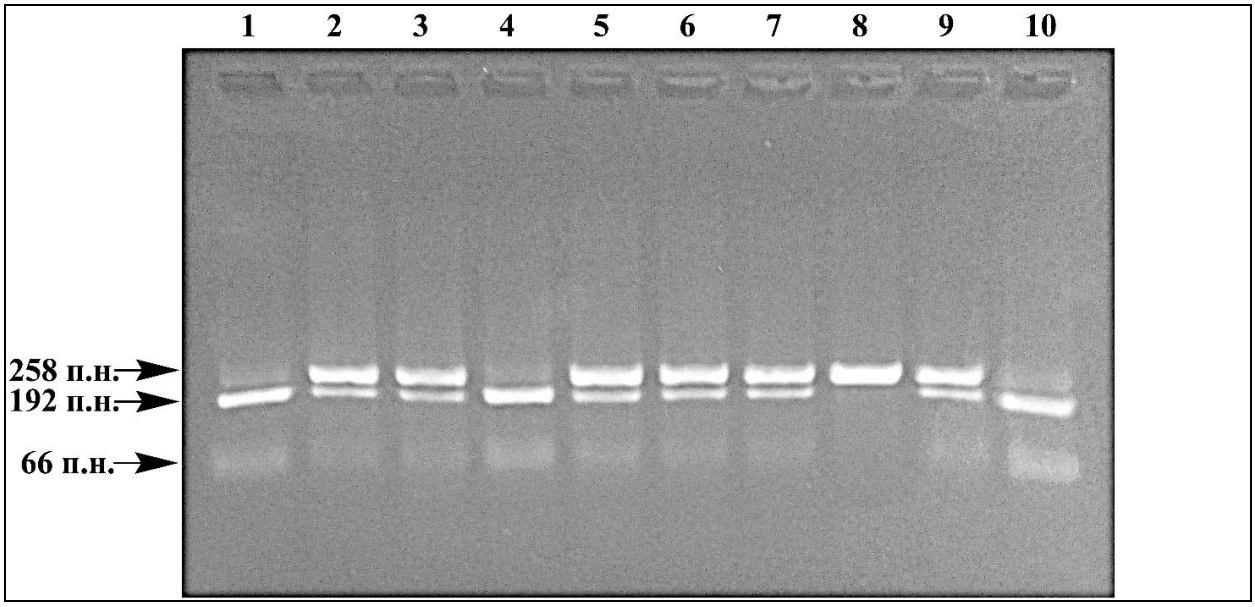

Рисунок 3 – Электрофореграмма технического результата разработанного способа проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS*

Обозначения: 1-10) генерируемые *HinfI*-ПДРФ-профили: 1,4,10) генотип *AA* (192/66 п.н.); 8) генотип *BB* (258 п.н.); 2, 3, 5, 6, 7, 9) генотип *AB* (258/192/66 п.н.).

Результаты оценки аллельного полиморфизма гена *iNOS* у исследуемой выборки животных представлены в табл. 7.

Таблица 7 – Аллельный полиморфизм гена *iNOS* у исследуемой выборки быков-производителей ГУП ГПП «Элита» Высокогорского района Республики Татарстан

Быки-производители: *молочного направления продуктивности	n = 60 гол.	Частота встречаемости								χ^2
		генотипов						аллелей		
		AA		*AB*		*BB*		*A*	*B*	1,72
		n	%	n	%	n	%			
	Н	14	23,3	35	58,3	11	18,4	0,525	0,475	
	О	16	26,7	30	50	14	23,3			
**мясного направления продуктивности	n = 8 гол.	*AA*		*AB*		*BB*		*A*	*B*	0,89
		n	%	n	%	n	%			
	Н	4	50	4	50	-	-	0,75	0,25	
	О	4,5	56,25	3	37,5	0,5	6,25			

Примечание: Н – наблюдаемое распределение генотипов, О – ожидаемое распределение генотипов. *Помесный и чистопородный голштинский скот. **Породы мясного направления (герефорд, обрак, лимузин).

У быков-производителей молочного направления продуктивности, представляющих собой помесный и чистопородный голштинский скот, частота аллеля *A* составила 0,525, аллеля *B* – 0,475, а распределение генотипов было следующее: *AA* – 14 гол. (23,3 %), *AB* – 5 гол. (58,3 %), *BB* – 11 гол. (18,4 %) (табл. 7).

У быков-производителей мясного направления продуктивности, представленных породой герефорд, обрак и лимузин, частота аллеля *A* составила 0,75, аллеля *B* – 0,25, с равным распределением генотипов *AA* и *AB* по 4 гол. (50 % каждого) и отсутствием генотипа *BB* (табл. 7).

Наблюдаемое распределение частот генотипов полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* в исследуемой выборке соответствует теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди-Вайнберга.

2.2.2 Изучение ассоциативной связи генотипов полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков

Постановка ПЦР с праймерами iNOS-F и iNOS-R, инициирующих амплификацию локуса полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* крупного рогатого скота длиной 258 п.н., и последующий *Hinf*I-ПДРФ-анализ генерируемых генотип-специфичных фрагментов (*AA*=192/66 п.н., *BB*=258 п.н. и *AB*=258/192/66 п.н.), обеспечили корректную процедуру генотипирования (рис. 4).

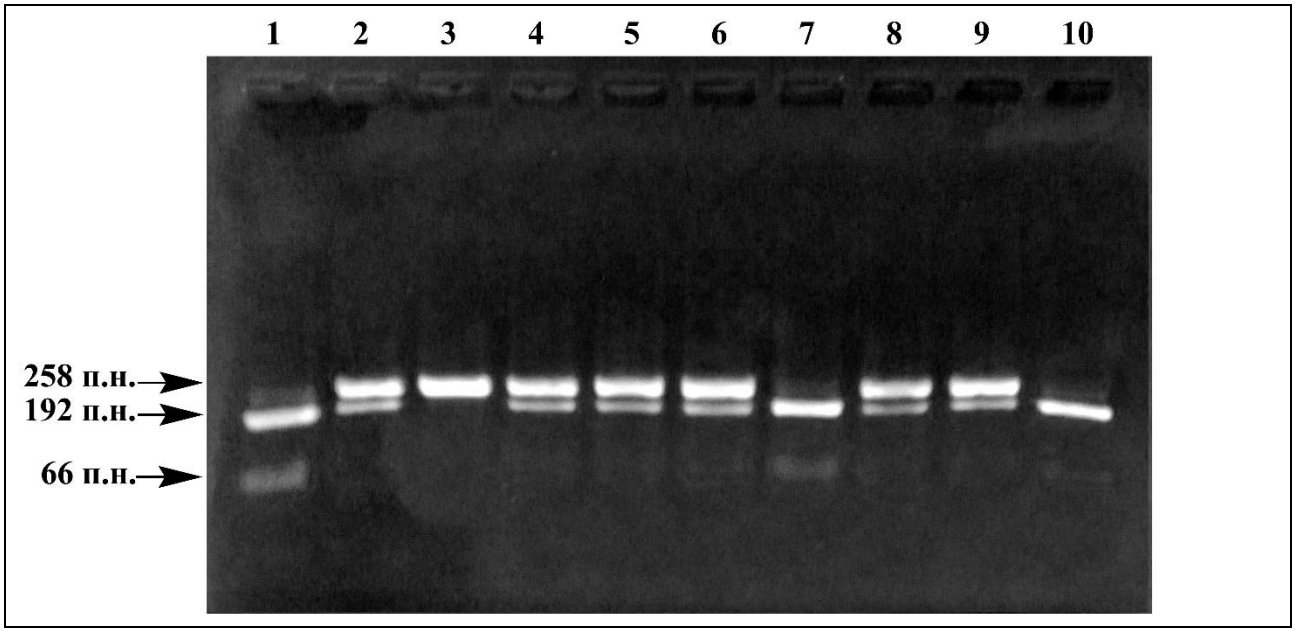

Рисунок 4 – Электрофореграмма ПЦР-ПДРФ-анализа для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS*

Обозначения: 1-10) генерируемые *HinfI*-ПДРФ-профили: 1, 7, 10) генотип *AA* (192/66 п.н.); 3) генотип *BB* (258 п.н.); 2, 4, 5, 6, 8, 9) генотип *AB* (258/192/66 п.н.).

Распределение быков-производителей молочного направления продуктивности, представляющих собой помесный и чистопородный голштинский скот, по генотипам полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* было следующим: *AA* – 14 гол. (23,3 %), *AB* – 35 гол. (58,3 %), *BB* – 11 гол. (18,4 %). Частота аллеля *A* составила 0,525, аллеля *B* – 0,475 (табл. 8).

Таблица 8 – Аллельный полиморфизм гена *iNOS* у исследуемой выборки быков-производителей ГУП ГПП «Элита» Высокогорского района Республики Татарстан

Быки-производители: *молочного направления продуктивности	n = 60 гол.	Частота встречаемости								χ^2
		генотипов						аллелей		
		AA		*AB*		*BB*		*A*	*B*	
		n	%	n	%	n	%			
	Н	14	23,3	35	58,3	11	18,4	0,525	0,475	1,72
	О	16	26,7	30	50,0	14	23,3			

Примечание: Н – наблюдаемое распределение генотипов, О – ожидаемое распределение генотипов. *Помесный и чистопородный голштинский скот.

Для оценки быков-производителей по происхождению использованы индексы племенной оценки быков, в которые входили показатели ближайших женских предков (табл. 9).

Таблица 9 – Характеристика быков-производителей с разными генотипами полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* по молочной продуктивности женских предков

Показатель		Генотип		
		AA	*AB*	*BB*
Число быков		14	35	11
Матери (М)	удой, кг	7726±1205,2	8678±1658,4	9611±1741,2
	жир, %	3,9±0,25	3,85±0,17	3,92±0,18
	жир, кг	301,3±55,6	334,1±69,2	376,8±69,5
Матери Матерей (ММ)	удой, кг	6763±2463,6	7168±1865,8	7827±1877,7
	жир, %	3,87±0,3	3,91±0,36	3,8±0,23
	жир, кг	261,7±107,6	280,3±72,2	297,4±76,6
Матери Отцов (МО)	удой, кг	10048±2151,1	10249±2051,5	12654±4544,2
	жир, %	3,91±0,25	4,06±0,34	4,11±0,53
	жир, кг	392,9±95,8	416,1±105,3	520,1±201,4
Родословный индекс быка (РИБ)	удой, кг	8066±1597,8	8693±1373,1	9926±2063,1
	жир, %	3,89±0,19	3,92±0,2	3,93±0,16
	жир, кг	313,8±72,3	340,8±60,2	390,1±83,9

Анализ табл. 9 показывает, что наибольшие показатели по удою и содержанию жира в молоке отмечены в группе матерей (М) быков с генотипом *BB* (9611 кг и 3,92 %), которые были выше, чем у матерей быков с генотипом *AB* на 933 кг и 0,07 %, а также генотипом *AA* на 1885 кг и 0,02 %, соответственно.

В группе матерей матерей (ММ) более высокий удой зафиксирован у быков с генотипом *BB* (7827 кг), который был выше, чем у быков с генотипами *AB* на 659 кг и *AA* на 1064 кг. Более высокое содержание жира в молоке имели быки с

генотипом *AB* (3,91 %), которые были выше, чем у быков с генотипами *AA* на 0,04 % и *BB* на 0,11 %, соответственно. Наибольший выход молочного жира отмечен у быков с генотипом *BB*, превосходящий по данному показателю генотипы *AB* на 17,1 кг и *AA* на 35,7 кг.

В группе матерей отцов (МО) наибольшие показатели по удою, содержанию жира в молоке и выходу молочного жира отмечены у быков с генотипом *BB* (12654 кг, 4,11 % и 524,1 кг), которые были выше, чем у быков с генотипами *AB* на 2405 кг, 0,05 % и 104,0 кг и *AA* на 2606 кг, 0,2 % и 127,2 кг, соответственно.

Оценка быков по родительскому индексу показала, что наибольший РИБ по показателям молочной продуктивности и качества молока оказался в группе быков с генотипом *BB*.

2.2.3 Оптимизация условий проведения ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus*, пригодной для дальнейшей процедуры типирования методом секвенирования (SBT)

Для подбора оптимальных условий проведения ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus*, пригодной для дальнейшей процедуры типирования методом секвенирования (SBT), использовали реакционные смеси и режимы термоциклирования, представленные в табл. 2, соответственно.

На первом этапе апробировали ПЦР с Encyclo Red буфером (табл. 2) и первый режим термоциклирования (табл. 3). В качестве пробы ДНК использовали нуклеиновые кислоты, экстрагированные сорбентным и комбинированным щелочным методом. Соответствующая электрофореграмма ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus* представлена на рис. 5.

Как видно из электрофореграммы рис. 5, при использовании в реакции Encyclo Red буфера происходит низкий выход специфичного ПЦР-продукта длиной 319 bp на фоне шмера ярковыраженной интенсивности.

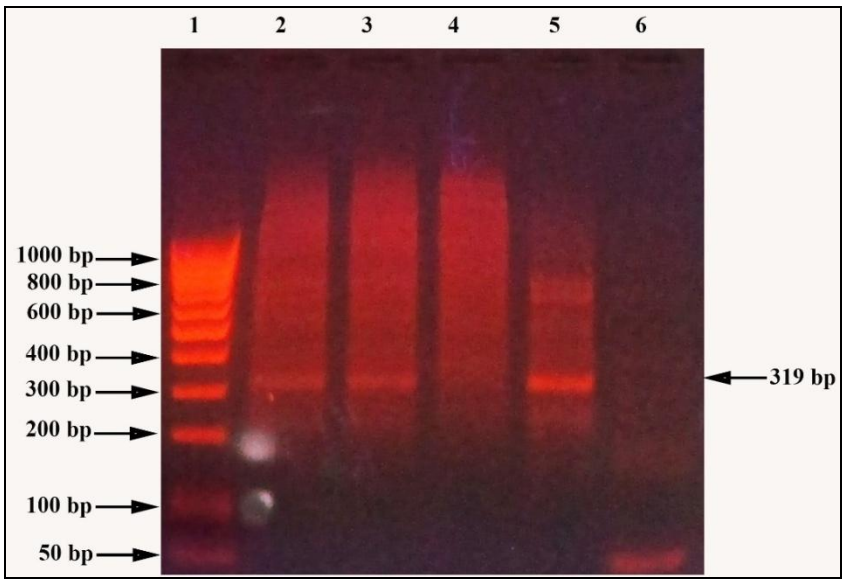

Рисунок 5 – Электрофореграмма результата ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus* (Encyclo Red буфер)

Обозначения: 1) ДНК-маркеры 100 bp + 50 bp; 2-3) свежевыделенная ДНК, экстрагированная «ДНК Сорб В»; 4) ДНК с истекшим сроком хранения, экстрагированная «ДНК Сорб В»; 5) ДНК, экстрагированная комбинированным щелочным способом; 6) ОКО.

На следующем этапе апробировали ПЦР со стандартным Encyclo буфером (табл. 2) в постановке второго и третьего режима термоциклирования (табл. 3), используя в качестве пробы ДНК нуклеиновые кислоты, экстрагированные сорбентным методом. Соответствующая электрофореграмма ПЦР-амплификации локуса *BoLA-DRB3*-гена представлена на рис. 6.

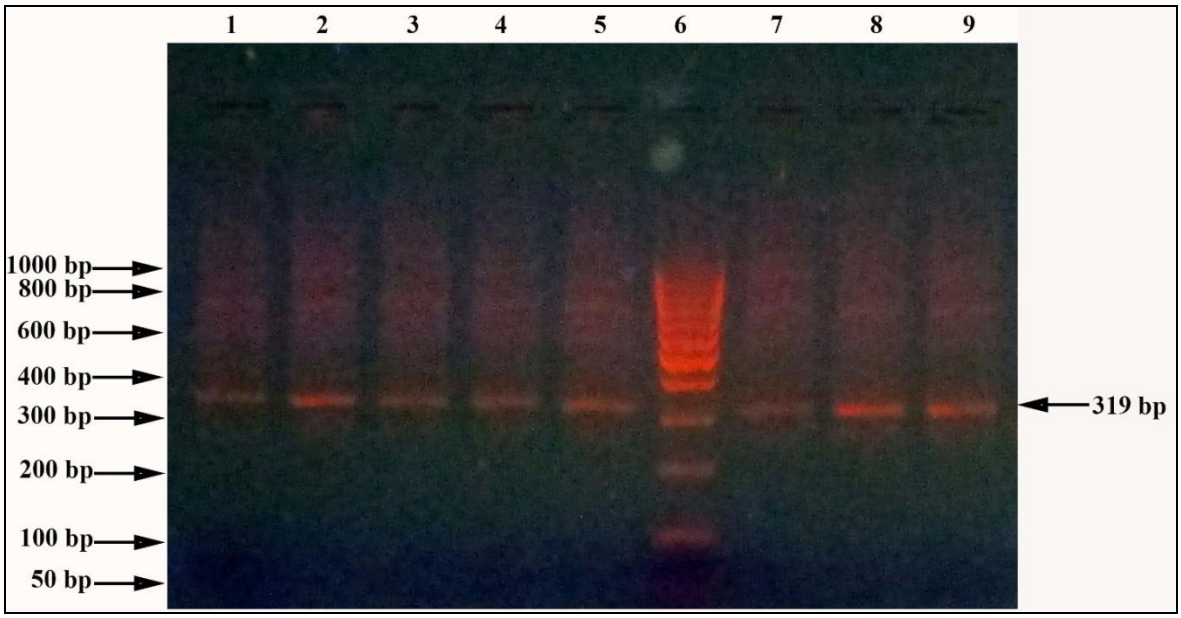

Рисунок 6 – Электрофореграмма результата ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus* (стандартный Encyclo буфер)

Обозначения: 1-5) ПЦР-пробы, амплифицированные в режиме термоциклирования № 2; 6) ДНК-маркеры 100 bp + 50 bp; 7-9) ПЦР-пробы, амплифицированные в режиме термоциклирования № 3.

Как видно из электрофореграммы рис. 6, использование в реакции стандартного Encyclo буфера также приводит к низкому выходу специфичного ПЦР-продукта, но уже на фоне шмера слабовыраженной интенсивности.

На заключительном этапе апробировали ПЦР с Encyclo GC буфером (табл. 2), рекомендуемым для работы со сложными для амплификации фрагментами, например, с фрагментами, богатыми GC участками, в постановке четвертого и пятого режима термоциклирования (табл. 3). Полученная в результате реакции электрофореграмма ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus* представлена на рис. 7.

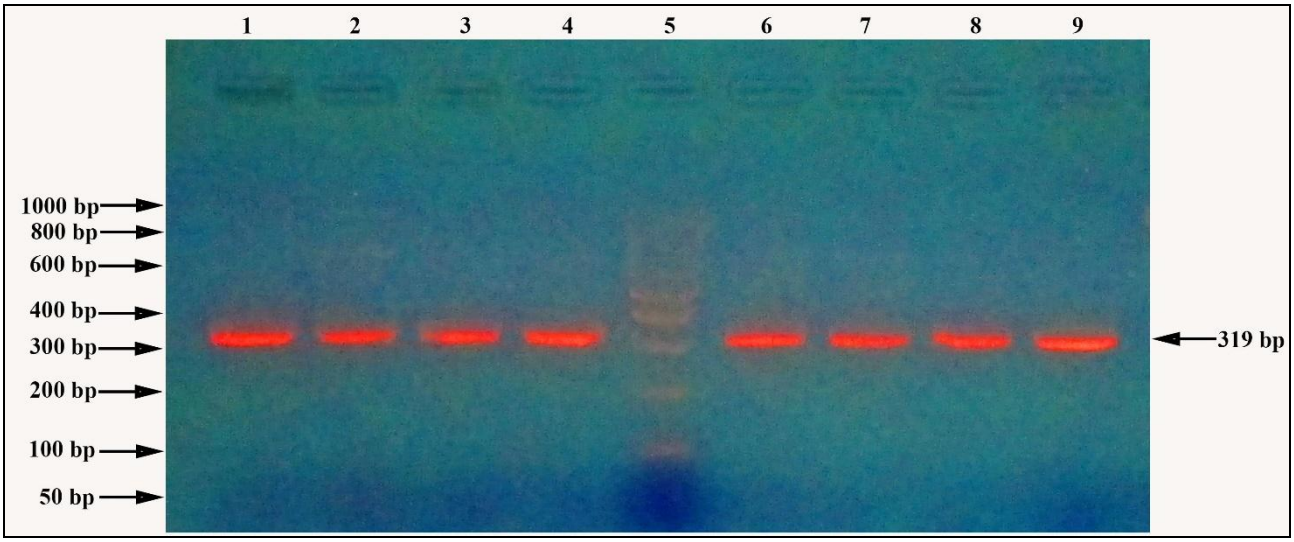

Рисунок 7 – Электрофореграмма результата ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus* (Encyclo GC буфер)

Обозначения: 1-4) ПЦР-пробы, амплифицированные в режиме термоциклирования №4; 5) ДНК-маркеры 100 bp + 50 bp; 6-9) ПЦР-пробы, амплифицированные в режиме термоциклирования №5.

Как видно из электрофореграммы рис. 7, применение в реакции Encyclo GC буфера обеспечивает сравнительно высокий выход специфичного ПЦР-продукта локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3* длиной 319 bp без образования шмеров и неспецифики.

Таким образом, установлено, что ПЦР с Encyclo GC буфером является наиболее оптимальным вариантом для накопления специфического продукта амплификации изучаемой мишени в сравнении с двумя другими буферами из набора реактивов «Encyclo Plus PCR kit».

2.2.4 Полиморфизм гена *BoLA-DRB3* и генетический статус выборки быков-производителей по отношению к лейкозу крупного рогатого скота

При проведении ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3* на уровне, пригодном для дальнейшей процедуры типирования методом секвенирования (SBT), получен специфичный ПЦР-продукт длиной 319 п.н. (рис. 8).

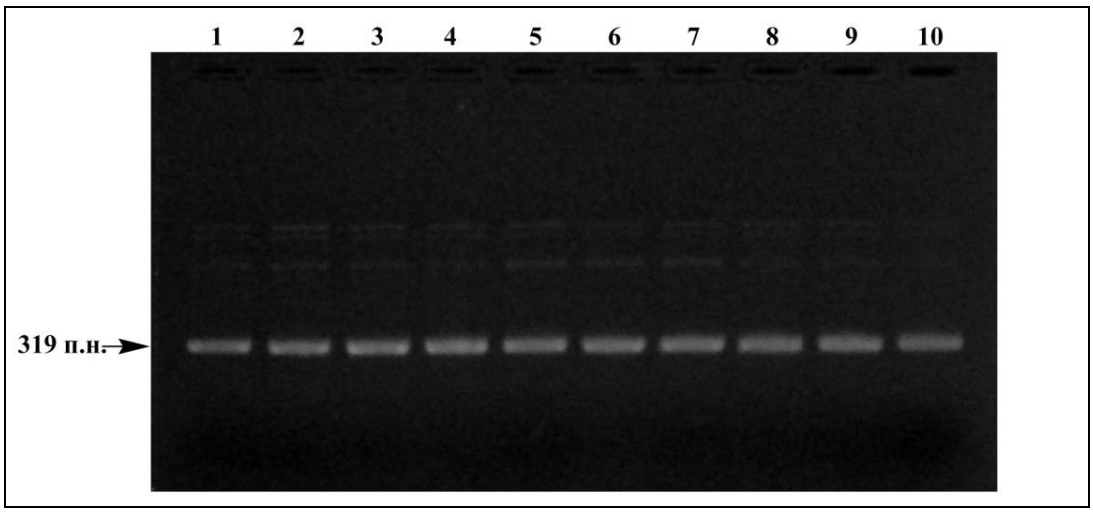

Рисунок 8 – Электрофореграмма результата ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus* длиной 319 п.н.

Последующей расшифровкой нуклеотидных последовательностей амплифицированной ДНК анализируемого локуса реализована стратегия *BoLA*-типирования методом секвенирования (SBT), обеспечившая оценку аллельного полиморфизма гена *BoLA-DRB3* в исследуемой выборке животных с установлением генотипической структуры анализируемой популяции в контексте генетической чувствительности и устойчивости к лейкозу крупного рогатого скота.

Развернутый результат выравнивания фланкируемых с праймерами DRB3FRW и DRB3REV нуклеотидных последовательностей аллелей (рис. 9) и генотипов (рис. 10) *BoLA-DRB3 Bos taurus* представлен на соответствующих рисунках. А сводный результат выравнивания, отражающий полиморфные нуклеотидные позиции аллелей (табл. 10) и генотипов (табл. 11) *BoLA-DRB3 Bos taurus* фланкируемой с праймерами DRB3FRW и DRB3REV области, представлен в соответствующих таблицах.

```
            Праймер DRB3FRW
*1201  001 CGCTCCTGTG ACCAGATCTA TCCTCTCTCT GCAGCACATT TCCTGGAGTA TACCAAGAAA
*1501  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T.C..GC
*1505  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T.C..GC
*1101  001 .......... .......... ....G..... .......... .....C.... .CAT...GGC
*0101  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T....GC
*0201  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T.C..GC
*0902  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T....GC
*2701  001 .......... .......... .......... .......... .......... .TAT....G.
*2703  001 .......... .......... .......... .......... .......... .TAT....G.
*0701  001 .......... .......... .......... .......... .......... .TGT....G.
*0501  001 .......... .......... ....G..... .......... .......... .CAT....GT
*1301  001 .......... .......... .......... .......... .......... .CTT....GC
*1001  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T....GC
*1601  001 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
*1701  001 .......... .......... .......... .......... .......... .G.T.C..GC
*3202  001 .......... .......... .......... .......... .......... .TGT....G.
*1801  001 .......... .......... .......... .......... .......... .G.T.C..GC
*3601  001 .......... .......... ....G..... .......... .......... .T.T....GC
*0801  001 .......... .......... .......... .......... .......... .G.T.C..GC
*14011 001 .......... .......... ....G..... .......... .....C.... .CAT...GGC
           ********** ********** **** ***** ********** ***** **** *   * *

*1201  061 GAGTGTCATT TCTTCAACGG GACCGAGCGG GTGCGGTTCC TGAACAGATA CTTCCATAAT
*1501  061 .......... .......... .......... .......A.. ..G....... ..........
*1505  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..........
*1101  061 .......... .......... .......... ........G. ..G.....C. ....T.....
*0101  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..A.AC....
*0201  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..........
*0902  061 .......... .......... .......... .......... ..G.G....C ....T.....
*2701  061 .......... .......... .......... .......... ..G......G ..........
*2703  061 .......... .......... .......... .......... ..G......G ..A.AC....
*0701  061 .......... .......... .......... .......... ..G......G ..........
*0501  061 .......... .......... .........T T......A.. ..G....... ....T.....
*1301  061 .......... .......... .......... .......... ..G.G..... ....T.....
*1001  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..........
*1601  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..........
*1701  061 .......... .......... .......... .......... ..C....... ....T.....
*3202  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ....T.....
*1801  061 .......... .......... .......... .......... ..C....... ..........
*3601  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..A.AC....
*0801  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..........
*14011 061 .......... .......... .......... ........G. ..G.....C. ....T.....
           ********** ********** *********   ******  * ** * ***   ** *  ****

*1201  121 GGAGAAGAGT TCGTGCGCTT CGACAGCGAC TGGGGCGAGT ACCGGGCGGT GACCGAGCTA
*1501  121 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
*1505  121 .......... .......... .......... .......... T......... ..........
*1101  121 .......... A......... .......... ....A..... T......... .........G
*0101  121 .........A C......... .......... .......... T......... .........G
*0201  121 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
*0902  121 .........A A......... .......... .......... .......... ..........
*2701  121 .......... .......... .......... .......... T......... ..........
*2703  121 .........A C......... .......... .......... T......... ..........
*0701  121 .......... .......... .......... .......... T......... ..........
*0501  121 .......... A......... .......... .......... .......... .........G
*1301  121 .......... A......... .......... .......... .......... ..........
*1001  121 .......... A......... .......... .......... .......... .........G
*1601  121 .......... .......... ...T...... .......... .......... ..........
*1701  121 .......... A..C...... .......... .......... T......... .........G
*3202  121 .......... A......... .......... .......... T......... .........G
*1801  121 .......... .......... .......... .......... T......... .........G
*3601  121 .........A C......... .......... .......... T.......T. .........G
*0801  121 .........C .......... .......... .......... T......... .........G
*14011 121 .......... .......... .......... ....A..... T......... .........G
           *********   ** ****** *** ****** **** *****  ******* * *********
```

```
*1201  181 GGGCGGCCGG ACGCCGAGTA CTGGAACAGC CAGAAGGAGA TCCTGGAGCG GGCGCGGGCC
*1501  181 .......G.. T.......C. G.T....G.. ........C. C......... ..A.......
*1505  181 .......G.. T.......C. T......G.. ........C. C......... ..A.......
*1101  181 .........T C......... .......... ........CT .......... .AG.......
*0101  181 .......A.. .......... .......... ........CT ........GA .AA.......
*0201  181 .......... .......... .......... ...G..A--- .......... ..........
*0902  181 .......... .......... .......... .......... ........GA .AG.......
*2701  181 .......... .......... .......... ........CT ........GA .AG.......
*2703  181 .......... .......... .......... ........CT ........GA .AG.......
*0701  181 .......GC. T.......C. G......... ........CT ........GA .AG.......
*0501  181 .......... .....A.... .......... .......... .......... .AA.......
*1301  181 .......... .....A.... .......... ........CT .G........ .AA.......
*1001  181 ....A..G.. T......... ...C...... ........CT .......... ..........
*1601  181 .......... .....A.... .......... ........CT ........GA .AA.......
*1701  181 .......... .....A.... .......... .......... .......... ..A.......
*3202  181 .......... .....A.... .......... .......... .......... ..A.......
*1801  181 .......... C.......C. G......... ........C. C......... ..A.......
*3601  181 .......A.. ........C. G......... ........C. C......... ..A.......
*0801  181 .........T C.....T.C. ..T....... ........CT ........GA C.A......T
*14011 181 .......... C.......C. G......... ........CT .........A .AA.......
           **** **     ****  * *  *  *** ** *** **       ******      ******

*1201  241 GCGGTGGACA CGTACTGCAG ACACAACTAC GGGGTCGGTG AGAGTTTCAC TGTGCAGCGG
*1501  241 TAT....... .......... .......... .......T.. .......... ..........
*1505  241 TAT....... .......... .......... .......T.. .......... ..........
*1101  241 .A........ ..GTG..... .......... .......TG. .......... ..........
*0101  241 .A........ G.GTG..... .......... ....GTATG. .......... ..........
*0201  248 .......... .......... .......... ....G..TG. .......... ..........
*0902  241 .A........ G.GTG..... .......... .......... .......... ..........
*2701  241 .A........ G.GTG..... .......... .......... .......... ..........
*2703  241 .A........ G.GTG..... .......... .......... .......... ..........
*0701  241 .A........ G.GTG..... .......... .......TG. .......... ..........
*0501  241 AAT....... .......... .......... .......T.. .......... ..........
*1301  241 AAT....... .......... .......... .......TG. .......... .......T..
*1001  241 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
*1601  241 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
*1701  241 TAT....... .......... .......... .......... .......... ..........
*3202  241 TAT....... .......... .......... .......TG. .......... ..........
*1801  241 TAT....... .......... .......... ....G..TG. .......... ..........
*3601  241 TAT....... .......... .......... ....G..TG. .......... ..........
*0801  241 T......... .......... .......... .......T.. .......... ..........
*14011 241 .A........ G.GTG..... .......... ....GT.TG. .......... ..........
              *******  *   ***** ********** ****     * ********** ******* **
```

Праймер DRB3REV **ПЦР-продукт**

```
*1201  301 CGAGGTGAGC GCGGGGGTG 319 bp
*1501  301 .......... ......... 319 bp
*1505  301 .......... ......... 319 bp
*1101  301 .......... ......... 319 bp
*0101  301 .......... ......... 319 bp
*0201  298 .......... ......... 316 bp
*0902  301 .......... ......... 319 bp
*2701  301 .......... ......... 319 bp
*2703  301 .......... ......... 319 bp
*0701  301 .......... ......... 319 bp
*0501  301 .......... ......... 319 bp
*1301  301 .......... ......... 319 bp
*1001  301 .......... ......... 319 bp
*1601  301 .......... ......... 319 bp
*1701  301 .......... ......... 319 bp
*3202  301 .......... ......... 319 bp
*1801  301 .......... ......... 319 bp
*3601  301 .......... ......... 319 bp
*0801  301 .......... ......... 319 bp
*14011 301 .......... ......... 319 bp
           ********** *********
```

Рисунок 9 – Выравнивание фланкируемых с праймерами DRB3FRW и DRB3REV нуклеотидных последовательностей аллелей *BoLA-DRB3 Bos taurus*

```
*1201/*1201  001 CGCTCCTGTG ACCAGATCTA TCCTCTCTCT GCAGCACATT TCCTGGAGTA TACCAAGAAA
*1201/*1501  001 .......... .......... .......... .......... .......... .W.Y.M..RM
*1201/*1505  001 .......... .......... .......... .......... .......... .W.Y.M..RM
*1201/*1101  001 .......... .......... ....S..... .......... .....S.... .MMY...RRM
*1201/*0101  001 .......... .......... .......... .......... .......... .W.Y....RM
*1501/*1101  001 .......... .......... ....S..... .......... .....S.... .YMT.M.RGC
*1501/*0101  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T.M..GC
*1101/*0101  001 .......... .......... ....S..... .......... .....S.... .YMT...RGC
*0101/*0101  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T....GC
*1201/*1301  001 .......... .......... .......... .......... .......... .MYY....RM
*1501/*1001  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T.M..GC
*0101/*1001  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T....GC
*1201/*1001  001 .......... .......... .......... .......... .......... .W.Y....RM
*1201/*14011 001 .......... .......... ....S..... .......... .....S.... .MMY...RRM
*0101/*1701  001 .......... .......... .......... .......... .......... .K.T.M..GC
*1501/*14011 001 .......... .......... .......... .......... .......... .YMT.M.RGC
*1101/*14011 001 .......... .......... ....S..... .......... .....S.... .CAT...GGC
*0101/*1801  001 .......... .......... .......... .......... .......... .K.T.M..GC
*0101/*14011 001 .......... .......... ....S..... .......... .....S.... .YMT...RGC
*0501/*1601  001 .......... .......... ....S..... .......... .......... .MMY....RW
*1001/*1001  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T....GC
*1001/*3601  001 .......... .......... ....S..... .......... .......... .T.T....GC
*1001/*14011 001 .......... .......... ....S..... .......... .....S.... .YMT...RGC
*1601/*1601  001 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
*1601/*0801  001 .......... .......... .......... .......... .......... .R.Y.M..RM
*3202/*0801  001 .......... .......... .......... .......... .......... .KST.M..GM
*1801/*0801  001 .......... .......... .......... .......... .......... .G.T.C..GC
*0201/*0501  001 .......... .......... ....S..... .......... .......... .YMT.M..GY
*0902/*0801  001 .......... .......... .......... .......... .......... .K.T.M..GC
*2701/*1001  001 .......... .......... .......... .......... .......... .TMT....GM
*2703/*1801  001 .......... .......... .......... .......... .......... .KMT.M..GM
*2701/*0801  001 .......... .......... .......... .......... .......... .KMT.M..GM
*0201/*1201  001 .......... .......... .......... .......... .......... .W.Y.M..RM
*0201/*1501  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T.C..GC
*0902/*1201  001 .......... .......... .......... .......... .......... .W.Y....RM
*0902/*0101  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T....GC
*2701/*1201  001 .......... .......... .......... .......... .......... .WMY....R.
*2703/*1201  001 .......... .......... .......... .......... .......... .WMY....R.
*2703/*0101  001 .......... .......... .......... .......... .......... .TMT....GM
*0701/*1501  001 .......... .......... .......... .......... .......... .TST.M..GM
*0701/*0101  001 .......... .......... .......... .......... .......... .TST....GM
*0201/*0201  001 .......... .......... .......... .......... .......... .T.T.C..GC
*0902/*0701  001 .......... .......... .......... .......... .......... .TRT....GM
                 ********** ********** **** ***** ********** ***** **** *   * *

*1201/*1201  061 GAGTGTCATT TCTTCAACGG GACCGAGCGG GTGCGGTTCC TGAACAGATA CTTCCATAAT
*1201/*1501  061 .......... .......... .......... .......W.. ..R....... ..........
*1201/*1505  061 .......... .......... .......... .......... ..R....... ..........
*1201/*1101  061 .......... .......... .......... ........S. ..R.....Y. ....Y.....
*1201/*0101  061 .......... .......... .......... .......... ..R....... ..W.MM....
*1501/*1101  061 .......... .......... .......... .......WS. ..G.....Y. ....Y.....
*1501/*0101  061 .......... .......... .......... .......W.. ..G....... ..W.MM....
*1101/*0101  061 .......... .......... .......... ........S. ..G.....Y. ..W.WM....
*0101/*0101  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..A.AC....
*1201/*1301  061 .......... .......... .......... .......... ..R.S..... ....Y.....
*1501/*1001  061 .......... .......... .......... .......W.. ..G....... ..........
*0101/*1001  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..W.MM....
*1201/*1001  061 .......... .......... .......... .......... ..R....... ..........
*1201/*14011 061 .......... .......... .......... ........S. ..R.....Y. ....Y.....
*0101/*1701  061 .......... .......... .......... .......... ..S....... ..W.WM....
*1501/*14011 061 .......... .......... .......... .......WS. ..G.....Y. ....Y.....
*1101/*14011 061 .......... .......... .......... ........G. ..G.....C. ....T.....
*0101/*1801  061 .......... .......... .......... .......... ..S....... ..W.MM....
*0101/*14011 061 .......... .......... .......... ........S. ..G.....Y. ..W.WM....
*0501/*1601  061 .......... .......... .........K K......W.. ..G....... ....Y.....
*1001/*1001  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..........
*1001/*3601  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..W.MM....
```

```
*1001/*14011 061 .......... .......... .......... ........S. ..G.....Y. ....Y.....
*1601/*1601  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..........
*1601/*0801  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..........
*3202/*0801  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ....Y.....
*1801/*0801  061 .......... .......... .......... .......... ..S....... ..........
*0201/*0501  061 .......... .......... .........K K......W.. ..G....... ....Y.....
*0902/*0801  061 .......... .......... .......... .......... ..G.S....M ....Y.....
*2703/*1001  061 .......... .......... .......... .......... ..G......R ..W.MM....
*2703/*1801  061 .......... .......... .......... .......... ..S......R ..W.MM....
*2701/*0801  061 .......... .......... .......... .......... ..G......R ..........
*0201/*1201  061 .......... .......... .......... .......... ..R....... ..........
*0201/*1501  061 .......... .......... .......... .......W.. ..G....... ..........
*0902/*1201  061 .......... .......... .......... .......... ..R.S....M ....Y.....
*0902/*0101  061 .......... .......... .......... .......... ..G.S....M ..W.WM....
*2701/*1201  061 .......... .......... .......... .......... ..R......R ..........
*2703/*1201  061 .......... .......... .......... .......... ..R......R ..W.MM....
*2703/*0101  061 .......... .......... .......... .......... ..G......R ..A.AC....
*0701/*1501  061 .......... .......... .......... .......... ..G......R ..........
*0701/*0101  061 .......... .......... .......... .......... ..G......R ..W.MM....
*0201/*0201  061 .......... .......... .......... .......... ..G....... ..........
*0902/*0701  061 .......... .......... .......... .......... ..G.S....S ....Y.....
                 ********** ********** *********   ******  * ** * ***   ** *  ****

*1201/*1201  121 GGAGAAGAGT TCGTGCGCTT CGACAGCGAC TGGGGCGAGT ACCGGGCGGT GACCGAGCTA
*1201/*1501  121 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
*1201/*1505  121 .......... .......... .......... .......... W......... ..........
*1201/*1101  121 .......... W......... .......... ....R..... W......... .........R
*1201/*0101  121 .........W Y......... .......... .......... W......... .........R
*1501/*1101  121 .......... W......... .......... ....R..... W......... .........R
*1501/*0101  121 .........W Y......... .......... .......... W......... .........R
*1101/*0101  121 .........W M......... .......... ....R..... T......... .........G
*0101/*0101  121 .........A C......... .......... .......... T......... .........G
*1201/*1301  121 .......... W......... .......... .......... .......... ..........
*1501/*1001  121 .......... W......... .......... .......... .......... .........R
*0101/*1001  121 .........W M......... .......... .......... W......... .........G
*1201/*1001  121 .......... W......... .......... .......... .......... .........R
*1201/*14011 121 .......... .......... .......... ....R..... W......... .........R
*0101/*1701  121 .........W M..Y...... .......... .......... T......... .........G
*1501/*14011 121 .......... .......... .......... ....R..... W......... .........R
*1101/*14011 121 .......... W......... .......... ....A..... T......... .........G
*0101/*1801  121 .........W Y......... .......... .......... T......... .........G
*0101/*14011 121 .........W Y......... .......... ....R..... T......... .........G
*0501/*1601  121 .......... W......... ...Y...... .......... .......... .........R
*1001/*1001  121 .......... A......... .......... .......... .......... .........G
*1001/*3601  121 .........W M......... .......... .......... W.......K. .........G
*1001/*14011 121 .......... W......... .......... ....R..... W......... .........G
*1601/*1601  121 .......... .......... ...T...... .......... .......... ..........
*1601/*0801  121 .........Y .......... ...Y...... .......... W......... .........R
*3202/*0801  121 .........Y W......... .......... .......... T......... .........G
*1801/*0801  121 .........Y .......... .......... .......... T......... .........G
*0201/*0501  121 .......... W......... .......... .......... .......... .........R
*0902/*0801  121 .........M W......... .......... .......... W......... .........R
*2703/*1001  121 .........W M......... .......... .......... W......... .........R
*2703/*1801  121 .........W Y......... .......... .......... T......... .........R
*2701/*0801  121 .........Y .......... .......... .......... T......... .........R
*0201/*1201  121 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
*0201/*1501  121 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
*0902/*1201  121 .........W W......... .......... .......... .......... ..........
*0902/*0101  121 .........A M......... .......... .......... W......... .........R
*2701/*1201  121 .......... .......... .......... .......... W......... ..........
*2703/*1201  121 .........W Y......... .......... .......... W......... ..........
*2703/*0101  121 .........A C......... .......... .......... T......... .........R
*0701/*1501  121 .......... .......... .......... .......... W......... ..........
*0701/*0101  121 .........W Y......... .......... .......... T......... .........R
*0201/*0201  121 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
*0902/*0701  121 .........W W......... .......... .......... W......... ..........
                 *********   ** ****** *** ****** **** *****  ******* * *********
```

```
*1201/*1201  181 GGGCGGCCGG ACGCCGAGTA CTGGAACAGC CAGAAGGAGA TCCTGGAGCG GGCGCGGGCC
*1201/*1501  181 .......S.. W......Y. S.K....R.. ........S. Y......... ..M.......
*1201/*1505  181 .......S.. W......Y. Y......R.. ........S. Y......... ..M.......
*1201/*1101  181 .........K M......... .......... ........SW .......... .RS.......
*1201/*0101  181 .......M.. .......... .......... ........SW ........SR .RM.......
*1501/*1101  181 .......S.K Y......Y. S.K....R.. ........CW Y......... .RR.......
*1501/*0101  181 .......R.. W......Y. S.K....R.. ........CW Y.......SR .RA.......
*1101/*0101  181 .......M.K M......... .......... ........CT ........SR .AR.......
*0101/*0101  181 .......A.. .......... .......... ........CT ........GA .AA.......
*1201/*1301  181 .......... .....R.... .......... ........SW .S........ .RM.......
*1501/*1001  181 ....R..G.. T......Y. S.KS...R.. ........CW Y......... ..M.......
*0101/*1001  181 ....R..R.. W......... ...S...... ........CT ........SR .RM.......
*1201/*1001  181 ....R..S.. W......... ...S...... ........SW .......... ..........
*1201/*14011 181 .......... M......Y. S......... ........SW .........R .RM.......
*0101/*1701  181 .......M.. .....R.... .......... ........SW ........SR .RM.......
*1501/*14011 181 .......S.. Y......C. G.K....R.. ........CW Y........R .RA.......
*1101/*14011 181 .........K C......Y. S......... ........CT .........R .AR.......
*0101/*1801  181 .......M.. M......Y. S......... ........CW Y.......SR .RA.......
*0101/*14011 181 .......M.. M......Y. S......... ........CT ........SA .AA.......
*0501/*1601  181 .......... .....A.... .......... ........SW ........SR .AA.......
*1001/*1001  181 ....A..G.. T......... ...C...... ........CT .......... ..........
*1001/*3601  181 ....R..R.. W......Y. S..S...... ........CW Y......... ..M.......
*1001/*14011 181 ....R..S.. Y......Y. S..S...... ........CT .........R .RM.......
*1601/*1601  181 .......... .....A.... .......... ........CT ........GA .AA.......
*1601/*0801  181 .........K M....RW.Y. ..K....... ........CT ........GA SRA......Y
*3202/*0801  181 .........K M....RW.Y. ..K....... ........SW ........SR S.A......Y
*1801/*0801  181 .........K C.....W.C. S.K....... ........CW Y.......SR S.A......Y
*0201/*0501  181 .......... .....R.... .......... ...R..R--- .......... .RM.......
*0902/*0801  181 .........K M.....W.Y. ..K....... ........SW ........GA SRR......Y
*2703/*1001  181 ....R..S.. W......... ...S...... ........CT ........SR .RS.......
*2703/*1801  181 .......... M......Y. S......... ........CW Y.......SR .RR.......
*2701/*0801  181 .........K M.....W.Y. ..K....... ........CT ........GA SRR......Y
*0201/*1201  181 .......... .......... .......... ...R..R--- .......... ..........
*0201/*1501  181 .......S.. W......Y. S.K....R.. ...R..R--- Y......... ..M.......
*0902/*1201  181 .......... .......... .......... .......... ........SR .RS.......
*0902/*0101  181 .......M.. .......... .......... ........SW ........GA .AR.......
*2701/*1201  181 .......... .......... .......... ........SW ........SR .RS.......
*2703/*1201  181 .......... .......... .......... ........SW ........SR .RS.......
*2703/*0101  181 .......M.. .......... .......... ........CT ........GA .AR.......
*0701/*1501  181 .......GS. T......C. G.K....R.. ........CW Y.......SR .RR.......
*0701/*0101  181 .......RS. W......Y. S......... ........CT ........GA .AR.......
*0201/*0201  181 .......... .......... .......... ...G..A--- .......... ..........
*0902/*0701  181 .......SS. W......Y. S......... ........SW ........GA .AG.......
                 **** **     ****  * *  *  *** ** *** **       ******      ******

*1201/*1201  241 GCGGTGGACA CGTACTGCAG ACACAACTAC GGGGTCGGTG AGAGTTTCAC TGTGCAGCGG
*1201/*1501  241 KMK....... .......... .......... .......K.. .......... ..........
*1201/*1505  241 KMK....... .......... .......... .......K.. .......... ..........
*1201/*1101  241 .M........ ..KWS..... .......... .......KK. .......... ..........
*1201/*0101  241 .M........ S.KWS..... .......... ....KYRKK. .......... ..........
*1501/*1101  241 KAK....... ..KWS..... .......... .......TK. .......... ..........
*1501/*0101  241 KAK....... S.KWS..... .......... ....KYRTK. .......... ..........
*1101/*0101  241 .A........ S.GTG..... .......... ....KYRTG. .......... ..........
*0101/*0101  241 .A........ G.GTG..... .......... ....GTATG. .......... ..........
*1201/*1301  241 RMK....... .......... .......... .......KK. .......... .......Y..
*1501/*1001  241 KMK....... .......... .......... .......K.. .......... ..........
*0101/*1001  241 .M........ S.KWS..... .......... ....KYRKK. .......... ..........
*1201/*1001  241 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
*1201/*14011 241 .M........ S.KWS..... .......... ....KY.KK. .......... ..........
*0101/*1701  241 KAK....... S.KWS..... .......... ....KYRKK. .......... ..........
*1501/*14011 241 KAK....... S.KWS..... .......... ....KY.TK. .......... ..........
*1101/*14011 241 .A........ S.GTG..... .......... ....KY.TG. .......... ..........
*0101/*1801  241 KAK....... S.KWS..... .......... ....GYRTG. .......... ..........
*0101/*14011 241 .A........ G.GTG..... .......... ....GTRTG. .......... ..........
*0501/*1601  241 RMK....... .......... .......... .......K.. .......... ..........
*1001/*1001  241 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
*1001/*3601  241 KMK....... .......... .......... ....K..KK. .......... ..........
*1001/*14011 241 .M........ S.KWS..... .......... ....KY.KK. .......... ..........
```

```
*1601/*1601  241 .......... .......... .......... .......... .......... ..........
*1601/*0801  241 K......... .......... .......... .......K.. .......... ..........
*3202/*0801  241 TMK....... .......... .......... .......TK. .......... ..........
*1801/*0801  241 TMK....... .......... .......... ....K..TK. .......... ..........
*0201/*0501  248 RMK....... .......... .......... ....K..TK. .......... ..........
*0902/*0801  241 KM........ S.KWS..... .......... .......K.. .......... ..........
*2703/*1001  241 .M........ S.KWS..... .......... .......... .......... ..........
*2703/*1801  241 KAK....... S.KWS..... .......... ....K..KK. .......... ..........
*2701/*0801  241 KM........ S.KWS..... .......... .......K.. .......... ..........
*0201/*1201  248 .......... .......... .......... ....K..KK. .......... ..........
*0201/*1501  248 KMK....... .......... .......... ....K..TK. .......... ..........
*0902/*1201  241 .M........ S.KWS..... .......... .......... .......... ..........
*0902/*0101  241 .A........ G.GTG..... .......... ....KYRKK. .......... ..........
*2701/*1201  241 .M........ S.KWS..... .......... .......... .......... ..........
*2703/*1201  241 .M........ S.KWS..... .......... .......... .......... ..........
*2703/*0101  241 .A........ G.GTG..... .......... ....KYRKK. .......... ..........
*0701/*1501  241 KAK....... S.KWS..... .......... .......TK. .......... ..........
*0701/*0101  241 .A........ G.GTG..... .......... ....KYRTG. .......... ..........
*0201/*0201  248 .......... .......... .......... ....G..TG. .......... ..........
*0902/*0701  241 .A........ G.GTG..... .......... .......KK. .......... ..........
                    *******  *   ***** ********** ****     * ********** ******* **

*1201/*1201  301 CGAGGTGAGC GCGGGGGTG 319 bp
*1201/*1501  301 .......... ......... 319 bp
*1201/*1505  301 .......... ......... 319 bp
*1201/*1101  301 .......... ......... 319 bp
*1201/*0101  301 .......... ......... 319 bp
*1501/*1101  301 .......... ......... 319 bp
*1501/*0101  301 .......... ......... 319 bp
*1101/*0101  301 .......... ......... 319 bp
*0101/*0101  301 .......... ......... 319 bp
*1201/*1301  301 .......... ......... 319 bp
*1501/*1001  301 .......... ......... 319 bp
*0101/*1001  301 .......... ......... 319 bp
*1201/*1001  301 .......... ......... 319 bp
*1201/*14011 301 .......... ......... 319 bp
*0101/*1701  301 .......... ......... 319 bp
*1501/*14011 301 .......... ......... 319 bp
*1101/*14011 301 .......... ......... 319 bp
*0101/*1801  301 .......... ......... 319 bp
*0101/*14011 301 .......... ......... 319 bp
*0501/*1601  301 .......... ......... 319 bp
*1001/*1001  301 .......... ......... 319 bp
*1001/*3601  301 .......... ......... 319 bp
*1001/*14011 301 .......... ......... 319 bp
*1601/*1601  301 .......... ......... 319 bp
*1601/*0801  301 .......... ......... 319 bp
*3202/*0801  301 .......... ......... 319 bp
*1801/*0801  301 .......... ......... 319 bp
*0201/*0501  298 .......... ......... 316/319 bp
*0902/*0801  301 .......... ......... 319 bp
*2703/*1001  301 .......... ......... 319 bp
*2703/*1801  301 .......... ......... 319 bp
*2701/*0801  301 .......... ......... 319 bp
*0201/*1201  298 .......... ......... 316/319 bp
*0201/*1501  298 .......... ......... 316/319 bp
*0902/*1201  301 .......... ......... 319 bp
*0902/*0101  301 .......... ......... 319 bp
*2701/*1201  301 .......... ......... 319 bp
*2703/*1201  301 .......... ......... 319 bp
*2703/*0101  301 .......... ......... 319 bp
*0701/*1501  301 .......... ......... 319 bp
*0701/*0101  301 .......... ......... 319 bp
*0201/*0201  298 .......... ......... 316 bp
*0902/*0701  301 .......... ......... 319 bp
                 ********** *********
```

Рисунок 10 – Выравнивание фланкируемых с праймерами DRB3FRW и DRB3REV нуклеотидных последовательностей генотипов *BoLA-DRB3 Bos Taurus*

Таблица 10 – Полиморфные нуклеотидные позиции аллелей *BoLA-DRB3 Bos taurus* фланкируемой с праймерами DRB3FRW и DRB3REV области

Аллель *BoLA-DRB3*	**Полиморфные нуклеотидные позиции (SNP)**																																
	025	**046**	**052**	**053**	**054**	**056**	**058**	**059**	**060**	**090**	**091**	**098**	**099**	**103**	**105**	**109**	**110**	**113**	**115**	**116**	**130**	**131**	**134**	**144**	**155**	**161**	**169**	**180**	**185**	**188**	**189**	**190**	**191**
***1201**	C	G	A	C	C	A	A	A	A	G	G	T	C	A	C	T	A	T	C	A	T	T	T	C	G	A	G	A	G	C	G	G	A
***1501**	.	.	T	.	T	C	.	G	C	.	.	A	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	T
***1505**	.	.	T	.	T	C	.	G	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	G	.	.	T
***1101**	G	C	C	A	T	.	G	G	C	.	.	.	G	G	.	C	.	.	T	.	.	A	.	.	A	T	.	G	.	.	.	T	C
***0101**	.	.	T	.	T	.	.	G	C	.	.	.	.	G	.	.	.	A	A	C	A	C	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.
***0201**	.	.	T	.	T	C	.	G	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
***0902**	.	.	T	.	T	.	.	G	C	.	.	.	.	G	G	.	C	.	T	.	A	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
***2701**	.	.	T	A	T	.	.	G	.	.	.	.	.	G	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
***2703**	.	.	T	A	T	.	.	G	.	.	.	.	.	G	.	.	G	A	A	C	A	C	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.
***0701**	.	.	T	G	T	.	.	G	.	.	.	.	.	G	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	G	C	.	T
***0501**	G	.	C	A	T	.	.	G	T	T	T	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	A	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.
***1301**	.	.	C	T	T	.	.	G	C	.	.	.	.	G	G	.	.	.	T	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
***1001**	.	.	T	.	T	.	.	G	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	G	A	G	.	.	T
***1601**	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.
***1701**	.	.	G	.	T	C	.	G	C	.	.	.	.	C	.	.	.	.	T	.	.	A	C	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.
***3202**	.	.	T	G	T	.	.	G	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	T	.	.	A	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	.
***1801**	.	.	G	.	T	C	.	G	C	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	G	.	.	.	.	C
***3601**	G	.	T	.	T	.	.	G	C	.	.	.	.	G	.	.	.	A	A	C	A	C	.	.	.	T	T	G	.	A	.	.	.
***0801**	.	.	G	.	T	C	.	G	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	T	.	G	.	.	.	T	C
***14011**	G	C	C	A	T	.	G	G	C	.	.	.	G	G	.	C	.	.	T	.	.	.	.	.	A	T	.	G	.	.	.	.	C

Аллель *BoLA-DRB3*	**Полиморфные нуклеотидные позиции (SNP)**																																
	196	**197**	**199**	**201**	**203**	**204**	**208**	**214**	**217**	**218**	**219**	**220**	**221**	**222**	**229**	**230**	**231**	**232**	**233**	**240**	**241**	**242**	**243**	**251**	**253**	**254**	**255**	**275**	**276**	**277**	**278**	**279**	**298**
***1201**	G	A	T	C	G	G	A	A	G	A	G	A	T	C	C	G	G	G	C	C	G	C	G	C	T	A	C	T	C	G	G	T	C
***1501**	.	.	C	G	T	.	G	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	A	.	T	A	T	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.
***1505**	.	.	C	T	.	.	G	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	A	.	T	A	T	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.
***1101**	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	C	T	.	.	.	.	.	A	G	.	.	A	.	.	G	T	G	.	.	.	T	G	.
***0101**	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	T	.	.	G	A	.	A	A	.	.	A	.	G	G	T	G	G	T	A	T	G	.
***0201**	.	.	.	.	.	.	.	G	A	-	-	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	T	G	.
***0902**	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	A	.	A	G	.	.	A	.	G	G	T	G	.	.	.	.	.	.
***2701**	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	T	.	.	G	A	.	A	G	.	.	A	.	G	G	T	G	.	.	.	.	.	.
***2703**	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	T	.	.	G	A	.	A	G	.	.	A	.	G	G	T	G	.	.	.	.	.	.
***0701**	.	.	C	G	.	.	.	.	.	.	C	T	.	.	G	A	.	A	G	.	.	A	.	G	G	T	G	.	.	.	T	G	.
***0501**	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	A	A	T	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.
***1301**	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	T	.	G	.	.	.	A	A	.	A	A	T	.	.	.	.	.	.	.	T	G	T
***1001**	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	C	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
***1601**	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	T	.	.	G	A	.	A	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
***1701**	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	T	A	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
***3202**	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	T	A	T	.	.	.	.	.	.	.	T	G	.
***1801**	.	.	C	G	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	A	.	T	A	T	.	.	.	.	G	.	.	T	G	.
***3601**	.	.	C	G	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	A	.	T	A	T	.	.	.	.	G	.	.	T	G	.
***0801**	.	T	C	.	T	.	.	.	.	.	C	T	.	.	G	A	C	.	A	T	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.
***14011**	.	.	C	G	.	.	.	.	.	.	C	T	.	.	.	A	.	A	A	.	.	A	.	G	G	T	G	G	T	.	T	G	.

Примечание: A – аденин; T – тимин; G – гуанин; C – цитозин; «-» – делеция

Таблица 11 – Полиморфные нуклеотидные позиции генотипов *BoLA-DRB3 Bos taurus* фланкируемой с праймерами DRB3FRW и DRB3REV области

| Генотип BoLA-DRB3 | Полиморфные нуклеотидные позиции SNP | | |

Сравнительный анализ распределения частот аллелей гена *BoLA-DRB3*, ассоциированных с восприимчивостью и резистентностью к лейкозу крупного рогатого скота в исследуемой выборке быков-производителей, представлен в табл. 12.

Таблица 12 – Частота встречаемости аллелей гена *BoLA-DRB3* в выборке быков производителей ГУП ГПП "Элита" Высокогорского района Республики Татарстан

№ аллеля	Количество животных-носителей определенных аллелей *BoLA-DRB3*		Количество определенных аллелей	Частота аллелей, %	
				"Элита" (n=68)	
Ч-аллели, определяющие чувствительность к лейкозу крупного рогатого скота					
*8 (*1201)	15	55,2	17	12,5	55,88
*16 (*1501, *1505)	17		17	12,5	
*22 (*1101)	9		9	6,62	
*24 (*0101)	28		33	24,26	
У-аллели, определяющие устойчивость к лейкозу крупного рогатого скота					
*7 (*0201)	4	16	5	3,68	15,45
*11 (*0902)	5		5	3,68	
*23 (*2701, *2703)	8		8	5,88	
*28 (*0701)	3		3	2,21	
Н-аллели, нейтральные по отношению к лейкозу крупного рогатого скота					
*1 (*0501)	2	28,8	2	1,47	28,67
*2 (*1301)	1		1	0,73	
*3 (*1001)	10		11	8,09	
*10 (*1601)	4		6	4,41	
*12 (*1701, *3202)	2		2	1,47	
*18 (*1801)	3		3	2,21	
*20 (*3601)	1		1	0,73	
*21 (*0801)	5		5	3,68	
*27 (*14011)	8		8	5,88	
Всего	125	100 %	136	100 %	

Группа Ч-аллелей, определяющих чувствительность к лейкозу крупного рогатого скота, представлена четырьмя аллелями: *8, *16, *22, *24, с частотой встречаемости в диапазоне 6,62-24,26 %; при этом, наименьшей частотой встречаемости обладает аллель *22, наибольшей – аллель *24. Суммарная доля частоты встречаемости данной группы аллелей составила 55,88 %, с присутствием указанных аллелей в генотипе 55,2 % быков-производителей.

Группа У-аллелей, определяющих устойчивость к лейкозу крупного рогатого скота, представлена четырьмя аллелями: *7, *11, *23, *28, с частотой

встречаемости в диапазоне 2,21-5,88 %; наименьшая частота встречаемости отмечена у аллеля *28, наибольшая – у аллеля *23. Суммарная доля частоты встречаемости данной группы аллелей составила 15,45 %. Перечисленные аллели присутствуют в генотипе 16 % быков-производителей.

Группа Н-аллелей, нейтральных по отношению к лейкозу крупного рогатого скота, представлена девятью аллелями: *1, *2, *3, *10, *12, *18, *20, *21, *27, с частотой встречаемости в диапазоне 0,73-8,09 %; наименьшей частотой встречаемости обладает аллель *2, наибольшей – аллель *3. Суммарная доля частоты встречаемости данной группы аллелей составила 28,67 %, с присутствием указанных аллелей в генотипе 28,8 % быков-производителей.

В общей сложности в генотипированной выборке (n=68) быков-производителей идентифицировано 17 аллелей гена *BoLA-DRB3* с различной частотой их встречаемости (табл. 12, рис. 11).

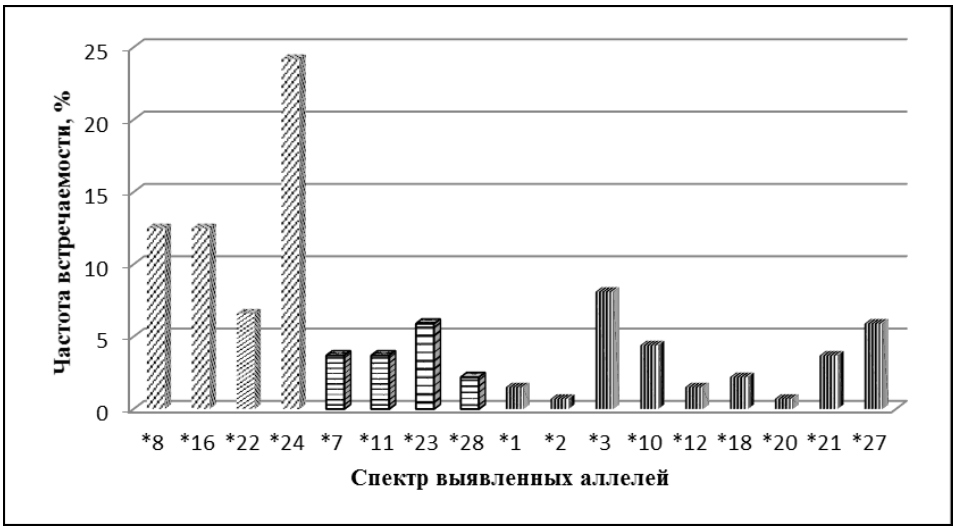

Рисунок 11 – Распределение аллелей гена *BoLA-DRB3* в исследуемой выборке быков-производителей

Распределение представленных аллелей (табл. 12, рис. 11) в порядке убывания частоты их встречаемости имеет следующую конфигурацию:

24>*8=*16>*3>*22>*23=*27>*10>*7=*11=*21>*18=*28>*1=12>*2=*20.

Так, максимальная частота встречаемости выявлена у аллеля *24, а минимальная у аллелей *2 и *20, соответственно.

Распределение групп аллелей (Ч, У, Н) в порядке убывания суммарной доли частоты их встречаемости имеет следующую конфигурацию: Ч>Н>У.

При этом три из четырех Ч-алелей: *24, *8 и *16 находятся в верхних пределах интервала значений частот встречаемости, а четыре из девяти выявленных Н-аллелей: *20, *2, *1, *12 – в нижних пределах, соответственно. Однако, по суммарной доле частоты встречаемости групп аллелей наименьший показатель был у группы У-аллелей (15,45 %), существенно уступавшей группе Ч-аллелей (55,88 %) и группе Н-аллелей (28,67 %), соответственно.

Сравнительный анализ распределения частот генотипов по гену *BoLA-DRB3*, ассоциированных с восприимчивостью и резистентностью к лейкозу крупного рогатого скота в исследуемой выборке быков-производителей, представлен в табл. 13.

Таблица 13 – Частота встречаемости генотипов и их ассоциированных групп по гену *BoLA-DRB3* в выборке быков-производителей ГУП ГПП «Элита» Высокогорского района Республики Татарстан

Ассоциированная группа	Генотип	Количество n=68	Частота встречаемости генотипов, %	
Ч/Ч	8/8	2	2,94	36,76
	8/16	2	2,94	
	8/22	3	4,41	
	8/24	1	1,47	
	16/22	1	1,47	
	16/24	8	11,8	
	22/24	3	4,41	
	24/24	5	7,35	
Ч/Н	8/2	1	1,47	22,06
	8/3	1	1,47	
	8/27	1	1,47	
	16/3	2	2,94	
	16/27	2	2,94	
	22/27	2	2,94	
	24/3	2	2,94	
	24/12	1	1.47	
	24/18	1	1,47	
	24/27	2	2.94	
Н/Н	1/10	1	1,47	13,24
	3/3	1	1,47	
	3/20	1	1,47	
	3/27	1	1,47	
	10/10	2	2,94	
	10/21	1	1,47	
	12/21	1	1,47	
	18/21	1	1,47	
У/Н	7/1	1	1,47	8,82

	11/21	1	1,47	
	23/3	2	2,94	
	23/18	1	1,47	
	23/21	1	1,47	
У/Ч	7/8	1	1,47	16,18
	7/16	1	1,47	
	11/8	1	1,47	
	11/24	2	2,94	
	23/8	2	2,94	
	23/24	2	2,94	
	28/16	1	1,47	
	28/24	1	1,47	
У/У	7/7	1	1,47	2,94
	11/28	1	1,47	
N(hm)		11		
N(ht)		57		
H_o		0,838		
He		0,867		
D		-0,0323		
$\chi 2$		0,000905		

Примечание: N(hm) – количество гомозигот в выборке. N(ht) – количество гетерозигот в выборке. H_o – наблюдаемая гетерозиготность. He – ожидаемая гетерозиготность. D – коэффициент Селендера. $\chi 2$ – оценка достоверности отклонения распределения выявленных частот аллелей от теоретически ожидаемого.

В общей сложности в типированной выборке (n=68) быков-производителей идентифицирован 41 генотип по гену *BoLA-DRB3*, разделенных на шесть ассоциированных групп: Ч/Ч – 8, Ч/Н – 10, Н/Н – 8, У/Н – 5, У/Ч – 8 и У/У – 2 генотипа (табл. 13).

Распределение ассоциированных групп генотипов по гену *BoLA-DRB3* с различной частотой их встречаемости представлено на рис. 12.

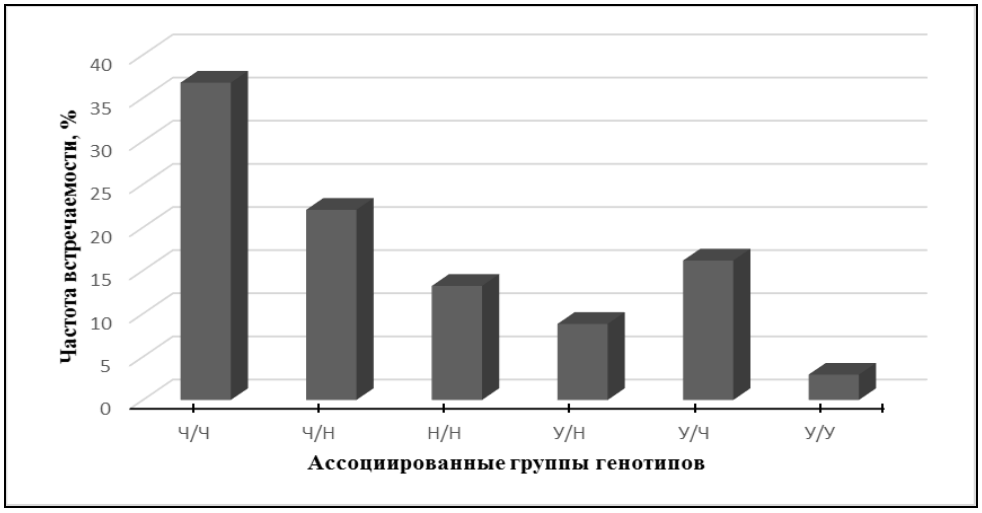

Рисунок 12 – Распределение ассоциированных групп генотипов по гену *BoLA-DRB3*

Распределение ассоциированных групп генотипов в порядке убывания суммарной доли частоты их встречаемости имеет следующую конфигурацию: Ч/Ч>Ч/Н>У/Ч>Н/Н>У/Н>У/У.

Распределение выборки быков-производителей согласно их генетическому статусу по отношению к лейкозу крупного рогатого скота представлено в табл. 14.

Таблица 14 – Распределение выборки быков-производителей ГУП ГПП «Элита» Высокогорского района Республики Татарстан согласно их генетическому статусу по отношению к лейкозу крупного рогатого скота

Статус	Ассоциированная группа генотипов	Количество животных		Процентное соотношение, %
генетической чувствительности	Ч/Ч	25	40	58,82
	Ч/Н	15		
генетической устойчивости	У/Н	6	19	27,94
	У/Ч	11		
	У/У	2		
нейтральный	Н/Н	9	9	13,24

Статусом генетической чувствительности к лейкозу крупного рогатого скота с ассоциированной группой генотипов Ч/Ч и Ч/Н обладали 40 быков-производителей, в том числе 39 молочного направления продуктивности (помесный (33) и чистопородный (6) голштинский скот) и 1 мясного направления продуктивности (1 обрак).

Статусом генетической устойчивости к лейкозу крупного рогатого скота с ассоциированной группой генотипов У/Н, У/Ч и У/У обладали 19 быков-производителей, в том числе 17 молочного направления продуктивности (помесный (13) и чистопородный (4) голштинский скот) и 2 мясного направления продуктивности (2 герефорда).

Нейтральным статусом по отношению к лейкозу крупного рогатого скота с ассоциированной группой генотипов Н/Н обладали 9 быков-производителей, в том числе 4 молочного направления продуктивности (помесный голштинский скот) и 5 мясного направления продуктивности (1 обрак, 2 герефорда и 2 лимузина).

2.2.5 Изучение ассоциативной связи групп генотипов *BoLA-DRB3* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков

При оценке быков-производителей молочного направления продуктивности по происхождению использованы индексы племенной оценки быков. Анализ родительского индекса быка (РИБ) показывает степень возможной передачи потомству признаков молочной продуктивности (табл. 15).

Таблица 15 – Оценка быков-производителей разных групп генотипов *BoLA-DRB3*, ассоциированных с восприимчивостью или резистентностью к лейкозу, по показателям молочной продуктивности женских предков

Ассоциированная группа генотипов		Показатель молочной продуктивности		
		удой, кг	жир, %	жир, кг
n=60		Матери (М)		
Ч/Ч	25	8561,0±1956,7	3,82±0,19	327,1±77,1
Ч/Н	14	8800±1454,2	3,90±0,13	344,0±64,8
Н/Н	4	9918±668,5	4,03±0,18	399,8±41,1
У/Н	4	8508±1268,8	3,95±0,22	334,3±35,7
У/Ч	11	8460±1570,5	3,84±0,18	326,6±71
У/У	2	6803±607,4	4,15±0,45	283,3±55,5
n=60		Матери Матерей (ММ)		
Ч/Ч	25	7731±2280,7	3,90±0,38	300,2±88,1
Ч/Н	14	6517±1640,6	3,89±0,22	253,9±69,8
Н/Н	4	8003±2834,5	3,71±0,17	300,2±119,1
У/Н	4	7087±1207	3,96±0,11	279,80±41,2
У/Ч	11	6736±1644,3	3,85±0,42	261,2±78,8
У/У	2	6347±2045	3,80±0	241,2±77,7
n=60		Матери Отцов (МО)		
Ч/Ч	25	10591±3272,7	3,95±0,22	419,4±131,2
Ч/Н	14	9579±1113,6	3,97±0,34	382,6±71,6
Н/Н	4	13816±2226,5	4,4±0,69	604,9±133,5
У/Н	4	11490±2612,5	3,91±0,07	447,3±92,1
У/Ч	11	10854±3052,7	4,20±0,51	463,1±170,7
У/У	2	9533±951,8	4,16±0,34	395±7,2
n=60		Родительский индекс быка (РИБ)		
Ч/Ч	25	9251±2530,3	3,87±0,16	358±94,6
Ч/Н	14	8424±995,5	3,91±0,16	329,4±51,2
Н/Н	4	10414±825,6	4,04±0,19	420,7±47,1
У/Н	4	8898±1403	3,94±0,15	350,6±43,4
У/Ч	11	8628±1505,5	3,93±0,24	339,1±79,7
У/У	2	7371±1052,9	4,06±0,14	299,3±49

Примечание: Ч – аллели, ассоциированные с устойчивостью к лейкозу; У – аллели, ассоциированные с чувствительностью к лейкозу; Н – аллели, нейтральные по отношению к лейкозу крупного рогатого скота.

В общей сложности типированная выборка (n=60) быков-производителей разделена на шесть ассоциированных групп генотипов *BoLA-DRB3*: Ч/Ч – 25, Ч/Н – 14, Н/Н – 4, У/Н – 4, У/Ч – 11 и У/У – 2 животных (табл. 15).

По результатам оценки родительского индекса быка (РИБ) распределение групп генотипов, ассоциированных с устойчивостью (У) и/или чувствительностью (Ч) и/или нейтральным (Н) состоянием по отношению к лейкозу крупного рогатого скота, имело следующую конфигурацию в порядке убывания значений показателей:

по удою – Н/Н>Ч/Ч>У/Н>У/Ч>Ч/Н>У/У;

по содержанию молочного жира – У/У>Н/Н>У/Н>У/Ч>Ч/Н>Ч/Ч;

по выходу молочного жира – Н/Н>Ч/Ч>У/Н>У/Ч>Ч/Н>У/У (табл. 15)

Оценка быков по родительскому индексу показала, что наибольший удой (10414 кг) и выход молочного жира (420,7 кг) отмечен у быков ассоциированной группы генотипов Н/Н, а более высокое содержание молочного жира (4,06 %) имели быки ассоциированной группы генотипов У/У (табл. 15).

При этом наименьший удой (7371 кг) и выход молочного жира (299,3 кг) отмечен у быков ассоциированной группы генотипов У/У, а наименьшее содержание молочного жира (3,87%) имели быки ассоциированной группы генотипов Ч/Ч (табл. 15).

Сравнительный анализ распределения частот аллелей гена *BoLA-DRB3*, ассоциированных с признаками молочной продуктивности крупного рогатого скота в исследуемой выборке быков-производителей, представлен в табл. 16.

Таблица 16 – Частота встречаемости аллелей гена *BoLA-DRB3*, ассоциированных с признаками молочной продуктивности в выборке быков производителей ГУПГПП "Элита" Высокогорского района Республики Татарстан

№ аллеля	Количество животных-носителей определенных аллелей *BoLA-DRB3*		Количество определенных аллелей	Частота аллелей, %
				"Элита" (n=60)
∑	n=110	100 %	n=120	100 %
П-аллели, ассоциированные с повышенным объемом удоев				
*8 (*1201)	14	12,73	16	13,33
*11 (*0902)	5	4,54	5	4,16
*23 (*2701, *2703)	7	6,36	7	5,83
С-аллели, ассоциированные со сниженным объемом удоев				
*22 (*1101)	9	8,18	9	7,50

Распределение представленных аллелей, ассоциированных с признаками молочной продуктивности в порядке убывания частоты их встречаемости имеет следующую конфигурацию: *8>*22>*23>*11 (табл. 16).

Группа П-аллелей, ассоциированных с повышенным объемом удоев, представлена тремя аллелями: *8, *11, *23 с частотой встречаемости в диапазоне 4,16-13,33 %; при этом наименьшей частотой встречаемости обладает аллель *11, наибольшей – аллель *8. Суммарная доля частоты встречаемости данной группы аллелей составила 23,32 %, с присутствием указанных аллелей в генотипе 22,4 % быков-производителей (табл. 16).

Группа С-аллелей, ассоциированных со сниженным объемом удоев, представлена одним аллелем *22 с частотой встречаемости 7,5 %. Данный аллель присутствует в генотипе 8,18 % быков-производителей (табл. 16).

Оценка быков-производителей разных групп генотипов *BoLA-DRB3*, ассоциированных с признаками молочной продуктивности, по одноименным показателям женских предков представлена в табл. 17.

Таблица 17 – Оценка быков-производителей разных групп генотипов *BoLA-DRB3*, ассоциированных с признаками молочной продуктивности по одноименным показателям женских предков

Ассоциированная группа генотипов		Показатель молочной продуктивности		
		удой, кг	жир, %	жир, кг
n=60		Матери (М)		
П/П	5	8545±2381,8	3,85±0,26	329 ±105,9
С/С	-	-	-	-
Н/Н	32	8817±1568,2	3,87±0,18	341,2±65,6
П/С	3	6943±2103,8	3,79±0,05	263,1±82,3
С/Н	5	8990±564,3	3,9±0,05	350,6±25,2
П/Н	15	8462±1792,3	3,89±0,25	336,8±71,7
n=60		Матери Матерей (ММ)		
П/П	5	7829±2748,2	3,92±0,35	306,9±129,1
С/С		-	-	-
Н/Н	32	7035±1983,3	3,82±0,27	268,7±78,2
П/С	3	7255±4002,1	3,92±0,29	284,4±137,4
С/Н	5	7735±1990,9	4,02±0,62	310,9±78,29
П/Н	15	7129±1584,5	3,93±0,32	279,97±66,2
n=60		Матери Отцов (МО)		
П/П	5	11379±2288,4	4,54±0,64	516,6±160,9
С/С	-	-	-	-
Н/Н	32	10826±3049,2	3,97±0,31	429,8±129,7
П/С	3	8433±2225,1	4,1±0,29	345,7±118,7

С/Н	5	9537±1656,8	3,9±0,05	371,9±67
П/Н	15	10816±2797,6	4,03±0,33	435,9±138,5
n=60		Родительский индекс быка (РИБ)		
П/П	5	9075±2262,1	4,04±0,32	366,6±118,42
С/С	-	-	-	-
Н/Н	32	8874±1662	3,88±0,15	349,6±67,8
П/С	3	7394±2556,9	3,9±0,05	288,4±102,4
С/Н	5	8813±867,7	3,93±0,18	345,9±37,5
П/Н	15	8717±1480,7	3,94±0,22	343,4±67,3

Примечание: П – аллели, ассоциированные с повышенным объемом удоев; С – аллели, ассоциированные со сниженным объемов удоев; Н – аллели, нейтральные по отношению к объему удоев.

Типированная выборка (n=60) быков-производителей молочного направления продуктивности представлена пятью ассоциированными группами генотипов *BoLA-DRB3*: П/П – 5, Н/Н – 32, П/С – 3, С/Н – 5, и П/Н – 13 животных. При этом в исследуемой выборке не выявлено быков ассоциированной группы генотипов С/С (табл. 17).

По результатам оценки родительского индекса быка (РИБ) распределение групп генотипов, ассоциированных с повышенным (П) и/или со сниженным (С) объемом удоев и/или их нейтральным (Н) состоянием, имело следующую конфигурацию в порядке убывания значений показателей:

по удою – П/П>Н/Н>С/Н>П/Н>П/С;

по содержанию молочного жира – П/П>П/Н>С/Н>П/С>Н/Н;

по выходу молочного жира – П/П>Н/Н>С/Н>П/Н>П/С (табл. 17).

Оценка быков по родительскому индексу показала, что наибольшим удоем (9075 кг), а также содержанием молочного жира (4,04 %) и выходом молочного жира (366,6 кг)) характеризовались быки ассоциированной группы генотипов П/П (табл. 17).

При этом наименьший удой (7394 кг) и выход молочного жира (288,4 кг) отмечен у быков ассоциированной группы генотипов П/С, а наименьшее содержание молочного жира (3,88 %) имели быки ассоциированной группы генотипов Н/Н (табл. 17).

2.2.6 Эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в Республике Татарстан

2.2.6.1 Сводная информация по серологическим и гематологическим исследованиям крупного рогатого скота на лейкоз за 2013-2017 гг.

В 2013-2017 годах лабораторно-диагностические исследования проводились в рамках организованных мероприятий по профилактике и ликвидации лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Татарстан. Сводная информация по серологическим и гематологическим исследованиям поголовья крупного рогатого скота Республики Татарстан, любезно предоставленная отделом инфекционных болезней животных и организации противоэпизоотических мероприятий Главного управления ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан, представлена в табл. 18.

Таблица 18 – Серологические и гематологические исследования крупного рогатого скота на лейкоз за 2013-2017 гг.

Годы	**Исследовано по РИД**			**Исследовано по гематологии**		
	голов (тыс.)	**выявлено инфицированных животных**		**голов (тыс.)**	**выявлено гематологически больных животных**	
		голов (тыс.)	**в %**		**голов (тыс.)**	**в %**
2013	715	131	18,3	244	5,9	2,4
2014	769	149	19,4	242	5	2,1
2015	817	131	16	206	4,8	1,8
2016	854	131	15,4	239	4,9	2,1
2017	853	118	13,8	232	6,1	2,6

2.2.6.2 Степень инфицированности поголовья крупного рогатого скота вирусом бычьего лейкоза в Республике Татарстан за 2013-2017 гг.

Результаты серологических (РИД) исследований на лейкоз крупного рогатого скота в разрезе районов Республики Татарстан по степени инфицированности поголовья за пять предыдущих лет (2013-2017 гг.), отражены в соответствующих табличных формах (табл. 19-23).

Таблица 19 – Степень инфицированности поголовья крупного рогатого скота вирусом бычьего лейкоза в Республике Татарстан за 2013 год

Степень инфицированности (10%-ный интервал)	**Количество районов РТ**	**Наименование районов РТ**	**% инфицированного поголовья кр.рог.ск.**
от 0,1 до 10 %	10	Балтасинский	0,1
		Атнинский	0,4
		Нижнекамский	1,5
		Арский	3,1
		Сабинский	3,3
		Тюлячинский	4,3
		Менделеевский	4,4
		Сармановский	4,7
		Ютазинский	5,5
		Актанышский	8,4
от 10,1 до 20 %	12	Чистопольский	12,2
		Бавлинский	13,2
		Елабужский	14,6
		Тукаевский	15,9
		Новошешминский	16,1
		Кукморский	16,9
		Верхне-Услонский	18,7
		Менделеевский	18,7
		Зеленодольский	19,3
		Агрызский	19,4
		Высокогорский	19,6
		Бугульминский	20
от 20,1 до 30 %	14	Спасский	20,1
		Аксубаевский	21,1
		Муслюмовский	21,6
		Азнакаевский	22,8
		Алексеевский	23,7
		Черемшанский	23,8
		Лаишевский	24,8
		Апастовский	25,6
		Пестречинский	26,5
		Мамадышский	26,9
		Заинский	27
		Рыбно-Слободский	27,8
		Дрожжановский	28,3
		Буинский	30
от 30,1 % и выше	7	Тетюшский	31
		Алькеевский	31,3
		Кайбицкий	31,5
		Камско-Устьинский	33
		Нурлатский	35
		Лениногорский	36
		Альметьевский	49,7

Таблица 20 – Степень инфицированности поголовья крупного рогатого скота вирусом бычьего лейкоза в Республике Татарстан за 2014 год

Степень инфицированности (10%-ный интервал)	**Количество районов РТ**	**Наименование районов РТ**	**% инфицированного поголовья кр.рог.ск.**
От 0,1 до 10 %	7	Балтасинский	0,1
		Атнинский	0,7
		Тюлячинский	0,7
		Сабинский	2,6
		Нижнекамский	3,1
		Сармановский	4,2
		Высокогорский	9,4
От 10,1 до 20 %	13	Арский	10,1
		Актанышский	12,8
		Тукаевский	13,0
		Ютазинский	13,2
		Агрызский	17,0
		Кукморский	17,1
		Мензелинский	18,4
		Верхне-Услонский	18,6
		Черемшанский	18,7
		Азнакаевский	18,8
		Муслюмовский	19,3
		Спасский	19,5
		Зеленодольский	20,0
От 20,1 до 30 %	11	Новошешминский	20,9
		Чистопольский	21,5
		Алькеевский	21,6
		Алексеевский	21,6
		Апастовский	23,2
		Аксубаевский	24,6
		Бавлинский	25,1
		Дрожжановский	27,5
		Елабужский	28,1
		Кайбицкий	28,3
		Пестречинский	28,8
От 30,1 % и выше	12	Мамадышский	30,1
		Бугульминский	30,6
		Камско-Устьинский	31,5
		Тетюшский	34,0
		Буинский	34,8
		Заинский	35,1
		Лаишевский	35,6
		Лениногорский	36,4
		Рыбно-Слободский	36,8
		Альметьевский	38,0
		Менделеевский	40,8
		Нурлатский	43,5

Таблица 21 – Степень инфицированности поголовья крупного рогатого скота вирусом бычьего лейкоза в Республике Татарстан за 2015 год

Степень инфицированности (10%-ный интервал)	**Количество районов РТ**	**Наименование районов РТ**	**% инфицированного поголовья кр.рог.ск.**
От 0,1 до 10 %	12	Балтасинский	0,0
		Атнинский	0,2
		Тюлячинский	0,7
		Сабинский	2,8
		Сармановский	3,6
		Тукаевский	4,5
		Нижнекамский	4,6
		Арский	6,6
		Актанышский	7,8
		Бавлинский	8,0
		Апастовский	9,5
		Ютазинский	9,7
От 10,1 до 20 %	13	Чистопольский	10,2
		Высокогорский	11,6
		Елабужский	12,4
		Кукморский	13,4
		Новошешминский	13,7
		Зеленодольский	13,8
		Агрызский	14,5
		Менделеевский	15,1
		Азнакаевский	17,3
		Черемшанский	17,5
		Муслюмовский	17,9
		Мензелинский	18,5
		Алексеевский	20,0
От 20,1 до 30 %	11	Верхне-Услонский	20,5
		Аксубаевский	21,3
		Спасский	22,5
		Мамадышский	23,2
		Дрожжановский	24,5
		Заинский	25,2
		Бугульминский	26,6
		Пестречинский	27,9
		Рыбно-Слободский	28,0
		Камско-Устьинский	28,3
		Алькеевский	29,7
От 30,1 % и выше	7	Лаишевский	30,3
		Нурлатский	30,4
		Буинский	30,4
		Кайбицкий	31,5
		Тетюшский	31,7
		Лениногорский	33,1
		Альметьевский	34,9

Таблица 22 – Степень инфицированности поголовья крупного рогатого скота вирусом бычьего лейкоза в Республике Татарстан за 2016 год

Степень инфицированности (10%-ный интервал)	**Количество районов РТ**	**Наименование районов РТ**	**% инфицированного поголовья кр.рог.ск.**
От 0,1 до 10 %	12	Балтасинский	0,0
		Атнинский	0,7
		Тюлячинский	1,1
		Сармановский	1,9
		Сабинский	1,9
		Арский	3,8
		Нижнекамский	3,9
		Тукаевский	4,5
		Ютазинский	5,3
		Высокогорский	8,5
		Елабужский	9,5
		Кукморский	9,7
От 10,1 до 20 %	14	Актанышский	10,2
		Апастовский	11,1
		Чистопольский	11,3
		Черемшанский	12,0
		Бавлинский	12,7
		Агрызский	13,1
		Новошешминский	13,6
		Верхне-Услонский	14,0
		Дрожжановский	14,1
		Азнакаевский	14,9
		Зеленодольский	15,5
		Алексеевский	16,3
		Муслюмовский	18,0
		Рыбно-Слободский	19,0
От 20,1 до 30 %	12	Мензелинский	22,0
		Аксубаевский	23,0
		Менделеевский	23,5
		Пестречинский	23,6
		Заинский	24,2
		Спасский	24,5
		Мамадышский	25,9
		Лениногорский	27,4
		Кайбицкий	27,7
		Бугульминский	28,0
		Камско-Устьинский	28,3
		Алькеевский	28,4
От 30,1 % и выше	5	Тетюшский	30,1
		Лаишевский	31,4
		Буинский	35,2
		Альметьевский	42,7
		Нурлатский	44,3

Таблица 23 – Степень инфицированности поголовья крупного рогатого скота вирусом бычьего лейкоза в Республике Татарстан за 2017 год

Степень инфицированности (10%-ный интервал)	**Количество районов РТ**	**Наименование районов РТ**	**% инфицированного поголовья кр.рог.ск.**
От 0,1 до 10 %	13	Балтасинский	0,4
		Атнинский	0,8
		Сармановский	0,9
		Сабинский	1,0
		Тюлячинский	1,6
		Кукморский	2,7
		Тукаевский	2,7
		Арский	2,8
		Нижнекамский	4,1
		Ютазинский	5,0
		Елабужский	5,3
		Заинский	5,8
		Высокогорский	6,8
От 10,1 до 20 %	15	Актанышский	10,1
		Азнакаевский	10,2
		Апастовский	12,0
		Алексеевский	12,3
		Зеленодольский	12,9
		Агрызский	12,9
		Верхне-Услонский	13,2
		Рыбно-Слободский	14,1
		Менделеевский	15,3
		Бавлинский	16,1
		Чистопольский	16,1
		Муслюмовский	16,4
		Пестречинский	16,9
		Черемшанский	18,1
		Мамадышский	19,0
От 20,1 до 30 %	9	Кайбицкий	21,3
		Дрожжановский	23,1
		Мензелинский	24,5
		Спасский	24,7
		Алькеевский	25,2
		Бугульминский	27,1
		Буинский	27,2
		Лаишевский	29,2
		Аксубаевский	29,2
От 30,1 % и выше	6	Альметьевский	30,5
		Тетюшский	31,3
		Лениногорский	31,7
		Камско-Устьинский	39,0
		Нурлатский	41,0
		Новошешминский	43,5

2.2.7 Генотипическая принадлежность изолятов вируса бычьего лейкоза, циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан

В задачу текущего раздела исследования входило установить генотипическую принадлежность изолятов вируса бычьего лейкоза, циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан, используя филогенетический анализ секвенируемых последовательностей фрагмента *env*-гена возбудителя и ПЦР-ПДРФ-анализ, согласуемый с филогенетической классификацией изучаемого вирусного патогена.

ПЦР-ПДРФ-генотипированием и сравнительным филогенетическим анализом выравниваемых последовательностей фрагмента *env*-гена провирусных изолятов ВБЛ, выявляемых у крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах 21 района Республики Татарстан, определена их генотипическая принадлежность (табл. 24).

Таблица 24 – Распределение 179 генотипированных проб провирусной ДНК ВБЛ в 21 исследованном районе Республики Татарстан Российской Федерации

Район Республики Татарстан		Исследовано	ГЕНОТИП ВБЛ									
			1-й	2-й	3-й	4-й	5-й	6-й	7-й	8-й	9-й	10-й
1	Азнакаевский	10	-	-	-	9	-	-	1	-	-	-
2	Алькеевский	13	-	-	-	5	-	-	8	-	-	-
3	Арский	7	-	-	-	6	-	-	1	-	-	-
4	Буинский	7	-	-	-	2	-	-	3	2	-	-
5	Высокогорский	4	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-
6	Дрожжановский	12	-	-	-	4	-	-	7	1	-	-
7	Заинский	8	-	-	-	7	-	-	-	1	-	-
8	Кайбицкий	7	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-
9	Лаишевский	13	-	-	-	12	-	-	1	-	-	-
10	Лениногорский	19	-	-	-	15	-	-	4	-	-	-
11	Мамадышский	10	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Мензелинский	6	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-
13	Муслюмовский	4	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-
14	Нижнекамский	14	-	-	-	8	-	-	5	1	-	-
15	Пестречинский	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
16	Рыбнослободский	8	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-
17	Сармановский	2	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
18	Спасский	9	-	-	-	3	-	-	6	-	-	-
19	Тукаевский	9	-	-	-	4	-	-	3	2	-	-
20	Тюлячинский	6	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-
21	Чистопольский	10	-	-	-	3	-	-	6	1	-	-
ВСЕГО ПРОБ		179	10	-	-	106		-	55	8	-	-

Так, из 179 проидентифицированных изолятов десять относились к 1-му генотипу ВБЛ, 106 изолятов имели принадлежность к кластеру 4-го генотипа ВБЛ, 55 были охарактеризованы признаком 7-го генотипа, а другие восемь происследованных провирусных изолятов являлись представителями 8-го генотипа изучаемого вирусного патогена (табл. 24).

На основании приведенных результатов можно констатировать факт циркуляции в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан изолятов четырех из десяти открытых в настоящее время генотипов ВБЛ, идентифицируемых с помощью ПЦР-ПДРФ-генотипирования и филогенетического анализа секвенируемых нуклеотидных последовательностей фрагмента *env*-гена в качестве представителей 1-го, 4-го, 7-го и 8-го генотипов возбудителя.

Наглядный результат определения генотипической принадлежности изолятов ВБЛ филогенетическим анализом секвенируемых нуклеотидных последовательностей фрагмента *env*-гена возбудителя отражен на выстроенной дендрограмме (рис. 13).

Дополнительной оценкой гетерогенности референсных представителей ВБЛ по *env*-гену выполнен анализ внутри- и межгенотипической гетерогенности их известных генотипов, чьи данные представлены в сводной (приложение) и развернутой табл. 25, и указывающие на невозможность применения «гетерогенного» критерия оценки генетического разнообразия вирусного патогена для определения таксономической принадлежности ВБЛ.

Таблица 25 – Внутри- и межгенотипическая гетерогенность референсных представителей ВБЛ по *env*-гену (%-ное отношение)

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ ВБЛ										
ГЕНОТИП	**1-й**	**2-й**	**3-й**	**4-й**	**5-й**	**6-й**	**7-й**	**8-й**	**9-й**	**10-й**
1-й	0-5	3-6	3-7	3-7	3-7	3-7	3-8	2-6	3-6	4-7
2-й	3-6	0-1	3-4	2-4	4-5	3-5	3-5	2-4	3	4-6
3-й	3-7	3-4	0-2	3-5	4-5	3-5	3-6	3-4	3	4-6
4-й	3-7	2-4	3-5	0-3	3-5	2-5	2-6	2-4	2-4	3-5
5-й	3-7	4-5	4-5	3-5	0-2	4-6	3-5	4-5	4-5	5-6
6-й	3-7	3-5	3-5	2-5	4-6	0-4	3-6	2-5	3-5	3-5
7-й	3-8	3-5	3-6	2-6	3-5	3-6	0-4	2-5	3-5	4-6
8-й	2-6	2-4	3-4	2-4	4-5	2-5	2-5	0-2	2-3	3-5
9-й	3-6	3	3	2-4	4-5	3-5	3-5	2-3	0-1	4-5
10-й	4-7	4-6	4-6	3-5	5-6	3-5	4-6	3-5	4-5	0-2

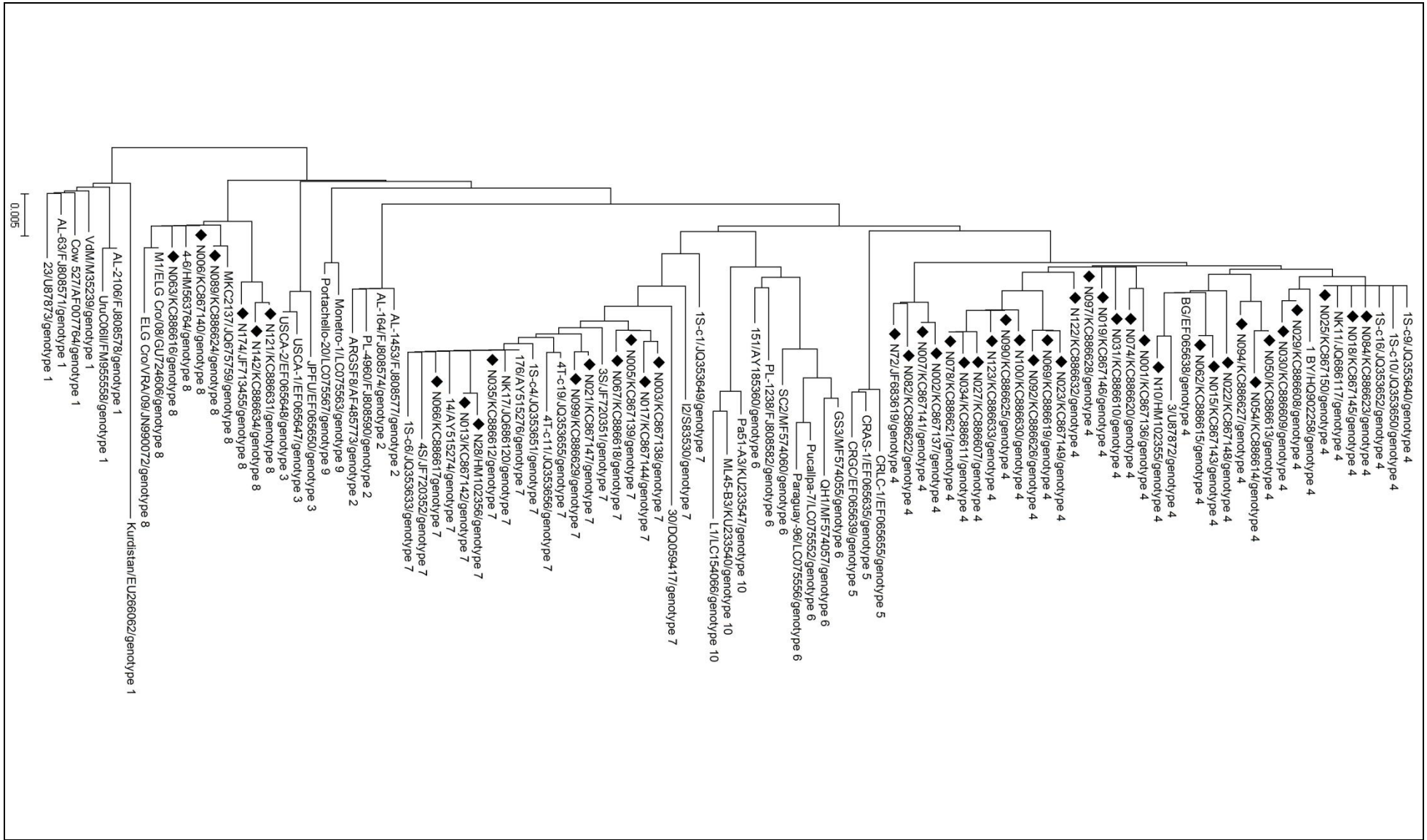

Рисунок 13 – Дендрограмма 99 изолятов 10 открытых генотипов ВБЛ, выстроенная на основании филогенетического анализа фрагмента *env*-гена [MEGA-4: алгоритм NJ, 400 nt, 99 seq.]

Обозначения: черный ромб – депонированные в GenBank NCBI нуклеотидные последовательности фрагмента *env*-гена провирусных изолятов ВБЛ, циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан.

2.2.8 Типизация изолятов ВБЛ с расшифрованными нуклеотидными последовательностями локуса *env*-гена в зависимости от выбранной стратегии геноидентификации возбудителя

В задачу текущего раздела исследования входила типизация изолятов ВБЛ с расшифрованными нуклеотидными последовательностями фрагмента *env*-гена в зависимости от выбранной стратегии геноидентификации с последующей оценкой степени согласованности генотипических подходов сопоставлением данных *in silico* ПЦР-ПДРФ и филогенетического анализа.

Сравнительный анализ 505 нуклеотидных последовательностей фрагмента *env*-гена ВБЛ, в т.ч. депонированных в GenBank NCBI, подтверждает несогласованность ряда использованных ранее стратегий ПЦР-ПДРФ-типизации с нынешним подходом в оценке его генотипического разнообразия филогенетическим анализом.

Так, изоляты ВБЛ, типированные по стратегии D. Beier et al. (2001) [85] в качестве представителей Бельгийской подгруппы, согласно филогенетической классификации принадлежат четвёртому генотипу ВБЛ; Австралийской подгруппы – первому, третьему, шестому, седьмому, восьмому или девятому генотипам ВБЛ; Японской подгруппы – первому, шестому или седьмому генотипам ВБЛ. Помимо этого, для указанной стратегии типизации [85] дополнительно определено 11 уникальных комбинаций ПЦР-ПДРФ-профилей, условно тождественных 11 неклассифицируемым подгруппам ВБЛ (табл.26).

Таблица 26 – Сопоставление данных *in silico* ПЦР-ПДРФ (типизация по D. Beier et al., 2001) и филогенетического анализа фрагмента *env*-гена ВБЛ

ПЦР-ПДРФ-типизация ВБЛ		ПЦР-продукт (bp)	ПДРФ-фрагменты (bp)			Генотипы										N
			*Pvu*II	*Bam*HI	*Bcl*I	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
ПОДГРУППА	Бельгийская	444	280/164	444	225/219	-	-	-	142	-	-	-	-	-	-	142
	Австралийская	444	444	316/128	225/219	57	-	4	-	-	28	70	21	19	-	199
	Японская	444	444	316/128	219/121/104	8	-	-	-	-	6	1	-	-	-	15
	?	444	444	444	225/219	43	-	-	1	-	-	2	-	3	17	66
	?	444	444	316/128	444	1	-	-	-	-	14	2	-	-	-	17
	?	444	444	316/128	225/191/28	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	280/164	316/128	225/219	-	36	-	-	10	-	3	-	-	-	49
	?	444	280/164	316/128	444	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	280/164	316/128	219/189/36	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
	?	444	280/164	444	444	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	208/164	253/191	225/219	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	280/164	444	219/121/104	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	4
	?	444	444	242/128/74	225/219	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
	?	444	444	444	444	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	7

Также, изоляты ВБЛ, генотипированные филогенетическим анализом в качестве представителей первого и седьмого генотипов, согласно стратегии D Beier et al. (2001) [85] принадлежат Австралийской, Японской и трём неклассифицируемым подгруппам; второго, пятого и десятого генотипов – двум неклассифицируемым подгруппам; третьего и восьмого генотипов – Австралийской подгруппе; четвёртого генотипа – Бельгийской подгруппе и четырем неклассифицируемым подгруппам; пятого генотипа – двум неклассифицируемым подгруппам; шестого генотипа – Австралийской, Японской и двум неклассифицируемым подгруппам; девятого генотипа – Австралийской и одной неклассифицируемой подгруппе ВБЛ (табл. 26).

Изоляты ВБЛ, генотипированные по стратегии M. Licursi et al. (2002) [146] в качестве представителей первого генотипа ВБЛ, согласно филогенетической классификации относятся к первому, четвёртому, шестому или седьмому генотипам; третьего генотипа ВБЛ – к первому, шестому или седьмому генотипам; пятого генотипа ВБЛ – к первому, третьему, шестому, седьмому или девятому генотипам; шестого генотипа ВБЛ – ко второму, четвёртому, пятому или седьмому генотипам возбудителя, соответственно (табл. 27).

Таблица 27 – Сопоставление данных *in silico* ПЦР-ПДРФ (типизации по M. Licursi et al., 2002) и филогенетического анализа фрагмента *env*-гена ВБЛ

ПЦР-ПДРФ-типизация ВБЛ		ПЦР-продукт (bp)	ПДРФ-фрагменты (bp)			Генотипы										N
			*Bcl*I	*Hae*III	*Pvu*II	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
ГЕНОТИП	1-й	444	225/219	198/94/87/32/27/6	444	98	-	-	1	-	28	68	-	-	-	195
	2-й	444	219/121/104	312/94/32/6	444	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3-й	444	219/121/104	285/94/32/27/6	444	8	-	-	-	-	6	1	-	-	-	15
	4-й	444	219/121/104	198/94/87/32/27/6	444	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5-й	444	225/219	285/94/32/27/6	444	1	-	3	-	-	1	1	-	22	-	28
	6-й	444	225/219	198/94/87/32/27/6	280/164	-	35	-	139	9	-	3	-	-	-	186
	?	444	444	198/94/87/32/27/6	444	1	-	-	-	-	12	-	-	-	7	20
	?	444	225/191/28	198/119/94/27/6	444	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	225/219	312/94/32/6	444	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	444	198/94/87/32/27/6	280.164	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	2
	?	444	219/189/36	198/94/87/32/27/6	280/164	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
	?	444	225/219	285/94/32/27/6	280/164	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	3
	?	444	444	198/87/49/45/32/27/6	444	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
	?	444	225/219	225/94/87/32/6	444	-	-	-	-	-	-	-	21		-	21
	?	444	225/219	285/94/32/21/6/6	444	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	225/219	198/121/87/32/6	280/164	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	225/219	198/119/94/27/6	280/164	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	219/121/104	285/94/32/27/6	280/164	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	4
	?	444	225/219	198/87/49/45/32/27/6	444	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	2
	?	444	225/219	198/119/94/27/6	444	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
	?	444	444	198/121/87/32/6	444	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	2
	?	444	225/219	198/87/49/45/32/27/6	280/164	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	444	198/94/81/32/21/6/6	444	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
	?	444	225/219	198/94/81/32/27/6/6	444	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	6
	?	444	225/219	279/94/32/27/6/6	444	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	11

Для описанной стратегии типизации [146] дополнительно определено 19 уникальных комбинаций ПЦР-ПДРФ-профилей, условно тождественных 19 неклассифицируемым генотипам ВБЛ (табл. 27).

Также, изоляты ВБЛ, генотипированные филогенетическим анализом в качестве представителей первого генотипа, согласно стратегии M. Licursi et al. (2002) [146] относятся к первому, третьему, пятому и трем неклассифицируемым генотипам ВБЛ, второго генотипа – к шестому и двум неклассифицируемым генотипам; третьего генотипа – к пятому и одному неклассифицируемому генотипу; четвёртого генотипа – к первому, шестому и пяти неклассифицируемым генотипам; пятого генотипа – к шестому и двум неклассифицируемым генотипам; шестого генотипа – к первому, третьему, пятому и трём неклассифицируемым генотипам; седьмого генотипа – к первому, третьему, пятому, шестому и четырём неклассифицируемым генотипам; восьмого генотипа – к одному неклассифицируемому генотипу; девятого генотипа – к пятому генотипу; десятого генотипа – к трём неклассифицируемым генотипам ВБЛ, соответственно (табл. 27).

Примечательно, что при анализе данных *in silico* ПЦР-ПДРФ от 505 представителей ВБЛ, не было обнаружено ни одной нуклеотидной последовательности фрагмента *env*-гена, принадлежащей второму или четвёртому генотипам согласно стратегии M. Licursi et al. (2002) (табл. 27). Данное обстоятельство не позволило обосновать фактическое существование ПЦР-ПДРФ-профилей, указанных для этих двух генотипов ВБЛ.

Сопоставление данных *in silico* ПЦР-ПДРФ по стратегии типизации H. Fechner et al. (1997) [111] и филогенетического анализа фрагмента *env*-гена ВБЛ для оценки согласованности с филогенетической классификацией, отражено в табл. 28.

Так, изоляты ВБЛ, идентифицированные по стратегии H. Fechner et al. (1997) [111] в качестве представителей вариантной группы «А», согласно филогенетической классификации характеризуются признаком четвёртого генотипа ВБЛ; вариантной группы «В» – первого, шестого или седьмого

генотипов; вариантной группы «C» – первого, третьего, шестого, седьмого или девятого генотипов; вариантной группы «D» – первого, четвёртого или седьмого генотипов; вариантной группы «F» – второго, пятого или седьмого генотипов; вариантной группы «G» - первого генотипа ВБЛ, соответственно (табл. 28).

Таблица 28 – Сопоставление данных *in silico* ПЦР-ПДРФ (типизация по H. Fechner et al., 1997) и филогенетического анализа фрагмента *env*-гена ВБЛ

ПЦР-ПДРФ-типизация ВБЛ		ПЦР-продукт (bp)	ПДРФ-фрагменты (bp)					Генотипы										N
			*Bam*HI	*Bcl*I	*Bgl*I	*Hae*III	*Pvu*II	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
ВАРИАНТНАЯ ГРУППА	A	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	-	-	-	142	-	-	-	-	-	-	142
						198/121/87/32/6												
					444	198/119/94/27/6												
						285/94/32/27/6												
	B	444	316/128	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	444	8	-	-	-	-	6	1	-	-	-	15
					444													
	C	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	56	-	4	-	-	28	70	-	19	-	177
						285/94/32/21/6/6												
						285/94/32/27/6												
					444	198/87/49/45/32/27/6												
						198/119/94/27/6												
	D	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	42	-	-	1	-	-	2	-	-	-	45
	E	444	316/128	225/219	328/116	225/94/8732/6	444	-	-	-	-	-	-	-	21	-	-	21
	F	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	-	36	-	-	9	-	3	-	-	-	48
	G	444	316/128	225/219	444	312/94/32/6	444	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	316/128	444	328/116	198/94/87/32/27/6	444	1	-	-	-	-	2	-	-	-	-	3
	?	444	316/128	225/191/28	328/116	198/119/94/27/6	444	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	444	225/219	444	285/94/32/27/6	444	1	-	-	-	-	-	-	-	3	-	4
	?	444	316/128	444	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	316/128	219/189/36	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
	?	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	280/164	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
	?	444	316/128	444	328/116	198/87/49/45/32/27/6	444	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
	?	444	444	444	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	253/191	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
	?	444	444	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	280/164	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	4
	?	444	316/128	444	328/116	198/121/87/32/6	444	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
	?	444	316/128	444	444	198/94/87/32/27/6	444	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	11
	?	444	242/128/74	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
	?	444	316/128	444	444	198/121/87/32/6	444	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
	?	444	444	225/219	328/116	198/94/81/32/27/6/6	444	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	6
	?	444	444	444	328/116	198/94/81/32/27/6/6	444	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	7
	?	444	444	225/219	444	279/94/32/27/6/6	444	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	11

Обозначения: N – число проанализированных изолятов ВБЛ с установленным ПЦР-ПДРФ-профилем: «**?**» - неклассифицируемый таксон ВБЛ.

Для указанной стратегии типизации [111] дополнительно определено 17 уникальных комбинаций ПЦР-ПДРФ-профилей, условно тождественных 17 неклассифицируемым вариантным группам ВБЛ (табл. 28). Также, изоляты ВБЛ, генотипированные филогенетическим анализом в качестве представителей первого генотипа, согласно стратегии H. Fechner et al. (1997) [111] характеризуются признаком вариантных групп «B», «C», «D», «G» и трех неклассифицируемых вариантных групп ВБЛ; второго генотипа – вариантной группы «F» и одной неклассифицируемой вариантной группы; третьего генотипа

– вариантной группы «C»; четвёртого генотипа – вариантных групп «A», «D» и трех неклассифицируемых вариантных групп; пятого генотипа – вариантной группы «F» и двух неклассифицируемых вариантных групп; шестого генотипа – вариантных групп «B» и «C» и четырёх неклассифицируемых вариантных групп; седьмого генотипа – вариантных групп «B», «C», «D», «F» и двух неклассифицируемых вариантных групп; восьмого генотипа – вариантной группы «E»; девятого генотипа – вариантной группы «C» и одной неклассифицируемой вариантной группы; десятого генотипа – трёх неклассифицируемых вариантных групп ВБЛ, соответственно (табл. 28).

Развернутая информация о типизации 505 изолятов ВБЛ с расшифрованными нуклеотидными последовательностями фрагмента *env*-гена в зависимости от выбранной стратегии геноидентификации возбудителя, отражена в приложении.

2.2.9 Совершенствование стратегии ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ согласуемой с филогенетической классификацией возбудителя

В задачу текущего раздела исследования входило усовершенствовать стратегию ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ, согласуемую с его филогенетической классификацией, и с учетом пополняемых знаний о генетическом многообразии десяти известных генотипов изучаемого патогена.

Интерпретация *env*-ПЦР-ПДРФ-профилей 505 изолятов ВБЛ, сгенерированных в ходе анализа рестрикционных картирований локуса *env*-гена по 5 рестриктазам, фактически отражает стратегию ПЦР-ПДРФ-генотипирования вируса бычьего лейкоза в соответствии с его филогенетической классификацией, чьи данные представлены в развернутой (приложение) и обобщенной (табл. 29) таблицах.

Усовершенствованная нами стратегия ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ согласуется с его филогенетической классификацией, позволяя идентифицировать все десять известных на сегодняшний день генотипов изучаемого вирусного патогена (табл. 29).

Таблица 29 – Усовершенствованная стратегия ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ, согласованная с его филогенетической классификацией

Г	Изолят ВБЛ	GenBank A/N	ПЦР-продукт (bp)	ПДРФ-фрагменты (bp)					К	N
				*Pvu*II	*Ssp*I	*Hph*I	*Hae*III	*Bst*YI		
1	AL-63	FJ808571	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1	56
1	Cow 527	AF007764	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	198/128/118	2	8
1	23	U87873	444	444	399/45	224/220	312/94/32/6	198/128/118	3	1
1	AL-2106	FJ808578	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4	42
1	UruC06II	FM955558	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	246/198	5	1
1	VdM	M35239	444	444	399/45	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	6	1
1	Kurdistan	EU266062	444	444	399/45	220/196/28	198/119/94/27/6	198/128/118	7	1
2	AL-164	FJ808574	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8	34
2	PL-4960	FJ808590	444	280/164	399/45	224/220	198/87/49/45/32/27/6	198/128/118	9	1
2	ARGSF8	AF485773	444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/27/6	198/128/118	10	1
2	AL-1453	FJ808577	444	280/164	444	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	11	1
3	USCA-1	EF065647	444	444	399/45	444	285/94/32/21/6/6	198/128/96/22	12	1
3	USCA-2	EF065648	444	444	399/45	444	285/94/32/27/6	198/128/96/22	13	2
3	JPFU	EF065650	444	444	399/45	444	285/94/32/27/6	198/128/118	14	1
4	BG	EF065638	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15	115
4	3	U87872	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	16	1
4	1S-c16	JQ353652	444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/27/6	444	17	16
4	N023	KC867149	444	280.164	399.45	224.220	198/94/87/32/27/6	253/191	18	1
4	1_BY	HQ902258	444	280/164	444	224/220	198/94/87/32/27/6	444	19	7
4	N034	KC886611	444	280/164	399/45	224/220	198/121/87/32/6	444	20	1
4	1S-c9	JQ353640	444	280/164	399/45	224/220	198/119/94/27/6	444	21	1
4	NK11	JQ686117	444	280/164	399/45	224/220	285/94/32/27/6	444	22	6
4	1S-c10	JQ353650	444	280/164	399/45	220/145/79	198/94/87/32/27/6	444	23	1
5	CRAS-1	EF065635	444	280/164	399/45	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	24	8
5	CRGC	EF065639	444	280/164	399/45	224/181/39	285/94/32/27/6	316/128	25	1
5	CRLC-1	EF065655	444	280/164	444	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	26	2
6	PL-1238	FJ808582	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	316/128	27	7
6	151	AY185360	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28	27
6	GS3	MF574055	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/128	29	11
6	SC2	MF574060	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	242/128/74	30	1
6	QH1	MF574057	444	444	213/186/45	444	198/94/81/32/21/6/6	316/128	31	1
6	Pucallpa-7	LC075552	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/79/49	32	1
6	Paraguay-96	LC075556	444	444	399/45	444	198/121/87/32/6	316/128	33	1
7	N28	HM102356	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	294/128/22	34	7
7	176	AY515276	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35	53
7	I2	S83530	444	444	444	224/220	285/94/32/27/6	316/128	36	1
7	14	AY515274	444	444	444	145/137/83/79	198/94/87/32/27/6	316/128	37	1
7	30	DQ059417	444	444	444	444	198/87/49/45/32/27/6	316/128	38	1
7	3S	JF720351	444	280/164	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	39	3
7	4T-c19	JQ353655	444	444	399/45	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	40	3
7	1S-c4	JQ353651	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/79/49	41	1
7	NK17	JQ686120	444	444	444	224/137/83	198/87/49/45/32/27/6	316/128	42	2
7	4S	JF720352	444	444	444	224/137/83	198/119/94/27/6	316/128	43	1
7	1S-c6	JQ353633	444	444	444	224/137/83	198/121/87/32/6	316/128	44	1
7	4T-c11	JQ353656	444	444	444	224/137/83	285/94/32/27/6	316/128	45	1
7	N067	KC886618	444	444	444	224/137/44/39	198/94/87/32/27/6	316/128	46	1
7	1S-c1	JQ353649	444	444	444	224/220	198/94/87/32/27/6	444	47	2
8	M1/ELG_Cro/08	GU724606	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48	13
8	N174	JF713455	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	316/128	49	4
8	ELG_Cro/VRA/09	JN990072	444	444	444	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	50	2
8	4-6	HM563764	444	444	399/45	224/137/83	225/94/87/32/6	198/128/118	51	1
8	MKC2137	JQ675759	444	444	399/45	444	225/94/87/32/6	198/128/118	52	1
9	Monetro-1	LC075563	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53	19
9	Portachello-20	LC075567	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	246/198	54	3
10	Pa51-A3	KU233547	444	444	399/45	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	55	12
10	ML45-B3	KU233540	444	444	399/45	224/220	279/94/32/27/6/6	444	56	11
10	L1	LC154066	444	444	444	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	57	1

Обозначения: Г – генотип; **К** – комбинация; **N** – число проанализированных изолятов ВБЛ с установленной комбинацией ПЦР-ПДРФ-профилей.

Необходимо отметить, что 1-ый генотип ВБЛ характеризуется семью комбинациями env-ПЦР-ПДРФ-профилей (К1-7), 2-ой генотип – четырьмя комбинациями (К8-11), 3-ий генотип – тремя комбинациями (К12-14); 4-ый генотип – девятью комбинациями (К15-23); 5-ый генотип – тремя комбинациями (К24-26); 6-ой генотип – семью комбинациями (К27-33), 7-ой генотип – четырнадцатью комбинациями (К34-47); 8-ой генотип – пятью комбинациями (К48-52); 9-ый генотип – двумя комбинациями (К53-54); и 10-ый генотип ВБЛ – наличием трёх комбинаций (К55-57) *env*-ПЦР-ПДРФ-профилей ВБЛ, соответственно (табл. 29).

Следует подчеркнуть, что восьмой и девятый генотипы ВБЛ вполне могут быть идентифицированы даже с применением одной рестриктазы – *Hae*III, генерирующей ПДРФ-фрагменты (225/94/87/32/6 bp), характерные для представителей восьмого генотипа; *Hph*I – генерирующей ПДРФ-фрагменты (224/171/49 bp), характерные для представителей девятого генотипа ВБЛ. А с использованием двух рестриктаз могут быть идентифицированы представители второго (*Bst*YI и *Pvu*II), третьего (*Hae*III и *Hph*I) и пятого генотипов (*Hph*I и *Pvu*II) ВБЛ, соответственно (табл. 29).

Наглядные примеры реализаций стратегии ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ в соответствии с его филогенетической классификацией отображены на рис. 14-16.

ПЦР-ПДРФ-профиль провирусного изолята ВБЛ «N-1», отраженный на электрофореграмме рис.14 (треки 2-6), отождествляется как первая комбинация (К1) *env*-ПЦР-ПДРФ-профиля первого генотипа ВБЛ, куда входят не менее 56 депонированных в GenBank NCBI изолятов (табл. 29).

ПЦР-ПДРФ-профиль провирусного изолята ВБЛ «N-4» (рис. 14, треки 8-12) характеризует собой четвёртую комбинацию (К4) *env*-ПЦР-ПДРФ-профиля первого генотипа ВБЛ, насчитывающую не менее 42 выявленных представителей (табл. 29).

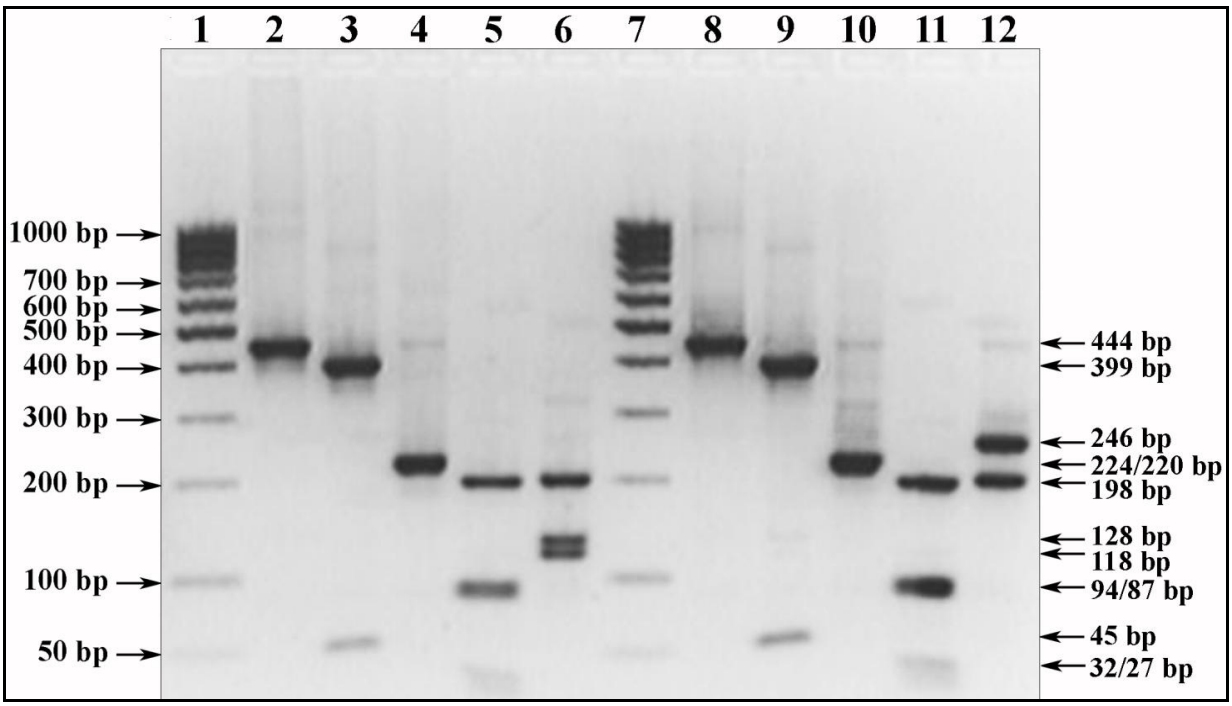

Рисунок 14 – Электрофореграмма комбинаций ПЦР-ПДРФ-профилей (К1 и К4) первого генотипа ВБЛ (усовершенствованная стратегия генотипирования)

Обозначения: 1, 7) ДНК-маркеры 100 bp + 50 bp (СибЭнзим). 2-6) ПЦР-ПДРФ-профиль провирусного изолята ВБЛ «N-1» (К1, первый генотип): 2) *Pvu*II-ПДРФ (444 bp); 3) *Ssp*I-ПДРФ (399/45 bp); 4) *Hph*I-ПДРФ (224/220 bp); 5) *Hae*III-ПДРФ (198/94/87/32/27/6 bp); 6) *Bst*YI-ПДРФ (198/128/118 bp). 8-12) ПЦР-ПДРФ-профиль провирусного изолята ВБЛ «N-4» (К4, первый генотип): 8) *Pvu*II-ПДРФ (444 bp); 9) *Ssp*I-ПДРФ (399/45 bp); 10) *Hph*I-ПДРФ (224/220 bp); 11) *Hae*III-ПДРФ (198/94/87/32/27.6 bp); 12) *Bst*YI-ПДРФ (246/198 bp).

ПЦР-ПДРФ-профиль провирусного изолята ВБЛ «N015» (рис. 15, треки 2-6) отождествляется как семнадцатая комбинация (К17) *env*-ПЦР-ПДРФ-профиля четвёртого генотипа ВБЛ, насчитывающая не менее 16 представителей (табл. 29), в том числе двух циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан изолятов, чьи нуклеотидные последовательности фрагмента *env*-гена были депонированы ранее в GenBank NCBI (провирусные изоляты «N015» (KC867143) и «N062» (KC886615)).

ПЦР-ПДРФ-профиль провирусного изолята ВБЛ «N023» (рис. 15, треки 8-12) характеризует собой восемнадцатую комбинацию (К18) *env*-ПЦР-ПДРФ-профиля четвёртого генотипа ВБЛ (табл. 29), чья депонированная ранее в GenBank NCBI нуклеотидная последовательность фрагмента *env*-гена является для данной комбинации единственно насчитываемой (провирусный изолят «N023» (KC867149)).

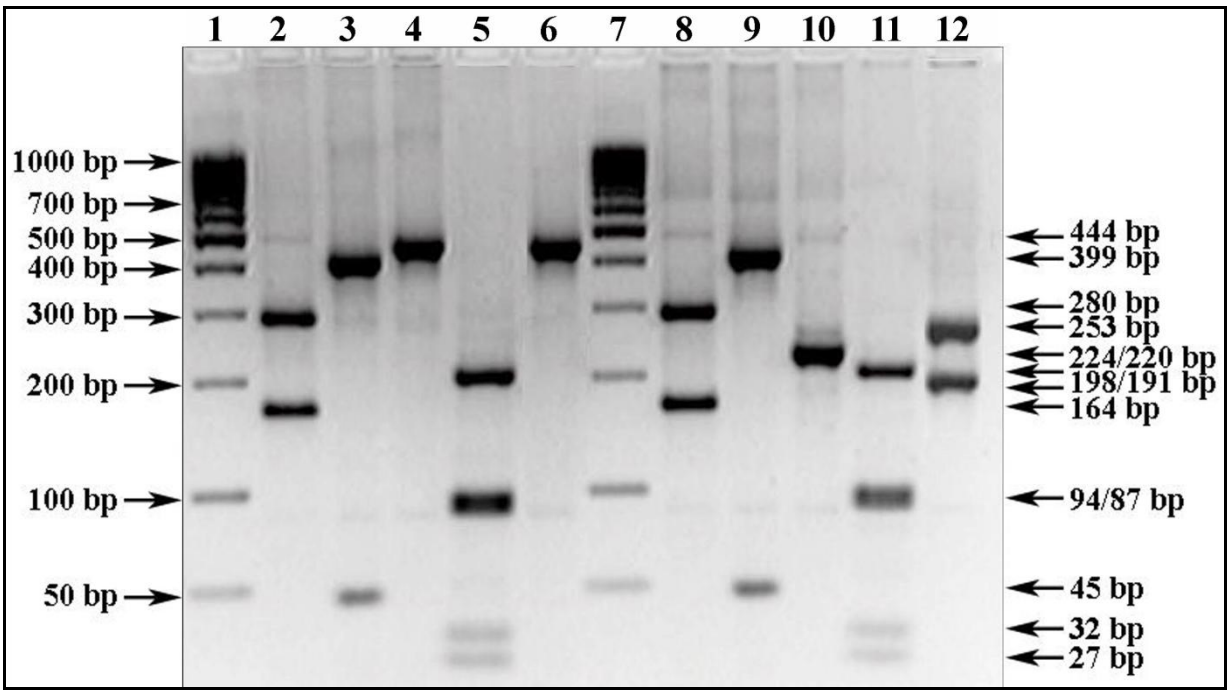

Рисунок 15 – Электрофореграмма комбинаций ПЦР-ПДРФ-профилей (К17 и К18) четвёртого генотипа ВБЛ (усовершенствованная стратегия генотипирования)

Обозначения: 1, 7) ДНК-маркеры 100 bp + 50 bp (СибЭнзим). 2-6) ПЦР-ПДРФ-профиль провирусного изолята ВБЛ «N015» (К17, четвёртый генотип): 2) *Pvu*II-ПДРФ (280/164 bp); 3) *Ssp*I-ПДРФ (399/45 bp); 4) *Hph*I-ПДРФ (444 bp); 5) *Hae*III-ПДРФ (198/94/87/32/27/6 bp); 6) *Bst*YI-ПДРФ (444 bp). 8-12) ПЦР-ПДРФ-профиль провирусного изолята ВБЛ «N023» (К18, четвёртый генотип): 8) *Pvu*II-ПДРФ (280/164 bp); 9) *Ssp*I-ПДРФ (399/45 bp); 10) *Hph*I-ПДРФ (224/220 bp); 11) *Hae*III-ПДРФ (198/94/87/32/27.6 bp); 12) *Bst*YI-ПДРФ (253/191 bp).

ПЦР-ПДРФ-профиль провирусного изолята ВБЛ «N067» (рис. 16, треки 2-6) характеризует собой сорок шестую комбинацию (К46) *env*-ПЦР-ПДРФ-профиля седьмого генотипа ВБЛ (табл. 29), чья депонированная ранее в GenBank NCBI нуклеотидная последовательность фрагмента *env*-гена и для данной комбинации является также единственно насчитываемой (провирусный изолят «N067» (KC886618)).

ПЦР-ПДРФ-профиль провирусного изолята ВБЛ «N006» (рис. 16, треки 8-12) принадлежит сорок восьмой комбинации (К48) env-ПЦР-ПДРФ-профиля восьмого генотипа ВБЛ, насчитывающей не менее 13 представителей (табл. 29), в том числе трёх циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан, чьи нуклеотидные последовательности фрагмента *env*-гена были депонированы ранее в GenBank NCBI (провирусные изоляты «N063» (KC886616), «N006» (KC867140) и «N089» (KC886624)).

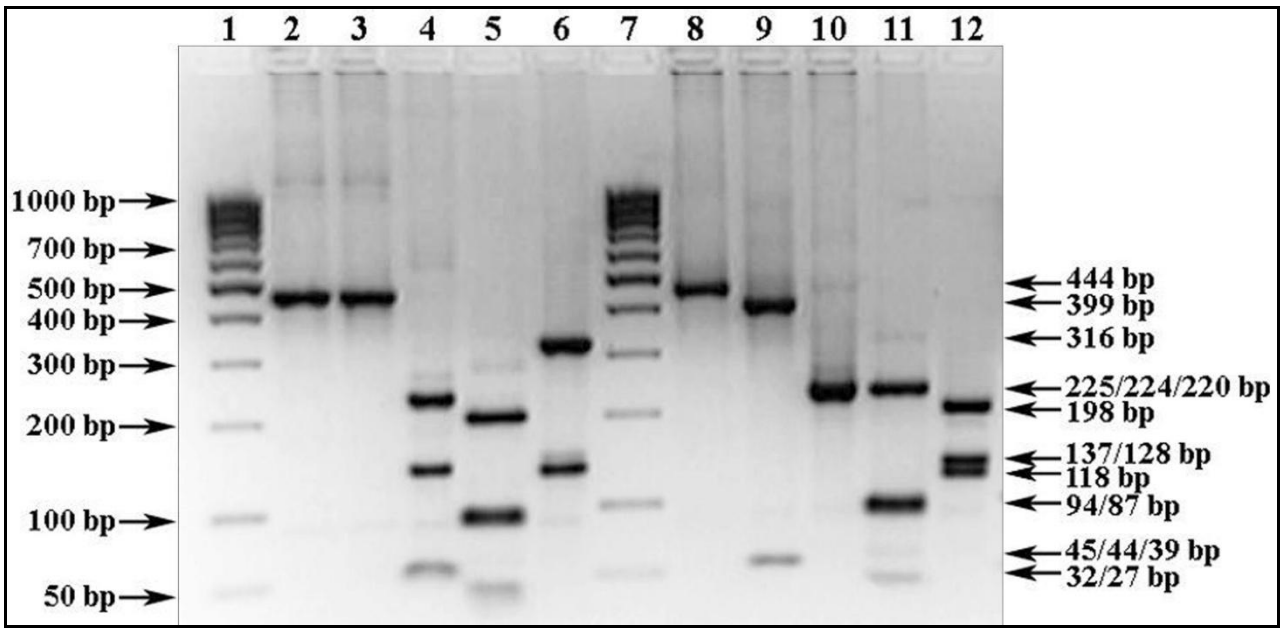

Рисунок 16 – Электрофореграмма комбинаций ПЦР-ПДРФ-профилей (К46 и К48) 7-го и 8-го генотипов ВБЛ (усовершенствованная стратегия генотипирования)

Обозначения: 1, 7) ДНК-маркеры 100 bp + 50 bp (СибЭнзим). 2-6) ПЦР-ПДРФ-профиль провирусного изолята ВБЛ «N067» (К46, седьмой генотип): 2) *Pvu*II-ПДРФ (444 bp); 3) *Ssp*I-ПДРФ (444 bp); 4) *Hph*I-ПДРФ (224/137/44/39 bp); 5) *Hae*III-ПДРФ (198/94/87/32/27/6 bp); 6) *Bst*YI-ПДРФ (316/128 bp). 8-12) ПЦР-ПДРФ-профиль провирусного изолята ВБЛ «N006» (К48, восьмой генотип): 8) *Pvu*II-ПДРФ (444 bp); 9) *Ssp*I-ПДРФ (399/45 bp); 10) *Hph*I-ПДРФ (224/220 bp); 11) *Hae*III-ПДРФ (225/94/87/32/6 bp); 12) *Bst*YI-ПДРФ (198/128/118 bp).

in silico моделирование рестриктограмм по пяти эндонуклеазам рестрикций (*PvuII*, *SspI*, *HphI*, *HaeIII* и *BstYI*) с генотип-специфичными комбинациями *env*-ПЦР-ПДРФ-профилей ВБЛ, представлено на рис. 5.1-5.4.

При этом, достоверность *in silico* моделирования рестриктограмм была обоснована данными, полученными в результате выравнивания и рестрикционного картирования последовательностей ДНК фрагмента *env*-гена референсных изолятов известных генотипов ВБЛ амплифицируемых с олигонуклеотидными праймерами «env5099» + «env5521» (рис. 17).

Согласованность усовершенствованной стратегии ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ с его филогенетической классификацией обоснована, в том числе филогенетическим анализом фрагмента *env*-гена 57 референсных изолятов десяти открытых генотипов ВБЛ (рис. 18), генерирующих 57 генотип-ассоциированных комбинаций ПЦР-ПДРФ-профилей (табл. 29).

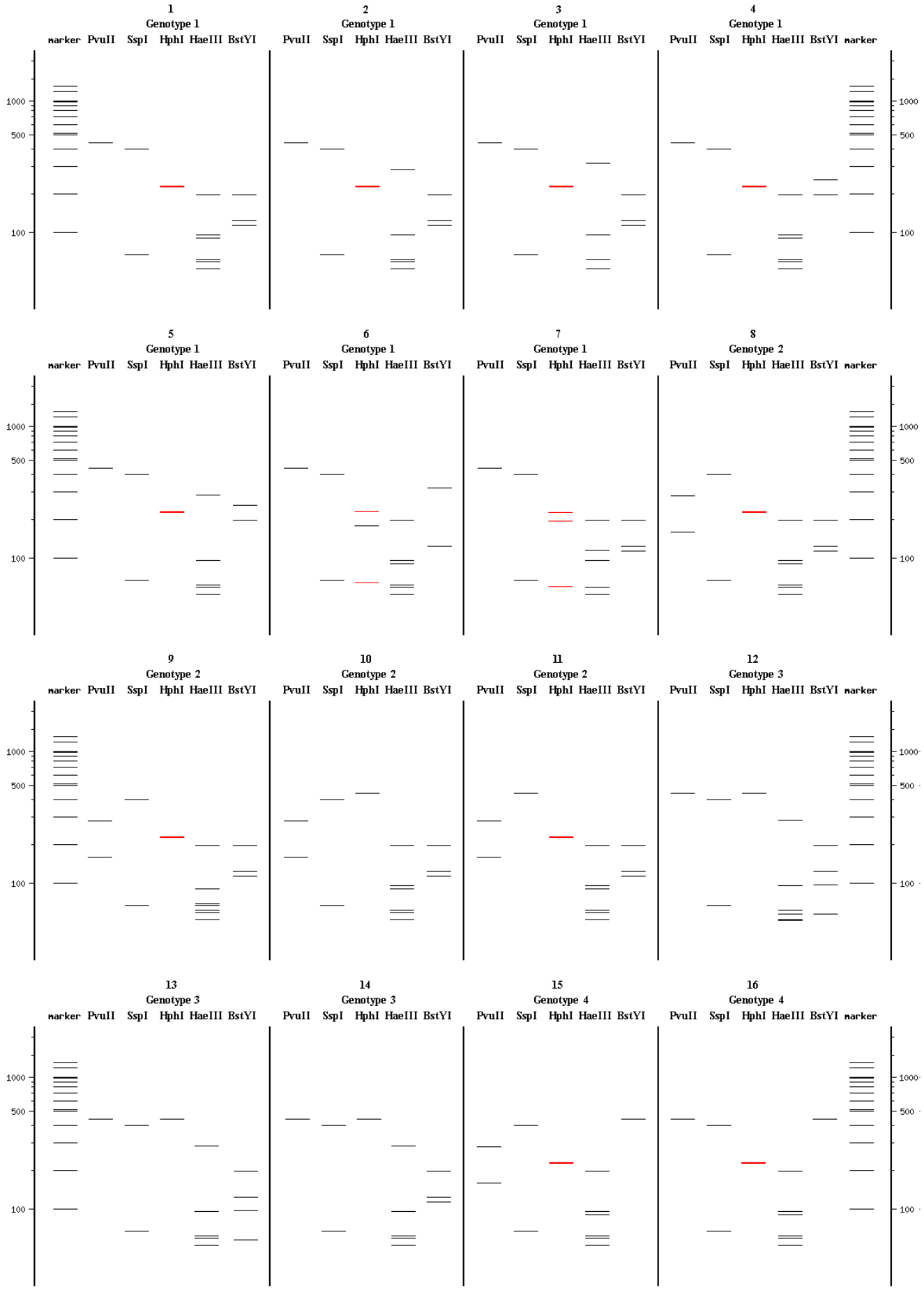

Рисунок 17 – Комбинации *env*-ПЦР-ПДРФ-профилей ВБЛ
(*in silico* моделирование рестриктограмм по 5 ферментам) [начало]

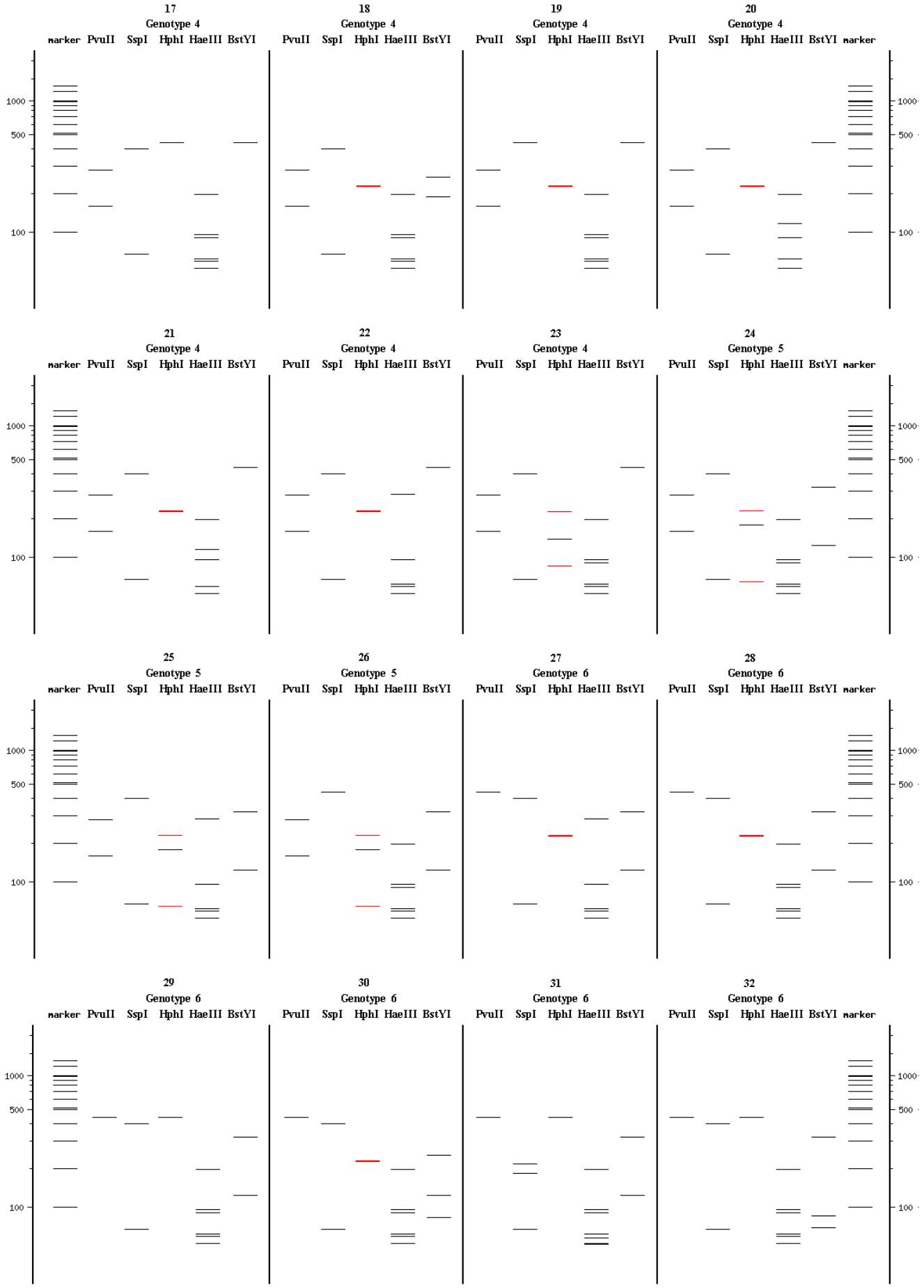

Рисунок 17 – Комбинации *env*-ПЦР-ПДРФ-профилей ВБЛ
(*in silico* моделирование рестриктограмм по 5 ферментам) [продолжение]

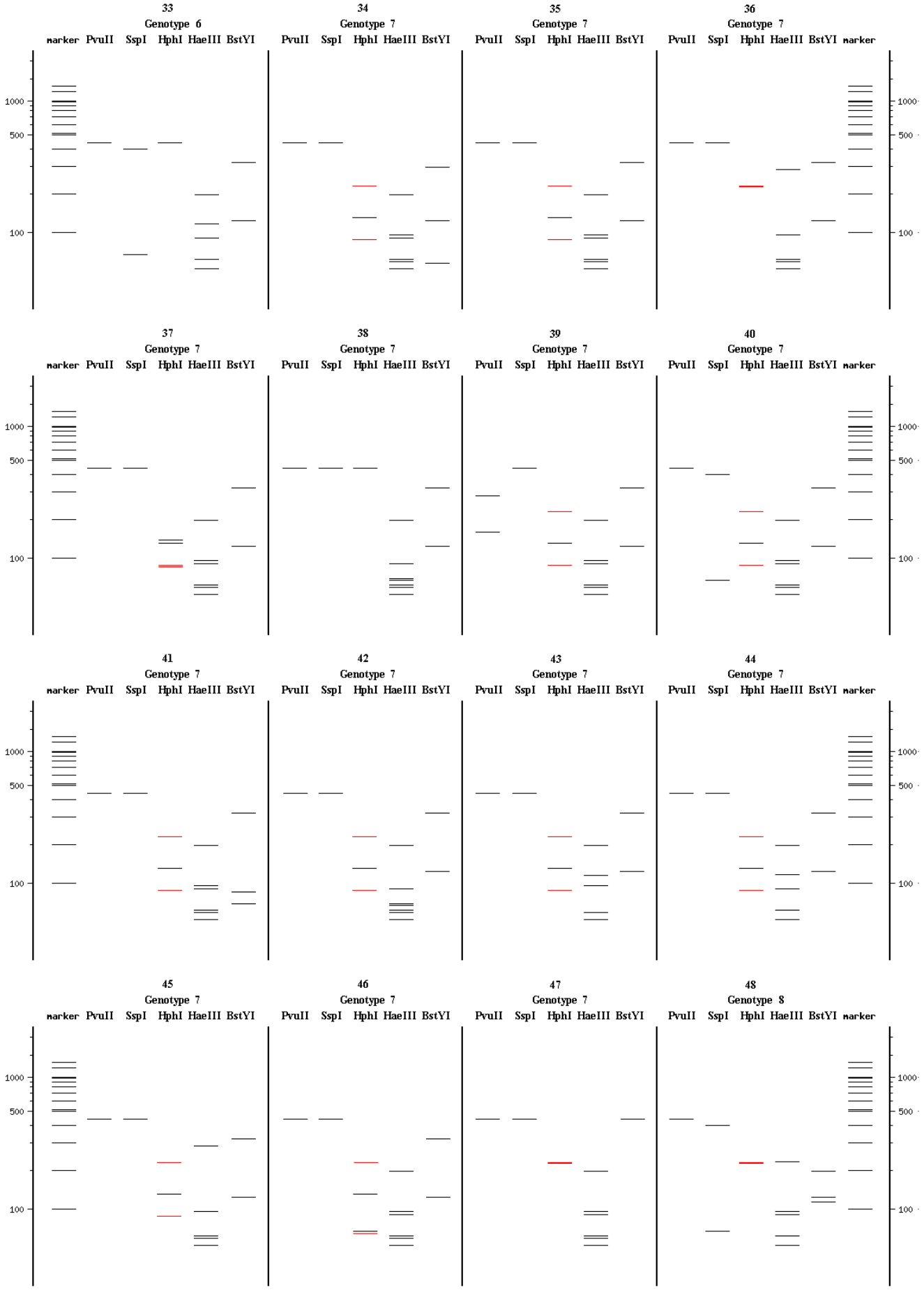

Рисунок 17 – Комбинации *env*-ПЦР-ПДРФ-профилей ВБЛ
(*in silico* моделирование рестриктограмм по 5 ферментам) [продолжение]

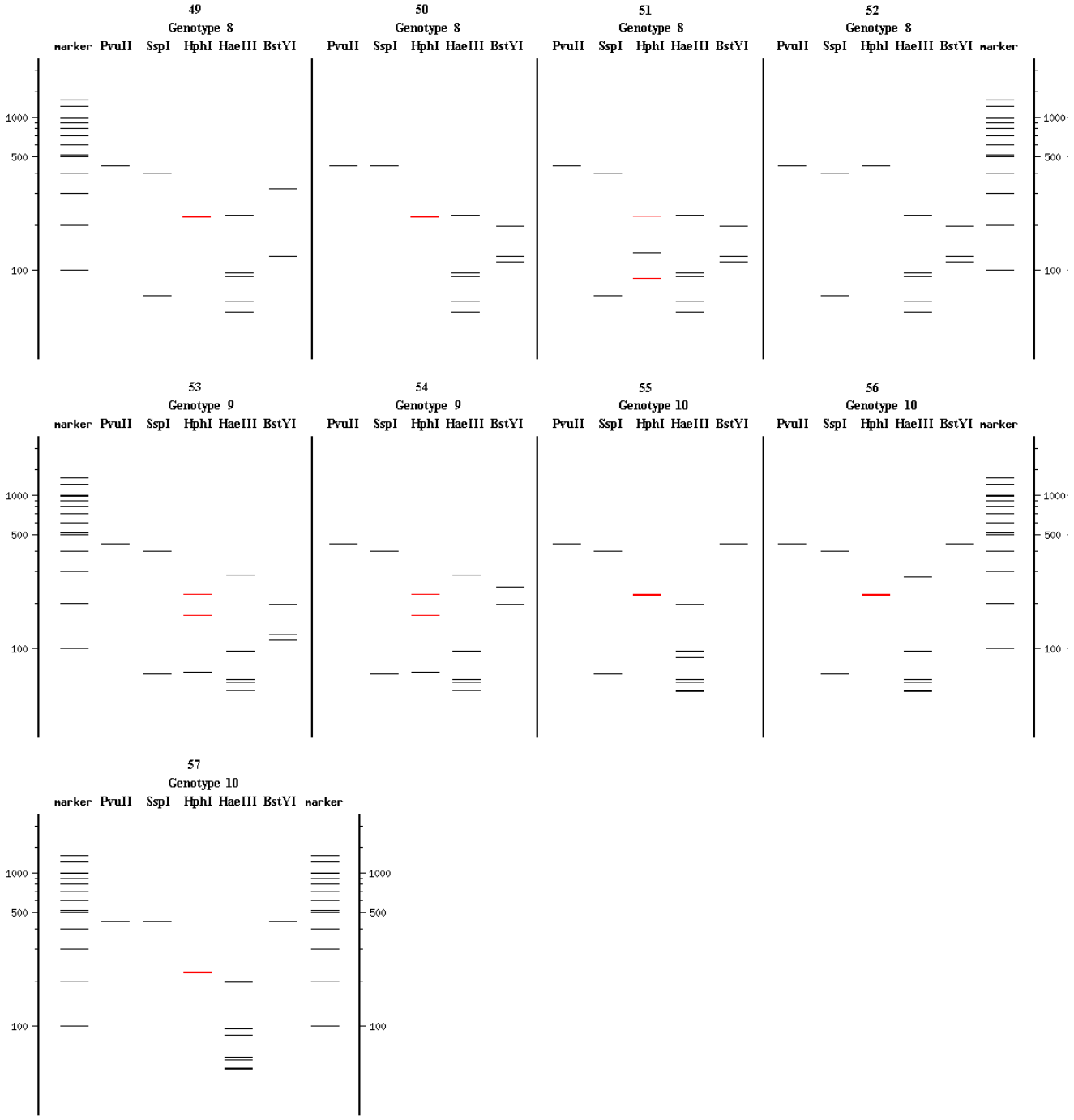

Рисунок 17 – Комбинации *env*-ПЦР-ПДРФ-профилей ВБЛ
(*in silico* моделирование рестриктограмм по 5 ферментам) [завершение]

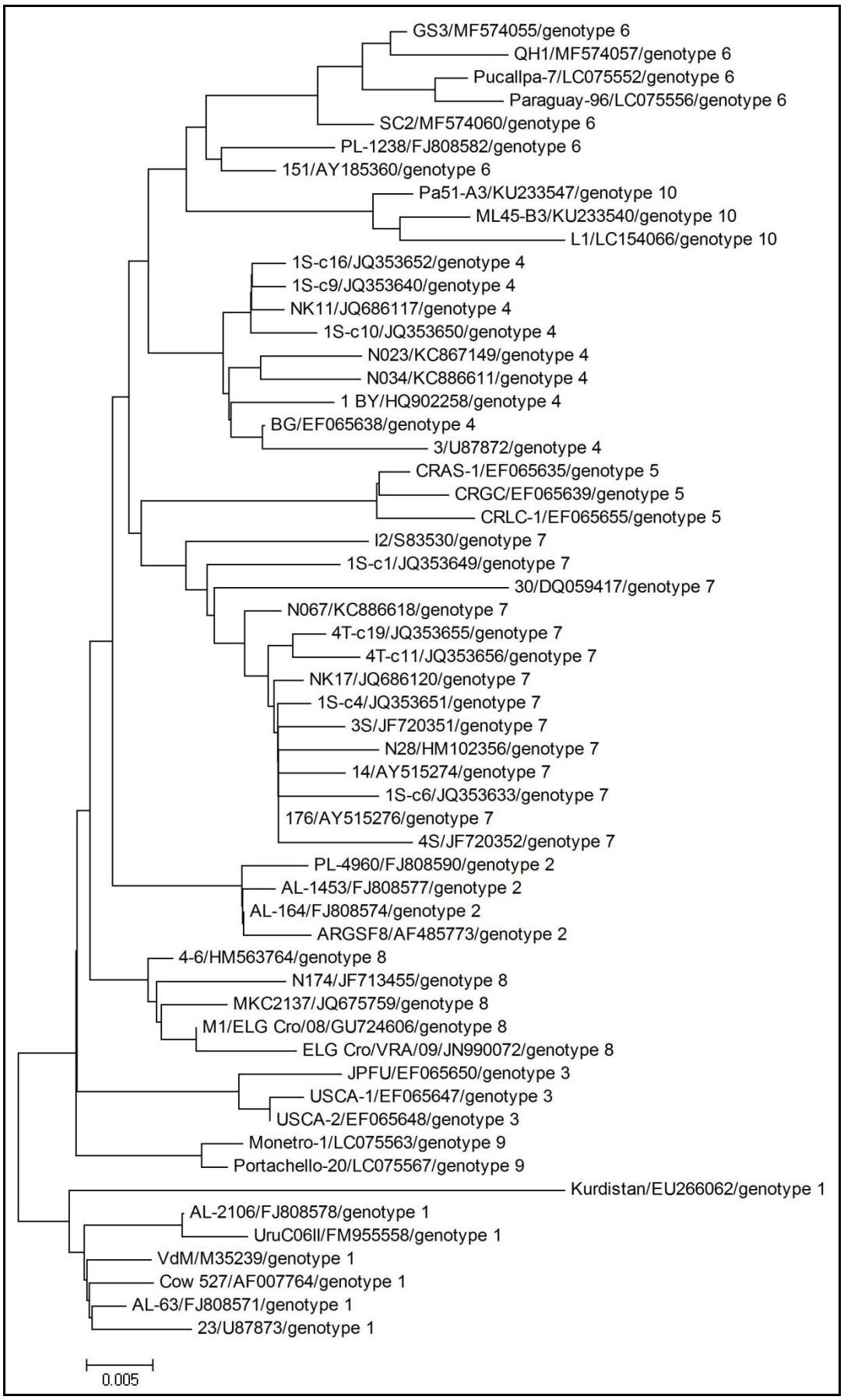

Рисунок 18 – Филограмма 57 референсных изолятов 10 открытых генотипов ВБЛ, выстроенная на основании филогенетического анализа фрагмента *env*-гена [MEGA-4: алгоритм NJ, 400 nt, 57 seq.]

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) – стандартная молекулярно-генетическая процедура определения аллельного полиморфизма, где по длине образующихся фрагментов (рестриктов) делается вывод об отсутствии или наличии точечной SNP мутации, а также о гомозиготности или гетерозиготности исследуемого индивидуума [60].

ПДРФ-анализ ПЦР-амплифицированной ДНК широко используется при идентификации (типировании) аллельных вариантов генов хозяйственно-значимых признаков [11, 62], в т.ч. определяющих устойчивость животных к различным заболеваниям, включая лейкоз крупного рогатого скота [121], этиологическим агентом которого является вирус бычьего лейкоза [10].

В формировании резистентности крупного рогатого скота к лейкозу, наряду с генами главного комплекса гистосовместимости [9], изучена также роль аллельной вариабельности генов цитокинов и индуцибельной синтазы оксида азота (*iNOS*) [8].

Так, в гене *iNOS* за устойчивость к инфицированию вирусом бычьего лейкоза отвечает аллель *A* и гомозиготный вариант *AA*, а за восприимчивость – аллель *B* и генотип *BB*, что установлено анализом влияния двух факторов (породной принадлежности и инфицированности вирусом лейкоза) с учетом распределения частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* между группами серопозитивных и серонегативных животных [67].

Задача, связанная с оценкой аллельного полиморфизма гена *iNOS* в исследуемой выборке быков-производителей была реализована на основе разработанного и апробированного нами способа проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 анализируемого гена, верифицированного, в т.ч. расчетными данными анализа выравнивания и *Hinf*I-рестрикционного картирования фланкируемых и амплифицируемых с праймерами iNOS-F и iNOS-R

соответствующих нуклеотидных последовательностей двух аллельных вариантов (рис. 1), включая *in silico* моделирование генерируемых ПЦР и *Hinf*I-ПДРФ-профилей идентифицируемых генотипов (рис. 2).

При этом, корректная процедура генотипирования обеспечивалась эффективной амплификацией ген-специфичного ПЦР-продукта длиной 258 bp – локуса полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS Bos taurus*, с последующей интерпретацией генерируемых генотип-специфичных фрагментов (*AA*=192/66 п.н., *BB*=258 п.н. и *AB*=258/192/66 п.н.) процедурой *Hinf*I-ПДРФ-анализа (рис. 3).

Полученные результаты оценки аллельного полиморфизма гена *iNOS* в исследуемой выборки животных показали преобладание у быков-производителей молочного и мясного направления продуктивности аллеля *A,* ассоциированного с устойчивостью к инфицированию вирусом бычьего лейкоза (табл. 7), с наблюдаемым распределением частот генотипов, соответствующим теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди-Вайнберга.

Данное направление исследования является актуальным, в том числе в контексте влияния генотипов по гену *iNOS* на показатели молочной продуктивности крупного рогатого скота, до настоящего времени не изученные.

Следующая задача, связанная с изучением ассоциативной связи генотипов полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков была реализована на выборке племенных быков молочного направления продуктивности, представляющих собой помесный и чистопородный голштинский скот. При этом, для оценки быков-производителей по происхождению использовались индексы племенной оценки быков с показателями ближайших женских предков (табл. 9).

Оценкой быков-производителей по родительскому индексу показано, что наибольший РИБ по каждому из трёх проанализированных показателей молочной продуктивности женских предков (удой, содержание молочного жира, выход молочного жира), оказался в группе быков с генотипом *BB* (табл. 9). Данный факт согласуется с литературными данными, описывающими взаимосвязь повышенной

молочной продуктивности со снижением устойчивости к инфицированию вирусом бычьего лейкоза и заболеванию лейкозом крупного рогатого скота.

BoLA DRB3 - ключевой ген, связанный с формированием первичного иммунного ответа организма на вирусную инфекцию. При этом, разные аллели данного гена играют роль, ассоциированную с устойчивостью или чувствительностью к лейкозу крупного рогатого скота. [34, 72].

С устойчивостью к лейкозу крупного рогатого скота связаны следующие *BoLA-DRB3-аллели* – *7, *11, *23, *28, с чувствительностью – *8, *16, *22, *24 [37, 53]. При этом животные-носители хотя бы одного из аллелей устойчивости не будут генетически восприимчивы к данному заболеванию из-за того, что резистентность к лейкозу является доминантным признаком [37, 58, 64].

Для оценки аллельного полиморфизма гена *BoLA-DRB3* применяется способ *BoLA*-типирования методом секвенирования (*SBT, Sequence Based Typing*) [83, 156, 183] усовершенствованная техника которой показала конкурентное преимущество над ПЦР-ПДРФ-анализом в отношении точности генотипирования [83].

В рамках реализации задачи по оптимизации условий проведения ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus*, пригодной для дальнейшей процедуры типирования методом секвенирования (SBT), были апробированы различные варианты постановки реакции (табл. 2) с набором реагентов «Encyclo Plus PCR kit» (ЗАО «Евроген») и олигонуклеотидными праймерами DRB3FRW и DRB3REV (ООО «ДНК-синтез), инициирующими наработку специфичного продукта длиной 319 bp.

Тестированием компонентов реакционных смесей (табл. 2) и режимов термоциклирования (табл. 3) подобраны оптимальные условия реакции, обеспечившие сравнительно высокий выход специфичного продукта локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3* длиной 319 bp, эффективно нарабатываемого в постановке ПЦР с Encyclo GC буфером.

Именно постановка ПЦР с данным буфером, предназначенным для работы со сложными для амплификации фрагментами, в т.ч. богатыми GC участками,

оказалась наиболее оптимальным вариантом накопления специфичного продукта амплификации изучаемой мишени без образования шмеров и неспецифики (рис. 7), в сравнении с двумя другими буферами из набора реактивов «Encyclo Plus PCR kit», приводившими к низкому выходу специфичного продукта на фоне шмера ярковыраженной (рис. 5) или слабовыраженной (рис. 6) интенсивности.

Последующей реализацией стратегии *BoLA*-типирования методом секвенирования (SBT), достигнутой расшифровкой нуклеотидных последовательностей амплифицированной ДНК анализируемого локуса, обеспечена оценка аллельного полиморфизма гена *BoLA-DRB3* в исследуемой выборке быков-производителей (табл. 13) с установлением генотипической структуры исследуемой популяции (табл. 14) в контексте генетической чувствительности и устойчивости к лейкозу крупного рогатого скота.

При этом, по результатам выравнивания фланкируемых с праймерами DRB3FRW и DRB3REV нуклеотидных последовательностей аллелей (рис. 9) и генотипов (рис. 10) *BoLA-DRB3 Bos taurus*, сгенерированы сводные табличные формы, в которых отражены полиморфные нуклеотидные позиции (SNP) идентифицированных аллелей (табл. 10) и генотипов (табл. 11) анализируемого гена, дискриминация которых диагностически значима.

Оценкой аллельного полиморфизма установлены частота встречаемости (табл. 12) и распределение (рис. 11) 17 идентифицированных аллелей гена *BoLA-DRB3* в генотипированной выборке быков-производителей. При этом распределение групп аллелей (Ч, У, Н) в порядке убывания суммарной доли частоты их встречаемости имела следующую конфигурацию: Ч>Н>У.

Оценкой генотипической структуры исследуемой популяции определены частота встречаемости 41 идентифицированного генотипа и их 6 ассоциированных групп (Ч/Ч, Ч/Н, У/Ч, Н/Н, У/Н, У/У) (табл. 13), а также распределение ассоциированных групп генотипов в порядке убывания суммарной доли частоты их встречаемости, имевшей следующую конфигурацию: Ч/Ч>Ч/Н>У/Ч>Н/Н>У/Н>У/У (рис. 12).

Генеральным распределением выборки быков-производителей согласно их генетическому статусу по отношению к лейкозу крупного рогатого скота (табл. 14) показано, что статусом генетической чувствительности к лейкозу с ассоциированной группой генотипов Ч/Ч и Ч/Н обладали 40 быков; статусом генетической устойчивости к лейкозу с ассоциированной группой генотипов У/Н, У/Ч и У/У характеризовались 19 быков; и нейтральным статусом по отношению к лейкозу с ассоциированной группой генотипов Н/Н обладали 9 быков.

В рамках реализации задачи, связанной с изучением ассоциативной связи групп генотипов *BoLA-DRB3* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков также использованы индексы племенной оценки быков, в т.ч. родительский индекс быка (РИБ), показывающий степень возможной передачи потомству признаков молочной продуктивности.

В этой связи проведена оценка быков-производителей разных групп генотипов *BoLA-DRB3*, ассоциированных с восприимчивостью или резистентностью к лейкозу по показателям молочной продуктивности женских предков (табл. 15), с распределением групп генотипов, ассоциированных с устойчивостью (У) и/или чувствительностью (Ч) и/или нейтральным (Н) состоянием по отношению к лейкозу крупного рогатого скота в порядке убывания значений показателей по удою, содержанию молочного жира и выходу молочного жира по результатам оценки родительского индекса быка (РИБ).

При этом установлено, что наибольший показатель РИБ по удою и выходу молочного жира отмечен у быков ассоциированной группы генотипов Н/Н, а по содержанию молочного жира – у быков ассоциированной группы генотипов У/У. Наименьший же показатель РИБ по удою и выходу молочного жира отмечен у быков ассоциированной группы генотипов У/У, а по содержанию молочного жира – у быков ассоциированной группы генотипов Ч/Ч (табл. 15).

Дополнительно проведена оценка быков-производителей разных групп генотипов *BoLA-DRB3*, ассоциированных уже непосредственно с признаками молочной продуктивности, по одноименным показателям женских предков (табл.

17). Данной оценке предшествовал сравнительный анализ распределения частот аллелей гена *BoLA-DRB3*, ассоциированных с признаками молочной продуктивности крупного рогатого скота в исследуемой выборке быков-производителей, имевшего следующую конфигурацию в порядке убывания частоты их встречаемости: *8>*22>*23>*11 (табл. 16), где три аллеля (*8, *11, *23) относятся к группе П-аллелей, ассоциированных с повышенным объемом удоев, а один аллель (*22) принадлежит к группе С-аллелей, ассоциированных со сниженным объемом удоев.

Распределение же групп генотипов, ассоциированных с повышенным (П) и/или со сниженным (С) объемом удоев и/или их нейтральным (Н) состоянием в порядке убывания значений показателей по удою, содержанию молочного жира и выходу молочного жира по результатам оценки родительского индекса быка (РИБ) также было проанализировано (табл. 17).

При этом установлено, что наибольший показатель РИБ по удою, содержанию молочного жира и выходу молочного жира отмечен у быков ассоциированной группы генотипов П/П. Наименьший же показатель РИБ по удою и выходу молочного жира отмечен у быков ассоциированной группы генотипов П/С, а по содержанию молочного жира – у быков ассоциированной группы генотипов Н/Н (табл. 17).

В соответствии с требованиями Технического регламента Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013) мероприятия по профилактике и ликвидации лейкоза крупного рогатого скота приобретают особое значение, учитывая факт значительной распространенности данного неизлечимого заболевания на территории Российской Федерации [42, 44].

При оценке эпизоотической ситуации в Республике Татарстан были проанализированы результаты серологических и гематологических исследований на лейкоз крупного рогатого скота в динамике за 2013-2017 гг. (табл. 18).

Так, если в 2013 году, из 715 тыс. происследованных в РИД голов крупного рогатого скота было выявлено 131 тыс. инфицированных вирусом бычьего лейкоза животных (18,3 %), то к 2017 году их процент снизился на 4,5 % и достиг

13,8 % (118 тыс. голов), на фоне сравнительно большего количества исследованного поголовья (853 тыс. голов) (табл. 18).

Причем, если данные по РИД в период 2015-2017 гг.. показывают снижение из года в год процента выявленных животных, инфицированных вирусом бычьего лейкоза, то по гематологии в этот же промежуток времени наблюдается рост выявленных гематологически больных животных (табл. 18).

Так, если в 2015 году доля выявленных гематологически больных животных составляла 1,8 % (4,8 тыс. голов), то в 2017 году их процент увеличился на 0,3 % и достиг 2,1 % (5,1 тыс. голов), а в 2017 году вырос еще на 0,5 % и равнялся 2,6 % (6,1 тыс. гол.) (табл. 18).

Также проанализированы результаты серологических (РИД) исследований на лейкоз крупного рогатого скота в разрезе районов Республики Татарстан по степени инфицированности поголовья за период 2013-2017 гг. (табл. 19-23).

Так, если в 2013 г. (табл. 19) в группу наиболее высокой степени инфицированности ВБЛ (от 30,1% и выше) входило 7 районов Республики Татарстан (табл. 19), то в 2014 году (табл. 20) число районов с наиболее тяжелой ситуацией по лейкозу возросло до 12, но к 2017 году их количество сократилось вдвое.

В целом, эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в Республике Татарстан характеризуется как эндемическая, остается по-прежнему напряженной, с определенной тенденцией к усугублению.

Согласно отчету по эпизоотической ситуации в Российской Федерации (2-ой квартал 2018 г.), положительных изменений в отношении лейкоза крупного рогатого скота нет.

Если в 2017 году зарегистрировано 207 неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота пунктов, то в 1-м и во 2-м квартале 2018 г. зафиксировано 18 и 63 новых очагов лейкоза, соответственно.

Ежегодно исследуется в РИД более 50 % списочного поголовья, из них до 10 % оцениваются как положительные по результатам гематологического

исследования. При этом выбраковываются около 5 % от числа положительных особей.

Так, в первом полугодии 2018 года исследовано (гематологическая проба) 1060345 гол., выявлено 13526 положительно реагирующих голов, сдано на убой 13159 животных.

Краткосрочный тренд по неблагополучию – нарастающий, по заболеваемости – нисходящий.

В настоящее время для искоренения лейкоза крупного рогатого скота в систему противоэпизоотических мероприятий внедряют раннюю генодиагностику возбудителя с последующим удалением инфицированных животных из стада. Молекулярно-генетическими методами исследования достигается определение и генотипической принадлежности вируса бычьего лейкоза (ВБЛ) с оценкой его генетического разнообразия [12], как филогенетическим анализом секвенируемых последовательностей ДНК провируса, так и ПЦР-ПДРФ-анализом в соответствии с филогенетической классификацией вирусного патогена [186].

Задача, связанная с определением генотипической принадлежности изолятов ВБЛ, циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан, была выполнена с использованием филогенетического анализа секвенируемых последовательностей фрагмента *env*-гена возбудителя и ПЦР-ПДРФ-анализа, согласованного с филогенетической классификацией исследуемого инфекционного агента.

Генотипический состав 179 идентифицированных изолятов ВБЛ, выявленных у крупного рогатого скота животноводческих хозяйств 21 района Республики Татарстан, представлен первым (10 изолятов), четвёртым (106 изолятов), седьмым (55 изолятов) и восьмым (8 изолятов) генотипами изучаемого вирусного патогена.

Таким образом, нами констатируется факт циркуляции в исследуемом ареале четырех из десяти известных генотипов ВБЛ – представителей первого, четвёртого, седьмого и восьмого генотипов идентифицированного возбудителя, соответственно.

Следует учесть, что современная филогенетическая классификация ВБЛ регламентирует наличие десяти генотипов, первые семь из которых впервые описаны аргентинскими учеными в 2009 г. [169], восьмой генотип – исследователями из России [9, 68, 69], Хорватии [82] и коллаборацией европейских ученых [170] в 2011-2013 гг., девятый генотип – группой японских, чилийских и аргентинских ученых в 2016 г. [165], и десятый генотип – группой исследователей из Южной Кореи и Тайланда [139], в том же году.

Необходимо отметить, что отображенная на рис. 13 дендрограма 99 изолятов десяти открытых генотипов ВБЛ, выстроенная на основании филогенетического анализа фрагмента *env*-гена возбудителя, была сгенерирована вместе с депонированными в GenBank NCBI соответствующими нуклеотидными последовательностями провирусных изолятов ВБЛ, циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан.

При этом, анализ внутри- и межгенотипической гетерогенности представителей ВБЛ указывает на несостоятельность «гетерогенного» критерия оценки генетического многообразия вирусного патогена при определении их таксономической принадлежности, в т.ч. из-за процентного диапазона значений внутригенотипической гетерогенности, не разграничивающих интервал значений межгенотипической гетерогенности в идентификационном ключе (табл. 25).

Следующая задача по типизации изолятов ВБЛ с расшифрованными нуклеотидными последовательностями фрагмента *env*-гена в зависимости от выбранной стратегии геноидентификации с последующей оценкой степени согласованности генотипических подходов сопоставлением данных *in silico* ПЦР-ПДРФ и филогенетического анализа, была реализована учетом 505 соответствующих последовательностей, в т.ч. депонированных в GenBank NCBI, в результате которой была подтверждена несогласованность ряда использованных ранее стратегий ПЦР-ПДРФ-типизации [103] с нынешним подходом в оценке его генотипического многообразия филогенетическим анализом.

В качестве яркого примера несогласованности стратегии D. Beier et al (2001) [85] с филогенетической классификацией ВБЛ можно акцентировать внимание на

интерпретацию даже 199 изолятов из 505 проанализированных, относящихся к Австралийской подгруппе согласно ПЦР-ПДРФ-анализу, но согласно уже филогенетическому анализу, относящихся к первому, третьему, шестому, седьмому, восьмому или девятому генотипам возбудителя. При этом, представители первого, шестого и седьмого генотипов могут относиться дополнительно и к Японской и неклассифицируемым подгруппам ВБЛ, соответственно (табл. 26).

В другой наглядный пример несогласованности уже стратегии M. Licursi et al. (2002) [146] с филогенетической классификацией ВБЛ можно обратить внимание даже на интерпретацию 195 изолятов ВБЛ из 505 проанализированных, относящихся к первому генотипу согласно ПЦР-ПДРФ-анализу, но согласно уже филогенетическому анализу, относящихся к первому, четвёртому, шестому или седьмому генотипам возбудителя. При этом, представители первого, шестого и седьмого генотипов (по филогенетической классификации) могут относиться дополнительно и к третьему, пятому, а также неклассифицируемым генотипам ВБЛ (по стратегии M. Licursi et al. (2002) [146]), соответственно (табл. 27).

Несогласованность стратегии H. Fechner et al. (1997) [111] с филогенетической классификацией ВБЛ прослеживается даже при интерпретации 177 изолятов ВБЛ из 505 проанализированных, относящихся к вариантной группе «C» согласно ПЦР-ПДРФ-анализу, но согласно уже филогенетическому анализу, относящихся к первому, третьему, шестому, седьмому или девятому генотипам возбудителя. При этом, представители, первого и седьмого генотипов, могут относиться дополнительно и к вариантным группам «B», «D», а также неклассифицируемым группам ВБЛ, соответственно (табл. 28).

При этом, дополнительно установлены уникальные комбинации ПЦР-ПДРФ-профилей, тождественных 11 неклассифицируемым подгруппам ВБЛ (стратегия типизации по D. Beier et al (2001) [85]) (табл. 26), 19 неклассифицируемым генотипам ВБЛ (стратегия типизации по M. Licursi et al. (2002) [146]) (табл. 27), 17 неклассифицируемым вариантным группам ВБЛ (стратегия типизации по H. Fechner et al. (1997) [111]) (табл. 28).

Общее же число представителей неклассифицируемых подгрупп ВБЛ равнялось 149 (табл. 26), неклассифицируемых генотипов ВБЛ составило 81 (табл. 27), а неклассифицируемых вариантных групп ВБЛ было 56 (табл. 28), из 505 проанализированных.

Несогласованность трех рассмотренных ПЦР-ПДРФ-стратегий типизации ВБЛ (D. Beier et al., 2001 [85]; M. Licursi et al., 2002 [146]; H. Fechner et al., 1997 [111]) с нынешней филогенетической классификацией вирусного патогена, связана, в том числе и с пополнением знаний о генетическом многообразии уже десяти известных генотипов изучаемого возбудителя.

Следующая задача исследования, состоявшая в совершенствовании стратегии ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ, согласуемой с его филогенетической классификацией, была реализована с учетом пополняемых знаний о генетическом разнообразии всех известных генотипов изучаемого вирусного патогена с интерпретационной оценкой ПЦР-ПДРФ-профилей 505 изолятов ВБЛ, осуществленной в результате анализа рестрикционных картирований фрагмента *env*-гена по 5 эндонуклеазам рестрикций (*Pvu*II, *Ssp*I, *Hph*I, *Hae*III и *Bst*YI).

Усовершенствованная стратегия ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ, согласуемая с его филогенетической классификацией, позволяет идентифицировать все изученные генотипы вирусного патогена (табл. 29). достоверность которой обоснована, в том числе *in silico* моделированием рестриктограмм (рис. 17) и филогенетическим анализом фрагмента *env*-гена 57 референсных изолятов десяти открытых генотипов ВБЛ (рис. 18), генерирующих 57 генотип-ассоциированных комбинаций ПЦР-ПДРФ-профилей, интерпретация которых диагностически значима (табл. 29).

Так, из 57 установленных на данный момент комбинаций *env*-ПЦР-ПДРФ-профилей (К1-57), семь комбинаций (К1-7) характерно для 1-го генотипа ВБЛ; четыре комбинации (К8-11) – 2-го генотипа; три комбинации (К12-14) – 3-го генотипа; девять комбинаций (К15-23) – 4-го генотипа; три комбинации (К24-26) – 5-го генотипа; семь комбинаций (К27-33) – 6-го генотипа; четырнадцать

комбинаций (К34-47) – 7-го генотипа; пять комбинаций (К48-52) – 8-го генотипа; две комбинации (К53-54) – 9-го генотипа; и три комбинации (К55-57) – 10-го генотипа ВБЛ, соответственно (табл. 29).

Несмотря на то, что предложенная стратегия ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ предусматривает необходимость использования пяти эндонуклеаз рестрикций, с применением одной только рестриктазы *Hae*III, вполне могут быть успешно идентифицированы изоляты восьмого генотипа, а рестриктазы *Hph*I – изоляты девятого генотипа, из-за генерации уникальных ПДРФ-фрагментов, характерных для каждого из двух перечисленных генотипов. При этом представители второго, третьего и пятого генотипов могут быть идентифицированы с применением двух из пяти заявленных рестриктаз. Исчерпывающая идентификация всех генотипов ВБЛ достигается анализом полной картины *env*-ПЦР-ПДРФ-профилей, генерируемых пятью заявленными рестриктазами, а также сопоставлением полученных данных с результатами филогенетического анализа секвенируемых последовательностей фрагмента *env*-гена возбудителя.

Представленные же в работе электрофореграммы комбинаций ПЦР-ПДРФ-профилей первого (К1 и К4), четвёртого (К17 и К18), седьмого (К46) и восьмого (К48) генотипов ВБЛ были продемонстрированы в качестве примеров успешной реализации усовершенствованной стратегии ПЦР-ПДРФ-генотипирования изучаемого вирусного патогена в соответствии с его филогенетической классификацией (рис. 18).

На основании проведённых исследований сделаны следующие **выводы:**

1. На основе разработанного способа проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* гена оценен аллельный полиморфизм анализируемого гена у исследуемого выборки животных с установлением преобладания у быков-производителей молочного и мясного направления продуктивности аллеля *A*, ассоциированного с устойчивостью к инфицированию вирусом бычьего лейкоза.

2. Изучена ассоциативная связь генотипов полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков с выявлением взаимосвязи повышенной молочной продуктивности с генетической восприимчивостью к инфицированию вирусом бычьего лейкоза и заболеванию лейкозом крупного рогатого скота.

3. Оптимизированные условия проведения ПЦР-амплификации локуса экзона 2 гена *BoLA-DRB3 Bos taurus* пригодны для дальнейшей процедуры типирования методом секвенирования (SBT). При этом ПЦР с Encyclo GC буфером является наиболее оптимальным вариантом для накопления специфического продукта амплификации изучаемой мишени в сравнении с двумя другими буферами из набора реактивов «Encyclo Plus PCR kit».

4. *BoLA*-типированием методом секвенирования (SBT) оценен аллельный полиморфизм гена *BoLA-DRB3* в исследуемой выборке быков-производителей и установлена генотипическая структура популяции в контексте генетической устойчивости и чувствительности к лейкозу крупного рогатого скота. На основании данных частот встречаемости аллелей и генотипов анализируемого гена выяснено распределение групп аллелей (Ч>Н>У) и ассоциированных групп генотипов (Ч/Ч>Ч/Н>У/Ч>Н/Н>У/Н>У/У), а также распределение выборки животных согласно их генетическому статусу по отношению к лейкозу.

5. Изучена ассоциативная связь групп генотипов *BoLA-DRB3* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков с выявлением взаимосвязи сниженной молочной продуктивности с генетической резистентностью к инфицированию вирусом бычьего лейкоза и заболеванию лейкозом крупного рогатого скота, а также наблюдением положительной корреляции между повышенной молочной продуктивностью и генетической предрасположенностью к повышенным объемам удоев.

6. Эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в Республике Татарстан характеризуется как эндемическая, остается по-прежнему напряженной, с определенной тенденцией к усугублению.

7. Генотипическая принадлежность изолятов вируса бычьего лейкоза, циркулирующих в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан, представлена четырьмя из десяти известных генотипов ВБЛ – представителями 1-го, 4-го, 7-го и 8-го генотипов возбудителя, идентифицированных ПЦР-ПДРФ-генотипированием и филогенетическим анализом секвенируемых нуклеотидных последовательностей фрагмента *env*-гена.

8. Несогласованность ряда использованных ранее стратегий ПЦР-ПДРФ-типизации ВБЛ с современной филогенетической классификацией возбудителя, связана, в том числе и с пополнением знаний о генетическом многообразии уже десяти известных генотипов изучаемого вирусного патогена.

9. Усовершенствованная стратегия ПЦР-ПДРФ-генотипирования ВБЛ, согласованная с филогенетической классификацией изучаемого возбудителя, позволяет идентифицировать все изученные генотипы вирусного патогена, достоверность которой обоснована, в том числе *in silico* моделированием рестриктограмм и филогенетическим анализом фрагмента *env*-гена 57 референсных изолятов десяти генотипов ВБЛ, генерирующих 57 генотип-ассоциированных комбинаций ПЦР-ПДРФ-профилей, интерпретация которых диагностически значима.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Внедрить предложенные научно-методические подходы к генотипированию крупного рогатого скота по генам *iNOS* и *BoLA-DRB3*, а также геноидентификации вируса бычьего лейкоза, в систему скрининговых исследований поголовья по ДНК-маркерам генетической резистентности и восприимчивости к лейкозу, а также в систему молекулярного мониторинга инфицированности стад генотипами ВБЛ.

2. Учитывать в селекционно-племенной работе при воспроизводстве молочного стада с генетической устойчивостью к лейкозу крупного рогатого скота изученную ассоциативную связь генотипов полиморфного маркера AH13-1 гена *iNOS* и групп генотипов *BoLA-DRB3* быков-производителей с их племенной ценностью по показателям молочной продуктивности женских предков.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВБЛ – вирус бычьего лейкоза

ГКГ – главный комплекс гистосовместимости

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота.

ИФА – иммуноферментный анализ.

ПДРФ – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов.

ПЦР – полимеразная цепная реакция.

РНК – рибонуклеиновая кислота.

иРНК – информационная (матричная, мРНК) рибонуклеиновая кислота.

кДа – килодальтон.

РИД – реакция иммунодиффузии.

***Asu*HPI** – эндонуклеаза рестрикции из штамма *Actinobacillus suis* HP.

***Bam*HI** – эндонуклеаза рестрикции из штамма *E. coli*, несущего клонированный ген *Bam*HI из *Bacillus amyloliquefaciens* H.

***Bcl*I** – эндонуклеаза рестрикции из штамма *E. coli*, несущего клонированный ген *Bcl*I из *Bacillus caldolyticus* (A. Atkinson).

***Bgl*I** – эндонуклеаза рестрикции из штамма *Bacillus globigii*.

***Bst*X2I** – эндонуклеаза рестрикции из штамма *E. coli*, несущего клонированный ген *Bst*X2I из *Bacillus stearothermophilus* X2

***Bst*YI** – эндонуклеаза рестрикции из штамма *E. coli*, несущего клонированый ген *Bst*YI из *Bacillus stearothermophilus* Y406 (Z. Chen).

BLV – Bovine Leukemia Virus.

bp – base pairs (п.н. – пары нуклеотидов).

BLAST – Basic Local Alignment Search Tool (поисковая программа основного локального выравнивания нуклеотидных и аминокислотных последовательностей).

BoLA – bovine leucocyte antigen.

BSA – Bovine Serum Albumin (бычий сывороточный альбумин).

GenBank A/N – GenBank Accession Number (номер доступа, уникальный идентификатор депонированной в банк генов нуклеотидной последовательности).

dNTPs – deoxynucleosidtriphosphates (дНТФ – дезоксинуклеозидтрифосфаты).

Env – ген, кодирующий белок оболочки вируса.

Gag – ген, кодирующий белковые компоненты нуклеопротеинового ядра вируса.

***Hae*III** – эндонуклеаза рестрикции из штамма *E. coli*, несущего клонированный ген *Hae*III из *Haemophilus aegyptius*.

***Hinf*I** – эндонуклеаза рестрикции из штамма *E. coli*, несущий несущего клонированный ген *Hinf*I из *Haemophilus influenzae*.

***Hph*I** – эндонуклеаза рестрикции из штамма *E. coli*, несущего клонированный ген *Hph*I из *Haemophilus parahaemolyticus* (ATCC 49700).

LTR – Long Terminal Repeat (длинный концевой повтор).

MHC – major histocompatibility complex.

NCBI – National Center for Biotechnology Information (Национальный Центр Биотехнологической Информации).

NO – oxide nitric (оксид азота).

ORF – Open Reading Frame (открытая рамка считывания).

Pol – ген полимеразы / обратной транскриптазы вируса.

Prt – ген протеазы вируса.

***Pvu*II** – эндонуклеаза рестрикции из штамма *E. coli*, несущего клонированный ген *Pvu*II из *Proteus vulgaris*.

Rex – ген, участвующий в посттранскрипционной регуляии вируса

RFLP – Restriction Fragment Length polymorphism (ПДРФ – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов).

SBT – sequence based typing.

seq. – sequence (нуклеотидная последовательность).

***Ssp*I** – эндонуклеаза рестрикции из штамма *E. coli*, несущего клонированный ген *Ssp*I из *Sphaerotilus species*.

SU – Surface protein (поверхностный белок).

Tax **-** ген активации вирусной транскрипции.

TM – TransMembrane protein (трансмембранный белок).

UPGMA – Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages (метод невзвешенного попарного среднего).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альштейн, А.Д. и др. // Биотехнология. – 1992. – № 6. – С. 12.

2. Аминева, С.П. Использование моноклональных антител для диагностики лейкоза КРС / С.П. Аминева, Л.А. Глобенко, В.Н. Петров и др. // Материалы международной конференции, Харьков. – 1995. – С. 240-243.

3. Апалькин, В.А Лейкоз крупного рогатого скота / В.А. Апалькин, М.И. Гулюкин, Н.И. Петров // Библиотечка «Практик». – Санкт-Петербург, Петролазер. – 2005. – 106 с.

4. Артемов, Б.Т. Система противоэпизоотических мероприятий в скотоводческих хозяйствах / Б.Т. Артемов, Л.И. Ефанова, О.А. Манжурина // Учебное пособие. – Воронеж: ВГАУ, 2001. – 40 с.

5. Ахметов, Т.М. Характеристика быков-производителей с разными генотипами бета-казеина по происхождению / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, Р.Р. Вафин, Г.Ф. Кабиров // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2012. – Т. 210. – С. 14-20.

6. Бурба, Л.Г. Диагностика лейкозов сельскохозяйственных животных / Л.Г. Бурба, А.А. Кунаков // Москва, Колос. – 1983. – 191 с.

7. Валихов, А.Ф. Биологические свойства вируса лейкоза крупного рогатого скота: диагностика и профилактика инфекции // Автореферат дисс. докт. биол. наук. М., 1992.-46 с.

8. Валихов, А.Ф. Лейкоз крупного рогатого скота (вирусологические аспекты) / А.Ф. Валихов, В.П. Шишков, Л.Г. Бурба // М.: ВНИИТЭИСХ, 1980. – 78 с.

9. Вафин, Р.Р. Выявление нового (8-го) генотипа ВЛКРС в различных регионах мира / Р.Р. Вафин, Н.З. Хазипов, А.Ю. Шаева, З.Р. Закирова, Л.И. Зайнуллин, С.В. Тюлькин, И.Р. Абдулина, А.М. Алимов // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10 (часть 7). – С. 1467-1471.

10. Вафин, Р.Р. Генотипическая идентификация вируса бычьего лейкоза / Р.Р. Вафин, Н.З. Хазипов, А.Ю. Шаева, З.Р. Закирова, Л.И. Зайнуллин, С.В.

Тюлькин, И.Р. Абдулина, А.М. Алимов // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2014. – № 4. – С. 34-40.

11. Вафин, Р.Р. Оптимизация способов генотипирования крупного рогатого скота по гену каппа-казеина / Р.Р. Вафин, Т.М. Ахметов, Э.Ф. Валиуллина, О.Г. Зарипов, С.В. Тюлькин / Ветеринарная практика. – 2007. – № 2. – С. 54-59.

12. Виноградова, И.В. Изучение генотипического разнообразия, молекулярно-генетической структуры и филогенетический анализ возбудителя лейкоза крупного рогатого скота, циркулирующего в популяции животных из разных регионов России / И.В. Виноградова, Е.А. Гладырь, Н.В. Ковалюк, М.В. Петропавловский, И.М. Донник, Л.К. Эрнст, Н.А. Зиновьева // В сборнике: Современные молекулярно-генетические и иммуно-физиологические подходы к ликвидации гемобластозов животных. ФГБНУ Уральский научно-исследовательский ветеринарный институт, ФГБОУ ВПО Уральский государственный аграрный университет. – Екатеринбург, 2014. – С. 3-18.

13. Волченко, А.Е. Использование маркера BoLA DRB3 для поддержания генетического биоразнобразия в популяциях молочного скота: дис... канд. биол. наук: 06.02.07 / А.Е. Волченко. – Ставрополь, 2015. – 124 с.

14. Гаврилова, Г.А. Диагностика лейкоза крупного рогатого скота / Г.А. Гаврилова, Ю.А. Макаров, С.В. Бахметьева // Ветеринария. – 2004. – №1. – С. 20-23.

15. Галстян, А.Г. Консервированные геропродукты на основе молока / А.Г. Галстян // Молочная промышленность. – 2006. – № 4. – С. 42.

16. Галстян, А.Г. Технология молочных геропродуктов с длительным сроком хранения / А.Г. Галстян, А.Н. Петров, И.А. Радаева // Переработка молока. – 2008. –№ 4. – С. 16-18.

17. Галстян, А.Г. Улучшение качества молочных консервов за счет использования пастеризованного молока-сырья / А.Г. Галстян, И.А. Радаева, В.В. Червенцов // Молочная промышленность. – 2015. – № 5. – С. 42-44.

18. Гильманов, Х.Х. Оптимизация условий проведения ПЦР-амплификации локуса BoLA-DRB3-гена / Х.Х. Гильманов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2017. – Т. 232. – № 4. – С. 31-36.

19. Гильманов, Х.Х. Способ проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллельным вариантам полиморфного маркера AH13-1 гена iNOS / Х.Х. Гильманов, Р.Р. Вафин, Р.Г. Каримова, С.В. Тюлькин // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2018. – № 4. – С. 22-28.

20. Главный комплекс Гистосовместимости Крупного рогатого скота // ВНИИплем. Москва. – 1993. – 120 с.

21. Гладырь, Е.А. Молочная продуктивность коров в зависимости от инфицированности вирусом лейкоза и генотипа по BoLA-DRB3 / Е.А. Гладырь, Н.А. Зиновьева, А.С. Быкова, И.В. Виноградова, Л.К. Эрнст // Достижения науки и техники АПК. – 2012. – № 8. – С. 46-49.

22. Госманов, Р.Г. Ветеринарная вирусология / Р.Г. Госманов, Н.М.Колычев // М.: КолосС. – 2006. – 304 с.

23. Гулюкин, М.И. Исключить крайности в проведении противоэпизоотических мероприятий при лейкозе крупного рогатого скота / М.И. Гулюкин // Ветеринарный консультант. – 2005. – № 13-14. – С. 4-6.

24. Гулюкин, М.И. Лейкоз крупного рогатого скота одна из важнейших проблем ветеринарии / М.И. Гулюкин, Н.В. Замараева, Г.Ф. Коромыслов // Ветеринарная газета. – 2001. – № 5. – С. 1-2.

25. Гулюкин, М.И. Современная эпизоотическая обстановка по лейкозу крупного рогатого скота в странах Европы (по данным МЭБ за 2004 год)/ М.И. Гулюкин, А.В. Шишков// Актуальные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных: мат. межд. науч-прак. конф.: Москва: издательство «ИзографЪ», 2006. – С. 69-72.

26. Донник, И. М. Чувствительность и специфичность диагностических тестов (РИД, ИФА, ПЦР) в выявлении вирусоносителей ВЛКРС среди оздоравливаемого от лейкоза поголовья крупного рогатого скота / И.М. Донник,

М.В. Петропавловский, А.Т. Татарчук // Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики болезней животных и птиц: сб. науч. тр. вед. ученых России и Зарубежья. Екатеринбург: Уральское издательство, 2010. – Вып. 3. – С 113–118.

27. Донник, И.М. Лейкоз крупного рогатого скота в экологически неблагополучных районах Урала / И.М. Донник, А.Т. Татарчук // Материалы международной конференции. – Харьков, 1995. – С. 134-137.

28. Замараева, Н.В. Экспериментальные исследования по выявлению возможности передачи вируса лейкоза крупного рогатого скота через молоко лабораторным животным / Н.В. Замараева, М.И. Гулюкин, М.Н. Снежков // Бюлл. ВИЭВ. – 1996. – № 77. – С. 66.

29. Зиннатов, Ф.Ф. Молекулярная генодиагностика лейкоза крупного рогатого скота: автореф. дис… канд. биол. наук: 03.00.04 / Ф.Ф. Зиннатов. – Казань, 2008 г. – 25 с.

30. Зиновьева, Н.А. Методы маркер-зависимой селекции / Н.А. Зиновьева, Е.А. Гладырь, Г.П. Державина, Е.К. Кунаева // Животноводство России. – 2006. – № 3. – С. 29-31.

31. Ковалюк, Н.В. Изменчивость гена BoLA-DRB3 у крупного рогатого скота молочного направления продуктивности и его влияние на параметры жизнеспособности / Н.В. Ковалюк, В.Ф. Сацук, А.Е. Волченко // Генетика. – 2012. – Т.48. – № 8.– С. 962-965.

32. Ковалюк, Н.В. Использование генетических маркеров для повышения молочной продуктивности коров / Н.В. Ковалюк, В.Ф. Сацук, Е.В. Мачульская // Зоотехния. – 2007. – № 8. – С. 2-4.

33. Ковалюк, Н.В. Использование генетического маркера BoLA-DRB3 для оптимизации селекционного процесса при скрещивании / Н.В. Ковалюк, В.Ф. Сацук // Молочное и мясное скотоводство. – 2010. – № 2. – С. 10-12.

34. Ковалюк, Н.В. Молекулярно-генетические аспекты в селекции и ранней диагностике лейкоза крупного рогатого скота: автореф. дис… д-ра. биол. наук: 03.00.23 / Н.В. Ковалюк. – Дубровицы, 2008. – 32 с.

35. Ковалюк, Н.В. Применение ПЦР при диагностике лейкоза крупного рогатого скота / Н.В. Ковалюк, В.Ф. Сацук, Д.Н. Пархамович // Ветеринария. – 2014. – № 11. – С. 2.

36. Ковалюк, Н.В. Современные методы диагностики лейкоза крупного рогатого скота / Н.В. Ковалюк, В.Ф. Сацук, Е.В. Мачульская // Ветеринария Кубани. – 2007. – №1. – С. 11-12.

37. Козлов, А.Л. Полиморфизм гена BoLA-DRB3 как маркер оценки генетического разнообразия и устойчивости к вирусу лейкоза молочного скота Брянской области: дис... канд. биол. наук: 06.02.07 / А.Л. Козлов. – Брянск, 2016. – 138 с.

38. Коромыслов, Г.Ф. Основы профилактики и ликвидации лейкоза крупного рогатого скота / Г.Ф.Коромыслов, В.П. Шишков // Ветеринария. – 1993. – № 4. – С. 15-18.

39. Кравченко, Н. А. Разведение сельскохозяйственных животных / Н.А. Кравченко // М.: Колос. – 1973. – 212 с.

40. Крикун, В.А. Лейкоз крупного рогатого скота и иммунологическая толерантность / В.А. Крикун // Ветеринария. – 2002. – №. 6. – С. 7-9.

41. Кудрявцева, Т.П. Лейкоз животных / Т.П. Кудрявцева // М.: Россельхозиздат. – 1980. – 158 с.

42. Кузнецова, Т.В. Технический регламеннт ТС «О безопасности молока и молочной продукции» и экономические аспекты его реализации молочными товаропроизводителями России / Т.В. Кузнецова, А.А. Кузнецов, С.В. Кириллова // Агропродовольственная политика России. – 2015. – №. 12 (48). – С. 35-38.

43. Лукашов, В.В. Молекулярная эволюция и филогенетический анализ / В.В. Лукашов // М.: Бином. Лаборатория знаний – 2009. – 256 с.

44. Лысов, А.В. Система индивидуальных ветеринарных и зоотехнических мероприятий по оздоровлению неблагополучных хозяйств от лейкоза крупного рогатого скота на примере Тюменской области / А.В. Лысов, М.В. Петропавловский, А.С. Кривоногова, И.М. Донник // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2017. – № 3. – С. 40-43.

45. Мандигра, М. Наукова – виробнича система «Оріон» у боротьбі злейкозом великої рогатої худоби / М. Мандигра // Ветеринарна медицина. – Квітень, 1998. – С. 22-23.

46. Меркурьева, Е.К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных / Е.К. Меркурьева. – М.: Колос, 1970. – 424 с.

47. Меркурьева, Е.К. Генетические основы селекции в скотоводстве / Е.К. Меркурьева. – М.: Колос, 1977. – 239 с.

48. Мищенко, В.А. Проблема лейкоза крупного рогатого скота / В.А. Мищенко, О.Н. Петрова, А.К. Караулов, А.К., А.В. Мищенко // ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2018. – 38 с.

49. Нахмансон, В.М. Лейкоз крупного рогатого скота / В.М. Нахмансон // М.: Агропромииздат – 1986. – 221 с.

50. Петров, Р.В. Иммунология / Р.В. Петров // М.: Медицина – 1982. – 368 с.

51. Петропавловский, М.В. Эффективность диагностических тестов в выявлении вируса лейкоза крупного рогатого скота в оздоравливаемых от лейкоза стадах: автореф. дис. … канд. вет. наук: 06.02.02 / М.В. Петропавловский. – Екатеренбург, 2010 г. – 26 с.

52. Петухов, В.Л. Ветеринарная генетика с основами вариационной статистики / В.Л. Петухов, А.И. Жигачев, Г.А. Назарова. – М.: Агропромиздат, 1985. – 367 с.

53. Рузина, М.Н. Анализ полиморфизма гена BoLA-DRB3 в связи с генетической устойчивостью крупного рогатого скота к лейкозу и вирусоносительством: дис... канд. биол. наук: 03.02.07 / М.Н. Рузина. – Москва, 2012. – 152 с.

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

55. Серемягин, А.А. Связь генотипов BoLA-DRB3 с племенной ценностью по показателям молочной продуктивности в Российской популяции

молочного скота / А.А. Семерягин, Н.В. Ковалюк, А.Н. Ермилов, И.Н. Янчуков, В.Ф. Сацук, А.В. Доцев, Т.Е. Денискова, Г. Брем, Н.А. Зиновьева // СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОЛОГИЯ. – 2016. – Т.51. – №8. – С. 775-781.

56. Симонян, Г.А. Дифференциальная диагностика различных форм гемобластозов / Г.А.Симонян // Ветеринария. – 2013. – №9. – С. 21-25.

57. Симонян, Г.А. Клиникогематологическая и цитоморфологическая характеристика различных форм лейкозов и их диагностика// В кн.: Лейкозы и злокачественные опухоли животных: под ред. В.П. Шишкова, Л.Г. Бурбы. – М.: Агропромиздат, 1988. – С.154-173.

58. Смазнова, И.А. Характеристика аллельного полиморфизма гена BoLA-DRB3, влияющего на устойчивость к лейкозу, и генов молочной продуктивности у быков-производителей: дис…канд. биол. наук: 03.02.07 / И.А. Смазнова. – Санкт-Петербург, 2014. – 137 с.

59. Сулимова, Г.Е. ДНК-полиморфизм гена BoLA-DRB3 у крупного рогатого скота в связи с устойчивостью и восприимчивостью к лейкозу / Г.Е. Сулимова, И.Г. Удина, Г.О. Шайхаев, И.А. Захаров // Генетика. – 1995. – №31. – С. 1294-1299.

60. Сулимова, Г.Е. Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов ДНК у сельскохозяйственных видов: методы изучения и перспективы тестирования / Г.Е. / Успехи современной генетики. – 1993. – №. 18. – С. 18-24.

61. Туркова, С.О. Полиморфизм генов BoLA-DRB3, пролактина и гормона роста у крупного рогатого скота в связи с устойчивостью к лейкозу и молочной продуктивностью: автореф. дис… канд. биол. наук: 03.00.15 / С.О. Туркова. – Москва. – 2003. – 21 с.

62. Тюлькин, С.В. Полиморфизм по генам соматотропина, пролактина, лептина, тиреоглобулина быков-производителей / С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, Э.Ф. Валиуллина, Р.Р. Вафин // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16. – № 4-2. – С. 1008-1012.

63. Тюлькин, С.В. Характеристика быков-производителей с разными генотипами альфа s1-казеина по происхождению /С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов,

А.В. Муратова, Р.Р. Вафин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2012. – Т. 212. – С. 384-390.

64. Удина, И.Г. Генетические механизмы устойчивости и чувствительности к лейкозу у айрширской и черно-пестрой пород крупного рогатого скота, установленные на основе распределения аллелей гена BoLA-DRB3 / И.Г. Удина, Е.Е. Карамышева, С.О. Туркова, А.Р. Орлова, Г.Е. Сулимова // Генетика. – 2003. – № 3. – С. 383-396.

65. Хазипов, Н.З. Геноидентификация вируса бычьего лейкоза: монография / Н.З. Хазипов, Р.Р. Вафин, А.Ю. Шаева, З.Р. Закирова, А.М. Алимов, Г.Ф. Кабиров. – М.: ИНФРА-М, 2017. – 163 с.

66. Хазипов, Н.З. Трансформация клеток под действием вируса лейкоза крупного рогатого скота – реальный риск развития онкологических болезней человека / Н.З. Хазипов, Р.Р. Вафин, А.Ю. Шаева, Л.И. Зайнуллин // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6. – URL: http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=11792.

67. Чичинина, С.В. Роль аллельной вариабельности генов цитокинов в формировании резистентности крупного рогатого скота к лейкозу: дис. ... канд. биол. наук: 16.00.03, 03.00.23 / С.В. Чичинина. – Новосибирск, 2005. – 107 с.

68. Шаева, А.Ю. Генотипическая идентификация изолятов ВЛКРС, выявленных в хозяйствах Республики Татарстан / А.Ю. Шаева, Р.Р. Вафин, Н.З. Хазипов, Б.В. Камалов, А.М. Алимов, М.Ш. Тагиров // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2011. – Т. 208. – С. 330-337.

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

70. Шаров, А.Н. Тест-системы ПЦР при диагностике лейкоза КРС / А.Н. Шаров // Ветеринарный консультант. – 2006. – №5. – С 5-9.

71. Шишков, В.П. Серологические методы выявления животных, инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота / В.П. Шишков, А.Ф. Валихов // Лейкозы и злокачественные опухоли животных. – М.: Агропромиздат, 1998. – С. 173-194.

72. Эрнст, Л.К. Особенности распространения антигенов BoLA-DRB3 у черно-пестрого скота в связи с ассоциацией с лейкозом / Л.К. Эрнст, Г.Е. Сулимова, А.Р. Орлова, И.Г. Удина, С.П. Павленко // Генетика. – 1997. – № 1. – С. 84-95.

73. Якупов, Т.Р. Возможности ИФА молока в диагностике лейкоза крупного рогатого скота / Т.Р. Якупов, А.М. Алимов, Б.В. Камалов, Н.З. Хазипов // Ученые записки КГАВМ. – 2010. – Т. 201. – С. 133-136.

74. Aida, Y. Cloning of cDNAs and the molecular evolution of a bovine MHC class II DRA gene / Y. Aida, C. Kohda, A. Morooka, Y. Nakai, K. Ogimoto, T. Urao, M. Asahina // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 1994. V. 204. – P. 195–202.

75. Alabbody, H.H.K. Bovine leukosis and the possibility to cause cancer in humans: A scientific review / H.H.K. Alabbody // The Iraqi Journal of Veterinary Medicine. – 2018. – V. 42. – N.1. – P. 52-60.

76. Aldridge, B.M. Denaturing gradient gel electrophoresis: a rapid method for differentiating BoLA-DRB3 alleles / B.M. Aldridge, S.M. McGuirk, R.J. Clark, L.A. Knapp, D.I. Watkins, D.P. Lunn // Animal Genetics. – 1998. – V. 29. – P.389-394.

77. Alexander, J.A. Analysis of equine lymphocyne antigen system by Southern blot hybridization / J.A. Alexander, E. Bailey, J. Woodward // Immunogenetics. – 1987. – V. 25. – P. 47-54.

78. Altare, F. Impairment of mycobacterial immunity in human interleukin-12 receptor deficiency. / F. Altare, A. Durandy, D. Lammas, J.F. Emile, S. Lamhamedi, D.F. Le, P. Drysdale, E. Jouanguy, R. Doffinger, F. Bemaudin, O. Jeppsson, J.A. Gollob, E. Meinl, A.W. Segal, A. Fischer, D. Kumararatne, J.L. Casanova. // Science. – 1998. – V. 280. – P. 1432-1435.

79. Amorena, B. Serologically defined SD locus in cattle / B. Amorena, W.H. Stone // Science. – 1978. – V. 201. – P. 159-160.

80. Andersson, L. Generation of MHC class II diversity by intra-and intergenicrecombination / L. Andersson, S. Mikko // Immunological Reviews. – 1995. – V. 143. – P. 5-12.

81. Andersson, L. Linkage relationships in the bovine MHC region. High recombination frequency between class II subregions / L. Andersson, A. Lunden, S. Sigurdottir, Ch. J. Davies, L. Rask // Immunogenetics. – 1988. – V. 27. – P. 273-280.

82. Balić, D. Identification of a new genotype of bovine leukemia virus / D. Balić, I. Lojkić, M. Periškić, T. Bedeković, A. Jungić, N. Lemo, B Roić, Z. Cač, L. Barbić, J. Madić // Arch. Virol. – 2012. – V. 157. – N. 7. – P. 1281-1290.

83. Baxter, R. A rapid and robust sequence-based genotyping method for BoLA-DRB3 alleles in large numbers of heterozygous cattle / R. Baxter, N. Hastings, A. Law // Anim. Genet. – 2008. – V. 39. – N. 5. – P. 561-563.

84. Beever, J.E. Report of the first workshop on the genetic map of bovine chromosome 23 / J.E. Beever, H.A. Lewin, W. Barendse, L. Andersson, S.M. Armitage, C.W. Beattie, B.M. Burns, S.K. Davis, S.M. Kappes, B.W. Kirkpatrick, R.Z. Ma, R.A. McGraw, R.T. Stone, J.F. Taylor // Anim Genet. – 1996. – V. 27. – N. 2. – P. 69-75.

85. Beier, D. Identification of different BLV provirus isolates by PCR, RFLPA and DNA sequencing / D. Beier, P. Blankenstein, O. Marquardt, J. Kuzmak // Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. – 2001. – V. 114. – N. 7-8. – P. 252-256.

86. Bensaid, A. Pulsedfield gel electrophoresis and its application in the physicalanalysis of the bovine Mhc / A. Bensaid [et. al.] // Gene Mapping Techniques and Applications, McLaren, Eds., Marcel Dekker, New York, NY, USA, – 1991. – P. 127.

87. Bjorkman, P. J. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2 / P. J. Bjorkman et. al. // Nature. – 1987. – V. 329. – P. 506-512.

88. Bogdan, C. Leishmaniasis: principles of the immune response and function of nitric oxide. / C. Bogdan. // Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. – 1998. – V. 111. – N. 11-12. – P. 409-414.

89. Bredt, D.S. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule / D.S. Bredt, S.H. Snyder. // Annu. Rev. Biochem. – 1994. – V. 63. – P. 175-195.

90. Briles, W.E. Marker s disease resistance in chicken affected by complementation of Balloalleles in a cross of commercial parent stocks / W.E. Briles, R.W. Briles, D.L. Pollock, M. Petrison // Anim. Blood Grps. and Biochem. Genet. – 1980. – N. 11. – P. 14.

91. Bruck, C. Monoclonal antibodies define eight independent antigenic regions on the bovine leukemia virus (BLV) envelope glycoprotein gp51 / C. Bruck, S. Mathot, D. Portetelle, C. Berte, J.D. Franssen, P. Herion, A. Burny // Virology. – 1982. – V. 122. – P. 342-352.

92. Buehring, G.C. Bovine leukemia virus DNA in human breast tissue / G.C. Buehring, H.M. Shen, H.M. Jensen, K.Y. Choi, D. Sun, G. Nuovo // PLoS One. – 2014.V. 20. – N. 5 – P. 772-782. DOI: 10.3201/eid2005.131298.

93. Buehring, G.C. Bovine leukemia virus linked to breast cancer in Australian women and identified before breast cancer development / G.C. Buehring, H. Shen, D.A. Schwartz, J.S. Lawson // PLoS One. – 2017. – V. 12. – N. 6. – P. e0179367.

94. Buehring, G.C. Exposure to Bovine Leukemia Virus Is Associated with Breast Cancer: A Case-Control Study / G.C. Buehring, H.M. Shen, H.M. Jensen, D.L. Jin, M. Hudes, G. Block // PLoS One. – 2015. – V. 10. – N. 9. – P. e0134304. DOI: 10.1371/journal.pone.0134304.

95. Burny, A. Bovine leukaemia: facts and hypotheses derived from the study of an infectious cancer / A. Burny, Y. Cleuter, R. Kettmann, et. all. // Cancer Surv. – 1987. – N 6. – V.139-159.

96. Caldwell, J. Serologically detected limphocyte antigens in Holstein cattle / J. Caldwell, C.F. Brayan, P.A. Cumferland, D.F. Weseli // Anim. Blood. Grps. Biochem. Genet. – 1977. – V. 8. – P. 197-207.

97. Cameron, P.U. Consirvation of central MHC genome: PFGE mapping and RFLP analysis of complement, HSP70, and TNF genes in the goat / P.U. Cameron, H.A. Tabarais, B. Pulendran, W. Robinson, R.L. Dawkins // Immunogenetics. – 1990. – V. 31. – P. 253-264.

98. Debacq, C. Reduced Cell Turnover in Bovine Leukemia Virus-Infected, Persistently Lymphocytotic Cattle / C. Debacq, B. Asquith, M. Reichert, A. Burny, R. Kettmann, L. Willems // J. Virol. – 2003. – N. 77. – P. 13073-13083.

99. Denicola, A. Peroxynitrite-mediated cytotoxicity to Trypanosoma cruzi. / A. Denicola, H. Rubbo, D. Rodriguez, R. Radi. // Arch. Biochem. Biophys. – 1993. – V. 304. – P. 279-286.

100. Derse, D. Nucleotide sequence and structure of integrated bovine leukemia virus long terminal repeats / D. Derse, A.J. Diniak, J.W. Casey, P.L. Deininger // Virology. – 1985. – V. 141. – P. 162-166.

101. Derse, D. Two elements in the bovine leukemia virus long terminal repeat that regulate gene expression / D. Derse, J.W. Casey // Science. – 1986. – V. 231. – P. 1437-1440.

102. Deverson, E.V. Class II major histocompatibility complex genes of the sheep / E.V. Deverson, H. Wright, S. Watson, K. Ballingall, N. Huskisson, A.G. Diamond, J.C. Howard // Animal Genetics. – 1991. – V. 22. – P. 211-227.

103. Donnik, I.M. Genetic identification of bovine leukaemia virus / I.M. Donnik, R.R. Vafin, A.G. Galstyan, A.S. Krivonogova, A.Y. Shaeva, Kh.Kh. Gilmanov, R.G. Karimova, S.V. Tyulkin, J. Kuźmak // Foods and Raw Materials. – 2018. – V. 6. – N. 2. – P. 314-324. DOI: http://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-2-314-324.

104. Donnik, I.M. Revisiting the issue of the molecular-genetic structure of the causative agent of the bovine leukemia virus in the Russian Federation / I.M. Donnik, M.V. Petropavlovsky, A.S. Krivonogova, I.A. Shkuratova // Indian Journal of Science and Technology. – 2016. V. 9. – N. 42. – P. 104253. DOI: 10.17485/ijst/2016/v9i42/104253.

105. Dube, S. Degenerate and specific PCR assays for the detection of bovine leukaemia virus and primate T cell leukaemia/lymphoma virus pol DNA and RNA: phylogenetic comparisons of amplified sequences from cattle and primates from around the world / S. Dube, S. Bachman, T. Spicer, J. Love, D. Choi, E. Esteban, J.F. Ferrer, B.J. Poiesz // J. Gen. Virol. – 1997. – V. 78 – P. 1389-1398.

106. Dube, S. The complete genomic sequence of an in vivo low replicating BLV strain / S. Dube, L. Abbott, D.K. Dube, G. Dolcini, S. Gutierrez, C. Ceriani, M. Juliarena, J. Ferrer, R. Perzova, B.J. Poiesz // Virol. J. – 2009. – V. 6. – P. 120.

107. Edwards, S.V. Evolution and ecology of MHC molecules: from genomicsto sexual selection / S.V. Edwards, P.W. Hedrick // Trends in Ecology &Evolution. – 1998. – V.13. – P. 305-311.

108. Ellis, S. The impact of MHC diversity on cattle T cell responses / S. Ellis, G. Codner // Vet. Immunol. Immunopathol. – 2012. – V. 148. – N. 1-2. – P. 74-77.

109. Erskine, R.J. Association between bovine leukemia virus, production, and population age in Michigan dairy herds / R.J. Erskine, P.C. Bartlett, T.M. Byrem et al. // J Dairy Sci. – 2012. – V.95. – N. 2. – P. 727-734.

110. Fechner, H. Evaluation of polymerase chain reaction (PCR) application indiagnosis of bovine leukaemia virus (BLV) infection in naturally infected cattle/ H. Fechner, A. Kurg, L. Geue, P. Blankenstein, G. Mewes, D. Ebner, D. Beier// J. Vet. Med. – 1996. – V. 43. – P. 621-630.

111. 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, J. Elwert, L. Geue, C. Albrecht, A. Kurg, D. Beier, O. Marquardt, D. Ebner // Virology. – 1997. – V. 237. – N. 2. – P. 261-269.

112. Figueroa, F. Class II MHC genes in rodent evolution / F. Figueroa, J. Gutknecht, H. Tyichy, J. Klein // Immunological reviews. – 1990. – V. 113. – N. 1. – P. 27-46.

113. Flajnik, M.F. The major histocompatibility complex of frogs / M.F. Flajnik, L.D. Pasquier // Immunological Reviews. – 1990. – № 113. – P. 47-64.

114. Forrester, K. Nitric oxide-induced p53 accumulation and regulation of inducible nitric oxide synthase expression by wild-type p53. / K. Forrester, S.E. Ambs, R.B. Lupoid, E.A. Kapust, W.C. Spillare, E. Weinberg, X.W. Felley-Bosco, D.A. Wang, E. Geller, T.R. Tzeng, C.C. Harris. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1996. – V. 93. – P. 2442-2447.

115. Garret, T.P.J. Specificity pockets for the side chains of peptide antigens in HLA-Aw68 / T.P.J. Garret [et. al.] // Nature. – 1989. – V.342. – P.692-696.

116. Gillet, M. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human / N. Gillet, A. Florins, M. Boxus, C. Burteau, A. Nigro, F. Vandermeers, H. Balon, Amel-Baya Bouzar, J. Defoiche, A. Burny, M. Reichert, R. Kettmann, L. Willems // Retrovirology – 2007. – V. 4. – P. 18.

117. Goddard, M. View to the future: could genomic evaluation become the standard? / M. Goddard // Interbull bull. – 2009. N. 39. – P. 83-88.

118. Grosse, W.M. Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery and linkage mapping of bovine cytokine genes. / W.M. Grosse, S.M. Kappes, W.W. Laegreid, J.W. Keele, C.G. Chitko-MeKown, M.P. Heaton. // Mammalian Genome. – 1999. – V. 10. – P. 1062-1069.

119. Guillemain, B. Specificity and mechanisms of early and late polykaryocytosis induced by different isolates of the bovine leukemia virus / B. Guillemain, R. Mamoun, T. Astier, J.F. Duplan // 5th Int. Symp. On bovine leukosis, Tubingen (O.C. Straubed.). – 1984. – P. 117139.

120. Gupta, P. Detection of a precursor-like protein of bovine leukaemia virus structural polypeptides in purified virions / P. Gupta, J.F. Ferrer // J. Gen. Virol. – 1980. – V. 47. – P. 311-322.

121. Gutierrez, S.E. Major Histocompatibility Complex-Associated Resistance to Infectious Diseases: The Case of Bovine Leukemia Virus Infection / S.E. Gutierrez, E.N. Esteban, C.M. Lutzelschwab et al. // Trends and Advances in Veterinary Genetics. – 2017. – V. 6. P. 101-126.

122. Heaton, M.P. DNA markers developed to improve food beef quality [Electronic resource] / M.P. Heaton // Cattle Today. – 2006. – URL: http://www.cattletoday.com/archive/2006/October/CT658.shtml.

123. Hediger, R. Chromosome banding and gene localizations support extensive conservation - of chromosome structure between cattle and sheep / R. Hediger, H.A. Ansari, G.F. Stranzinger // Cytogenet Cell Genet. – 1991. – V. 57 (2-3). – P. 127-134.

124. Heeney, J.L. Evidence for bovine leukaemia virus infection of peripheral blood monocytes and limited antigen expression in bovine lymphoid tissue / J.L. Heeney, P.J. Vally, P.M. Jacobs, V.E. Vally // Lab. lnvest. 1992. – V. 66. P. 608-617.

125. Hirsch, F. Class II genes of miniature svine.III. Characterisation of an expressed pig class II gene homologous to HLA-DQA / F. Hirsch, D. Sachs, K. Gustafsson, K. Pratt, S. Germana, C. LeGuern // Immunogenetics. – 1990. – V. 31. – P. 52-56.

126. Ingvartsen, K.L. On the relationship between lactational performance and health: is it yieldor metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper / K.L. Ingvartsen // Livestock Prod. Sci. – 2003, – V. 83. – N. 2-3. – P. 277-308.

127. Jimenez, J.L. Regulation of human immunodeficiency virus type 1 replication in human T lymphocytes by nitric oxide. / J.L. Jimenez, J. Gonzalez-Nicolas, S. Alvarez. // Journal of Virology. – 2001. – V. 75. – N. 10. – P. 4655-4663.

128. Juliarena, M.A. Association of BLV infection profiles with alleles of the BoLA-DRB3.2 gene / M.A. Juliarena, M. Poli, L. Sala, C. Ceriani, S. Gutierrez, G. Dolcini, E.M. Rodrıguez, B. Marino, C. Rodrıguez-Dubra, E.N. Esteban //Animal genetics. – 2008. – V. 39. – P. 432-439

129. Katoh, I. Bovine leukemia virus matrix-associated protein MA(p15): further processing and formation of a specific complex with the dimer of the 5'-terminal genomic RNA fragment / I. Katoh, H. Kyushiki, Y. Sakamoto, Y. Ikawa, Y. Yoshinaka // J. Virol. – 1991. – V. 65. – P. 6845-6855.

130. Katoh, I. Bovine leukemia virus RNA sequences involved in dimerization and specific gag protein binding: close relation to the packaging sites of avian, murine, and human retroviruses / I. Katoh, T. Yasunaga, Y. Yoshinaka // J. Virol. – 1993. – V. 67. – P. 1830-1839.

131. Kaufman, J. The MHC molecules of nonmammalian vertebrates / J. Kaufman, K. Skjoedt, J. Salmonsen // Immunological reviews. – 1990. – № 113. – P. 83 – 118.

132. Kerkhofs, P. In vitro and in vivo oncogenic potential of bovine leukemia virus G4 protein / P. Kerkhofs, H. Heremans, A. Burny, R. Kettmann, L. Willems // J. Virol. – 1998. – V. 72. – P. 2554-559.

133. Kettmann, R. Bovine leukemia virus / R. Kettmann, A.R. Byrny, I. Callebaut, L. Droogmans, M. Mammerick, L. Willems, D. Portetelle. // The Retroviridae. New York. – 1994. – № 3. – P. 39-81

134. Kittelberger, R. Detection of antibodies against the core protein p24 of the bovine leukaemia virus in cattle for confirmatory serological testing / R. Kittelberger, M.P. Reichel, R.M. Meynell // J. Virol. Methods. – 1999. – V. 77. – N. 1. – P. 109-114.

135. Knight, J.C. A polymorphism that affects OCT-1 binding to the TNF promoter region is associated with severe malaria. / J.C. Knight, I. Udalova, A.V. Hill, A.M. Greenwood, N. Peshu. // Nat. Genet. – 1999. – V. 22. – P. 145-150.

136. Krakauer, T. Proinflammatory cytokines. / T. Krakauer, J. Vilcek, J.J. Oppen- heim. // In Fundamental Immunology. Philadelphia. – 1999. – P. 775-811.

137. Kuby, J. Immunology / J. Kuby, W. H. Freeman. – 1994.

138. Lane, B.R. Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HlV-l)-Induced GRO-Production Stimulates HIV-1 Replication in Macrophages and T Lymphocytes. / R. Lane, Robert M. Strieter, Michael J. Coffey and David M. Markovitz. // Journal of Virology. – 2001. – V. 75. N. 13. P. 5812-5822.

139. Lee, E. Molecular epidemiological and serological studies of bovine leukemia virus (BLV) infection in Thailand cattle / E. Lee E, E.J. Kim, J. Ratthanophart, R. Vitoonpong, B.H. Kim, I.S. Cho, J.Y. Song, K.K. Lee, Y.K. Shin // Infect. Genet. Evol. – 2016. – V. 41. – N. 245-254. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.04.010.

140. Leveziel, H. BoLA and bovine leucosis // European Workshop on Bovine Histocompatibility / H. Leveziel // Les Colloques INRA. – 1983. – N. 14. – P. 105-108.

141. Lewin, H. A. Genetic organization, polymorphism, and function of the bovine major histocompatibility complex / H. A. Lewin // in The Major Histocompatibility Complex Region of Domestic Animal Species, CRC Series in

Comparative Immunology, CRC Press, Boca Raton, Fla, USA. – 1996. – V. 4. – P. 65-98.

142. Lewin, H.A. Close linkage between bovine prolactin and BoLA-DRB3 genes: Genetic mapping in cattle by single sperm typing / H.A. Lewin, K. Schmitt, R. Hubert et al. // Genomics. – 1992. – N. 12. – P. 44-48.

143. Lewin, H.A. Comparative organization and function of the major histicompatibility complex of domesticated cattle / H.A. Lewin, G.C. Russel, E.J. Glass // Immunol. Rev. – 1999. – V. 167. – P. 145-158.

144. Lewin, H.A. Disease resistance and immune response genes in cattle: strategies for their detection and evidence of their existence/ H.A. Lewin // J. Dairy Sci. – 1989. – V. 72. – N. 5. – P. 1334-1348.

145. Lewin, H.A. Genomic Organisation Of TheMhc: Structure, Origin and Function / H.A. Lewin; G.C. Russell; E.J. Glass // Immunol. Rev. – 1999. – V. 167. – P. 145-158.

146. Licursi, M. Genetic heterogeneity among bovine leukemia virus genotypes and its relation to humoral responses in hosts / M. Licursi, Y. Inoshima, D. Wu, T. Yokoyama, E.T. González, H. Sentsui // Virus. Res. – 2002. – V. 86. – N. 1-2. – P. 101-110.

147. Liu, K. Nransduction of an IL-2 gene into human melonoma-reactive lymphocytes results their continued growth in the absence of exogenous IL-2 and maintenance of specific antitumor activity. / K. Liu, S.A. Rosenberg. / J. of Immunologi. – 2001. – T. 167. – P. 6356-6365.

148. Lorenz, K. About animal and human behavior / K. Lorenz // Munch. – 1965. – V. 1-2.

149. Madden, D. R. The structure of HLA-B27 reveals nonamer self-peptides bound in anextended conformation / D. R. Madden et. al. // Nature. – 1991. – V. 353. – P.321-325.

150. Maillard, J.C. Characterization of 18 new BoLA-DRB3 alleles / J. C. Maillard et. al. // Animal Genetics. – 1999. – V. 30. – P. 200-203.

151. Mamoun, R.Z. Bovine lymphosarcoma: expression of BLV-related proteins in cultured cells / R.Z. Mamoun, T. Astier, B. Guillemain, J.F. Duplan // J. Gen. Virol. – 1983. – V. 64. – P. 1895-1905.

152. 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, B. Busetta, D. Couez, R. Kettmann, M. Hospital, B. Guillemain // J. Virol. – 1990. – V. 64. – P. 4180-4188.

153. Mamoun, R.Z. The pX region of the bovine leukemia virus is transcribed as a 2.1-kilobase mRNA / R.Z. Mamoun, T. Astier-Gin, R. Kettmann, J. Deschamps, N. Rebeyrotte, B.J. Guillemain // J. Virol. – 1985. – V. 54. – P. 625-629.

154. Mesa, G. Bovine leukemia virus gene segment detected in human breast tissue. Open Journal of Medical Microbiology / G. Mesa, J.C. Ulloa, A.M. Uribe, M.F. Gutierrez // – 2013. – V. 3. – P. 84-90. DOI: 10.4236/ojmm.2013.31013.

155. Miller, J.M. Virus-like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine lymphosarcoma / J.M. Miller, L.D. Miller, C. Olson, K.G. Gillette // J. Natl. CancerInst. – 1969. – V. 43. – P. 1297-1305.

156. Miltiadou, D. Establishment of a sequence-based typing system for BoLA-DRB3 exon 2 / D. Miltiadou, A.S. Law, G.C. Russell. // Tissue Antigens. – 2003. –V. 62(1). – P. 55-65.

157. Moratorio, G. Phylogenetic analysis of bovine leukemia viruses isolated inSouth America reveals diversification in seven distinct genotypes / G.Moratorio, G. Obal, A. Dubra, A. Correa, S. Bianchi, A. Buschiazzo, J. Cristina,O. Pritsch // Arch. Virol. – 2010. – V. 155. – N. 4. – P. 481-489.

158. Nam, I.Y. Genetic Susceptibility to Leukemia in Breeding Black Pied and Holstein Cattle / I.Y. Nam et. al. // Middle-East Journal of Scientific Research. – 2014. – N. 20 (10). – P.1297-1301.

159. Ogawa, Y. Structure of a defective provirus of bovine leukemia virus / Y. Ogawa, N. Sagata, J. Tsuzuku-Kawamura, H. Koyama, M. Onuma, H. Izawa, Y. Ikawa // Microbiol. Immunol. – 1987. – V. 31. – P. 1009-1015.

160. Olaya-Galán, N.N. Bovine leukaemia virus DNA in fresh milk and raw beef for human consumption / N.N. Olaya-Galán, A.P. Corredor-Figueroa, T.C. Guzmán-Garzón, K.S. Ríos-Hernandez, S.P. Salas-Cárdenas, M.A. Patarroyo, Gutierrez, M.F // Epidemiology & Infection. – 2017. V. 145. N. 15. – P. 3125-3130. DOI: 10.1017/S0950268817002229.

161. Oroszlan, S. Amino-terminal sequence of bovine leukemia virus major internal protein: homology with mammalian type C virus p30 structural proteins/ S. Oroszlan, T.D. Copeland, L.E. Henderson, J.R. Stephenson, R.V. Gilden // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 1979. – V. 76 – P. 2996-3000.

162. Ozaki, K. Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. / KOzaki, Y Ohnishi, A Iida, A Sekine, R Yamada, T Tsunoda, H Sato, H Sato, M Hori, Y Nakamura, and T Tanaka. // Nat Genet. – 2002. – V. 32. – N. 4. – P. 650-654.

163. Panei, C.J. Association of BoLA-DRB3.2 alleles with resistance and susceptibility to persistent lymphocytosis in BLV infected Cattle in Argentina / C.J. Panei, K. Suzuki, M.G. Echeverria, M.S. Serena // International Journal of Dairy Science. – 2009. – V. 4. – P. 123-128.

164. Park, C. Genetic mapping of F13A to BTA23 by spermtyping: difference in recombination rate between bulls in the DYA-PRL interval / C. Park [et. al.] // Genomics. – 1995. – V. 27. – N. 1. – P.113-118.

165. Polat, M. A new genotype of bovine leukemia virus in South America identified by NGS-based whole genome sequencing and molecular evolutionary genetic analysis / M. Polat, S.N. Takeshima, K. Hosomichi, J. Kim, T. Miyasaka, K. Yamada, M. Arainga, T. Murakami, Y. Matsumoto, V. de la Barra Diaz, C.J. Panei, E.T. González, M. Kanemaki, M. Onuma, G. Giovambattista, Y. Aida // Retrovirology. – 2016. – V. 13. – N. 4. DOI: 10.1186/s12977-016-0239-z.

166. Puel, A. Mapping of genes controlling quantitative antibody production in Biozzi mice / A. Puel, P.C. Groot, M.G. Lathrop, P. Demant, D. Mouton // Journal of Immunology. – 1995. – N. 154. – P. 5799-5805.

167. Rask, L. Parsimony Analysis of Mammalian Class II Histocompatibility/ L. Rask, L. Andersson, K. Gustafsson, A-K. Jonsson // Genes immunological Reviews. – 1990. – V.113. – N. 1. – P. 187-206.

168. Reichert, M. Influence of selected technological treatments on the BLV provirus DNA occurring in the tissues of leukaemic cattle / M. Reichert, J. Grundboeck-Jusko, J. Rulka, J. Stec, W. Kozaczynski // Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy. – 1994. – V. 38. – N. 2. – P. 52-60.

169. Rodriguez, S.M. Bovine leukemia virus can be classified into seven genotypes: evidence for the existence of two novel clades / S.M. Rodriguez, M.D. Golemba, R.H. Campos, K. Trono, L.R. Jones //J. Gen. Virol. – 2009. – V. 90. – N. 11. – P. 2788-2797. DOI: 10.1099/vir.0.011791-0.

170. 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, A. Gerilovych, I. Vinogradova, B. Choudhury, J. Kuźmak // PLoS One. – 2013. – V. 8. – N. 3. – P. e58705. DOI: 10.1371/journal.pone.0058705.

171. Rupp, R. Association of bovine leukocyte antigen (BoLA) DRB3.2 with immune response, mastitis, and production and type traits in Canadian Holsteins / R. Rupp, A. Hermandez, B.A. Mallard // J. Dairy Sci. – 2007. – V. 90(2). – P. 1029-1038.

172. Russell, G.C. Structure of the BoLA DRB3 gene an promoter / G.C. Russell, J.A. Smith, R.A. Oliver // European Journal of Immunogenetics. – 2004. – N. 31. – P. 145-151.

173. Sagata, N. Complete nucleotide sequence of the genome of bovine leukaemia virus: Its evolutionary relationship to other retroviruses / N. Sagata, T. Yasunaga, J. Tsuzuky-Kawamura // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1985. – V.82. – P. 677-681.

174. Sharif, S. Associations of the bovine major histocompatibility complex DRB3 (BoLA_DRB3) wish production traits in Canadian dairy cattle / S. Sharif, B.A. Mallard, B.N. Wilkie // Animal Genetics. – 1999. – N. 30. – P. 157-160.

175. Sigurdardottir, S. Conserved polymorphism at major histocompatibility DRB loci in man and cattle / S. Sigurdardottir, C. Borsch, K. Gustafsson, L. Andersson // Anim.Genetics. – 1991. – V. 22. – N. 1. – P.59-60.

176. Sigurdardottir, S. Restriction fragment length polymorphism of DQ and DR class II genes of the bovine major histocompatibility complex / S. Sigurdardottir, A. Lunden L. Andersson // Animal Genetics. – 1988. – V. 19. – P. 133-150.

177. Spooner, R. L. Analysis of alloantisera against bovine lymphocytes. Joint report of the 1st International Bovine Lymphocyte Antigen (BoLA) Workshop / R.L. Spooner, R.A. Oliver, D.I. Sales, C.M. McCoubrey, P. Millar, A.G. Morgan, B. Amorena, E. Bailey, D. Bernoco, M. Brandon, R.W. Bull, J. Caldwell, S. Cwik, R.H. van Dam, J. Dodd, B. Gahne, F. Grosclaude, J.G. Hall, H. Hines, H. Leveziel, M.J. Newman, M.J. Stear, W.H. Stone, M. Vaiman // Animal Blood Groups and Biochemical Genetics. – 1979. – V. 10. – P. 63-135.

178. Spooner, R.L. Evidence for a possible major histocompatibility complex (BoLA) in cattle / R.L. Spooner, H. Leveziel, F. Grosclaude, R.A. Oliver, M. Vaiman // Journal of Immunogenetics. – 1978. – V. 5. – P. 335-346.

179. Sulimova, G.E. DNA polymorphism of the BoLA-DRB3 gene in cattle in connection with resistance and susceptibility to leukemia / G.E. Sulimova, I.G. Udina, G.O. Shaïkhaev, I.A. Zakharov // Genetika. – 1995. – V. 31(9). – P. 1294-1299.

180. Takeshima, S. A new method for typing bovine major histocompatibility complex class II DRB3 alleles by combining two established PCR sequence-based techniques / S. Takeshima, Y. Matsumoto, T. Miyasaka, M. Arainga-Ramirez, H. Saito, M. Onuma&Y. Aida. // John Wiley & Sons A/S Tissue Antigens. – 2011. – V. 78. – P. 208-213.

181. Takeshima, S. Identification of new cattle BoLA-DRB3 alleles by sequence-based typing // S. Takeshima et. al. // Immunogenetics. – 2001. – V.53. – P. 74-81.

182. Takeshima, S. Short communication: establishment of a new polymerase chain reaction sequence-based typing method for genotyping cattle major

histocompatibility complex class II DRB3 / S. Takeshima, Y. Matsumoto, Y. Aida. // J Dairy Sci. – 2009. – V. 92. – P. 2965-2970.

183. Takeshima, S. Structure, function and disease susceptibility of the bovine major histocompatibility complex / S. Takeshima, Y. Matsumoto, T. Miyasaka et. al. // Anim. Sci. J. – 2006. – V. 77. – N. 2. – P. 138-150.

184. Uckert, W. Translational order of bovine leukemia virus gag and env gene-coded proteins / W. Uckert, M. Grofova, G. Beaudreau // Virology – 1984. – V. 135. – P. 288-292.

185. Ungar-Waron, H. Experimental infection of calves with bovine leukemia virus (BLV): an applicable model of a retroviral infection / H. Ungar-Waron, R. Paz, J. Brenner, B. Yakobson // Vet. Immunol. Immunopathol. – 1999. – V. 67. – N. 2. – P. 195-201.

186. Vafin, R.R. Genotypic identification of the bovine leukemia virus / R.R. Vafin, N.Z. Khazipov, A.Y. Shaeva, Z.R. Zakirova, L.I. Zaynullin, S.V. Tyulkin, I.R. Abdulina, A.M. Alimov. – 2014 – V. 29. – N. 4. – P. 195-203. DOI: 10.3103/S0891416814040120.

187. Van der Poel, J.J. Analysis of BoLA class II DR and DQ polymorphism / J.J. Van der Poel, R.J.M.L. Dijknof, M.A. Groenen M.A // Animal Genetics. – 1991. – V. 22. – N. 1. P. 60.

188. Van Deventer, S.J.H. Cytokine and cytokine receptor polymorphism in infectious disease. / S.J.H. Van Deventer. // Intensive Care Med. – 2000. – V. 26. – P. 98-103.

189. van Eijk, M.J. Extensive Polymorphism of the BoLA-DRB3 Gene Distinguished by PCR-RFLP / M.J. van Eijk, J.A. Stewart-Haynes, H.A. Lewin // Animal Genetics. – 1992. – V.23. – P. 483-496.

190. van Eijk, M.J. Genetic mapping of BoLA-A, CYP21, DRB3, DYA, and PRL on BTA23 / M.J. van Eijk, J.E. Beever, Y. Da, J.A. Stewart // Mamm Genome. – 1995. – V. 6(2). – P. 151-152.

191. Villalobos-Cortes, A. Enzootic bovine leukosis and the risk to human health / A. Villalobos-Cortes // African Journal of Biotechnology. – 2017. – V. 16. N. 15. – P. 763-770. DOI: 10.5897/AJB2016.15736.

192. Ward, W.H. T-lymphocyte responses of sheep to bovine leukaemia virus infection/ W.H. Ward, C.K. Dimmock, F.W. Eaves // Immunol. Cell Biol. – 1992. – N. 70. – P. 329-336.

193. Willems, L. The major homology region of bovine leukaemia virus p24gag is required for virus infectivity in vivo / L. Willems, P. Kerkhofs, L. Attenelle, A. Burny, D. Portetelle, R. Kettmann // J. Gen. Virol. – 1997. – V. 78. – P. 637-640.

194. Xu, A. Characterization of bovine malorhisticompatibility complex class II genes using the polymerase reaction / A. Xu, H.A. Lewin // Animal Genetics. – 1991. – V. l. – P. 61-62.

195. Xu, A. Polymorphism in BoLA-DRB3 Exon 2 correlates with resistance to persistent lymphoc5dosis caused by Bovine Leukemia virus /A. Xu, M.J.T. van Eijk, C. Park, H.A. Lewin // J. Immunol. – 1993. – V. 151. – N. 12. P. 6977-6985.

196. Zarkik, S. Comparative processing of bovine leukemia virus envelope glycoprotein gp72 by subtilisin / kexin-like mammalian convertases/ S. Zarkik, E. Decroly, R. Wattiez, N.G. Seidah, A. Burny, J. M. Ruysschaert // FEBS Lett. – 1997. – V. 406. – P. 205-210.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Таблица – Гетерогенность референсных представителей ВБЛ по *env*-гену (%-ное отношение)

№ п.п.	Изолят	GenBank A/N	Генотип 1							Генотип 2				Генотип 3			Генотип 4									Генотип 5			Генотип 6							Генотип 7															Генотип 8					Г-п 9		Г-п 10		
			01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57
01	AL-63	FJ808571		1	1	1	2	1	4	3	3	3	3	3	3	4	3	4	3	4	3	3	3	3	3	4	4	4	3	3	4	4	5	4	5	4	3	3	4	4	5	4	3	3	3	4	4	4	3	3	4	2	3	3	2	3	3	3	3	4	4	5
02	Cow 527	AF007764	1		2	2	2	1	5	3	4	4	3	4	3	4	3	4	3	4	4	3	3	3	4	4	4	4	3	3	4	4	5	5	5	4	3	3	4	5	4	3	4	4	4	4	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3	4	5	5
03	23	U87873	1	2		2	2	2	5	3	4	4	4	3	3	4	3	4	4	4	4	4	4	3	4	4	4	5	4	3	4	4	5	5	5	4	4	4	4	5	4	4	4	4	5	4	4	4	4	3	4	4	3	3	3	3	3	4	5	6
04	AL-2106	FJ808578	1	2	2		1	2	5	3	4	4	4	4	4	4	3	4	3	4	4	3	3	3	4	4	4	5	4	3	4	4	5	5	5	4	4	4	4	5	4	4	4	4	5	4	4	4	4	3	4	4	3	3	3	3	3	4	5	6
05	UruC06II	FM955558	2	2	2	1		2	5	4	4	4	4	4	4	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	5	4	4	5	5	6	5	6	4	4	5	5	6	5	4	4	4	5	5	4	4	4	3	3	3	3	3	4	3	3	4	5	6
06	VdM	M35239	1	1	2	2	2		5	3	4	4	3	4	3	4	3	3	3	4	4	3	3	3	4	3	4	4	4	3	4	4	5	5	5	4	3	4	4	5	4	3	4	4	4	4	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3	4	5	5
07	Kurdistan	EU266062	4	5	5	5	5	5		6	6	6	6	6	6	7	6	7	6	7	7	7	6	6	7	7	7	7	6	6	7	6	7	7	7	7	6	7	7	8	7	6	7	7	7	7	7	6	7	6	6	6	6	6	6	6	7	7	7
08	AL-164	FJ808574	3	3	3	3	4	3	6		1	1	1	3	3	3	2	4	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	3	4	4	5	4	5	3	3	3	3	4	3	3	3	3	4	3	3	3	3	2	3	3	2	3	3	3	4	4	5
09	PL-4960	FJ808590	3	4	4	4	4	4	6	1		1	1	3	3	4	3	4	3	3	3	4	3	3	3	4	4	5	3	3	4	4	5	5	5	4	3	4	4	4	3	3	3	4	4	4	4	3	4	3	4	4	3	3	3	3	4	5	6
10	ARGSF8	AF485773	3	4	4	4	4	4	6	1	1		1	3	3	4	3	4	3	3	3	4	3	3	3	4	4	5	3	3	4	4	5	5	5	4	3	4	4	5	3	3	3	3	4	4	4	3	4	3	4	4	3	3	3	3	4	5	6
11	AL-1453	FJ808577	3	3	4	4	4	3	6	1	1	1		3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	3	4	4	5	5	5	4	3	3	3	5	3	3	3	3	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	5	5
12	USCA-1	EF065647	3	4	3	4	4	4	6	3	3	3	3		1	2	3	5	4	4	4	4	4	3	4	5	4	5	4	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	5	4	4	4	4	5	4	4	4	4	3	4	4	3	3	3	3	4	5	6
13	USCA-2	EF065648	3	3	3	4	4	3	6	3	3	3	3	1		1	3	4	3	4	4	4	4	3	4	4	4	5	4	3	3	3	4	4	4	4	3	4	4	5	4	3	4	4	4	4	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3	4	5	5
14	JPFU	EF065650	4	4	4	4	5	4	7	3	4	4	3	2	1		4	5	4	4	4	4	4	4	4	5	4	5	4	4	4	4	5	5	5	5	4	4	4	6	4	4	4	4	5	5	5	4	4	3	4	4	3	3	3	3	5	5	6
15	BG	EF065638	3	3	3	3	4	3	6	2	3	3	3	3	3	4		2	1	2	1	2	1	1	1	3	3	4	3	2	3	3	4	4	4	3	3	3	3	4	3	3	3	3	4	3	3	3	2	2	3	3	2	3	3	2	3	4	5
16	3	U87872	4	4	4	4	4	3	7	4	4	4	4	5	4	5	2		2	3	3	3	2	2	3	4	5	5	4	4	5	4	5	5	5	4	4	4	4	6	4	4	4	4	5	5	5	4	3	4	4	4	4	4	4	3	4	5	5
17	1S-c16	JQ353652	3	3	4	3	4	3	6	3	3	3	3	4	3	4	1	2		2	2	2	1	1	1	3	4	4	3	2	3	3	4	3	4	4	3	3	3	5	3	3	3	3	4	4	4	3	2	3	3	3	3	3	3	3	4	4
18	N023	KC867149	4	4	4	4	4	4	7	3	3	3	3	4	4	4	2	3	2		2	2	2	2	2	4	4	4	3	3	4	4	5	4	5	4	3	4	4	5	3	3	3	4	4	4	4	3	3	3	4	4	3	3	4	3	4	5	5
19	1_BY	HQ902258	3	4	4	4	4	4	7	3	3	3	3	4	4	4	1	3	2	2		2	2	2	2	4	4	4	3	3	4	4	5	4	5	4	3	4	4	5	3	3	3	3	4	4	4	3	3	3	4	3	3	3	3	3	4	4	5
20	N034	KC886611	3	3	4	3	4	3	7	3	4	4	3	4	4	4	2	3	2	2	2		2	2	2	4	4	4	4	3	4	4	5	4	4	4	3	4	4	5	3	3	3	4	4	4	4	3	3	3	4	4	3	3	4	3	4	5	5
21	1S-c9	JQ353640	3	3	4	3	4	3	6	3	3	3	3	4	3	4	1	2	1	2	2	2		1	1	3	4	4	3	2	3	3	4	3	4	4	3	3	3	5	3	3	3	3	4	4	4	3	2	3	3	3	3	3	3	3	4	4
22	NK11	JQ686117	3	3	3	3	4	3	6	3	3	3	3	3	3	4	1	2	1	2	2	2	1		1	3	3	4	3	2	3	3	4	3	4	4	3	3	3	5	3	3	3	3	4	4	4	3	2	3	3	3	3	3	3	3	4	4
23	1S-c10	JQ353650	3	4	4	4	4	4	7	3	3	3	3	4	4	4	1	3	1	2	2	2	1	1		4	4	4	3	2	3	3	4	4	4	4	3	4	3	5	3	3	3	3	4	4	4	3	2	3	4	4	3	3	3	3	3	4	4
24	CRAS-1	EF065635	4	4	4	4	5	3	7	4	4	4	4	5	4	5	3	4	3	4	4	4	3	3	4		1	1	4	4	5	4	5	5	5	4	3	4	4	5	3	3	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	6
25	CRGC	EF065639	4	4	4	4	5	4	7	4	4	4	4	4	4	4	3	5	4	4	4	4	4	3	4	1		2	4	4	5	5	6	5	6	5	4	5	5	5	4	4	4	4	5	5	4	4	5	4	5	5	4	4	4	4	5	5	6
26	CRLC-1	EF065655	4	4	5	5	5	4	7	4	5	5	4	5	5	5	4	5	4	4	4	4	4	4	4	1	2		5	4	5	5	6	6	6	5	4	4	4	5	4	4	4	4	5	5	4	3	4	4	5	5	4	4	4	5	5	6	6
27	PL-1238	FJ808582	3	3	4	4	4	4	6	3	3	3	3	4	4	4	3	4	3	3	3	4	3	3	3	4	4	5		2	3	3	4	3	4	4	3	3	4	5	4	3	3	3	4	4	4	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3	4
28	151	AY185360	3	3	3	3	4	3	6	3	3	3	3	3	3	4	2	4	2	3	3	3	2	2	2	4	4	4	2		2	2	3	3	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	4	3	3	3	3	2	3	3	2	3	3	3	3	3	4
29	GS3	MF574055	4	4	4	4	5	4	7	4	4	4	4	3	3	4	3	5	3	4	4	4	3	3	3	5	5	5	3	2		2	1	2	2	4	4	4	4	5	4	4	4	4	5	4	4	4	4	4	3	4	4	3	4	4	4	4	5
30	SC2	MF574060	4	4	4	4	5	4	6	4	4	4	4	3	3	4	3	4	3	4	4	4	3	3	3	4	5	5	3	2	2		2	2	2	4	3	4	4	5	4	3	4	4	4	4	4	3	3	3	3	4	4	3	4	4	4	4	4
31	QH1	MF574057	5	5	5	5	6	5	7	5	5	5	5	4	4	5	4	5	4	5	5	5	4	4	4	5	6	6	4	3	1	2		2	2	5	4	5	5	6	5	4	5	5	5	5	5	4	4	4	4	5	4	4	5	5	5	5	5
32	Pucallpa-7	LC075552	4	5	5	5	5	5	7	4	5	5	5	4	4	5	4	5	3	4	4	4	3	3	4	5	5	6	3	3	2	2	2		1	4	4	5	5	5	5	4	4	4	5	5	5	4	4	4	4	5	4	4	4	4	4	5
33	Paraguay-96	LC075556	5	5	5	5	6	5	7	5	5	5	5	4	4	5	4	5	4	5	5	4	4	4	4	5	6	6	4	3	2	2	2	1		5	4	5	5	6	5	4	5	5	5	5	5	4	4	4	4	5	4	4	5	5	5	5	5
34	N28	HM102356	4	4	4	4	4	4	7	3	4	4	4	4	4	5	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	4	3	4	4	5	4	5		1	3	2	4	2	2	1	1	2	2	2	2	3	3	4	4	3	4	4	4	4	4	5
35	176	AY515276	3	3	4	4	4	3	6	3	3	3	3	4	3	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	3	3	4	4	4	4	4	1		2	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	2	3	3	3	2	3	3	3	4	4	5
36	I2	S83530	4	3	4	4	5	4	7	3	4	4	3	4	4	4	3	4	3	4	4	4	3	3	4	4	5	4	3	3	4	4	5	5	5	3	2		3	4	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	4	4	3	3	4	4	4	5	5
37	14	AY515274	4	4	4	4	5	4	7	3	4	4	3	4	4	4	3	4	3	4	4	4	3	3	3	4	5	4	4	3	4	4	5	5	5	2	1	3		4	1	1	1	1	2	2	2	1	2	3	4	4	3	3	4	4	4	5	5
38	30	DQ059417	5	5	5	5	6	5	8	4	4	5	5	5	5	6	4	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5	5	6	5	6	4	3	4	4		4	3	3	3	4	4	3	3	4	4	5	5	4	5	5	5	5	6
39	3S	JF720351	4	4	4	4	5	4	7	3	3	3	3	4	4	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	4	4	5	5	5	2	1	3	1	4		1	1	1	2	2	2	1	2	3	4	4	3	3	4	4	4	5	5
40	4T-c19	JQ353655	3	3	4	4	4	3	6	3	3	3	3	4	3	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	3	3	4	3	4	4	4	2	1	3	1	3	1		1	1	2	2	1	1	2	3	3	3	2	3	3	3	4	4	5
41	1S-c4	JQ353651	3	4	4	4	4	4	7	3	3	3	3	4	4	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	3	4	4	5	4	5	1	1	3	1	3	1	1		1	2	1	1	1	2	3	4	4	2	3	3	3	4	4	5
42	NK17	JQ686120	3	4	4	4	4	4	7	3	3	3	3	4	4	4	3	4	3	4	4	3	3	3	3	4	4	4	3	3	4	4	5	4	5	1	1	3	1	3	1	1	1		2	1	1	1	2	3	4	4	2	3	3	3	4	4	5
43	4S	JF720352	4	4	5	5	5	4	7	4	4	4	4	5	4	5	4	5	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	4	4	5	4	5	5	5	2	1	3	2	4	2	2	2	2		2	2	2	3	4	4	4	3	4	4	4	5	5	6
44	1S-c6	JQ353633	4	4	4	4	5	4	7	3	4	4	4	4	4	5	3	5	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	4	3	4	4	5	5	5	2	1	3	2	4	2	2	1	1	2		2	2	3	3	4	4	3	4	3	3	4	5	5
45	4T-c11	JQ353656	4	4	4	4	4	4	7	3	4	4	4	4	4	5	3	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4	5	5	5	2	1	3	2	3	2	1	1	1	2	2		2	3	3	4	4	2	3	3	3	4	4	5
46	N067	KC886618	3	3	4	4	4	3	6	3	3	3	3	4	3	4	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	4	3	3	3	4	3	4	4	4	2	1	2	1	3	1	1	1	1	2	2	2		2	3	3	3	2	3	4	3	4	4	5
47	1S-c1	JQ353649	4	4	4	4	4	4	7	3	4	4	3	4	4	4	2	3	2	3	3	3	2	2	2	4	5	4	3	3	4	3	4	4	4	3	2	3	2	4	2	2	2	2	3	3	3	2		3	4	4	3	3	4	4	3	4	5
48	M1/EL080656G_Cro/08	GU724606	2	3	3	3	3	3	6	2	3	3	3	3	3	3	2	4	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	2	3	3	4	4	4	3	3	3	3	4	3	3	3	3	4	3	3	3	3		2	1	1	1	2	2	3	4	5
49	N174	JF713455	3	3	4	4	4	3	6	3	4	4	3	4	3	4	3	4	3	4	4	4	3	3	4	4	5	5	3	3	4	3	4	4	4	4	3	4	4	5	4	3	4	4	4	4	4	3	4	2		2	2	2	3	3	4	4	5
50	ELG_Cro/VRA/09	JN990072	3	3	4	4	4	3	6	3	4	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3	4	3	3	4	4	5	5	4	3	4	4	5	5	5	4	3	4	4	5	4	3	4	4	4	4	4	3	4	1	2		2	2	3	3	4	5	5
51	4-6	HM563764	2	3	3	3	3	3	6	2	3	3	3	3	3	3	2	4	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	2	3	3	4	4	4	3	2	2	3	3	2	2	2	3	3	2	2	3	1	2	2		1	2	2	3	4	5
52	MKC2137	JQ675759	3	3	3	3	3	3	6	3	3	3	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	3	4	4	4	4	4	4	3	3	3	5	3	3	3	3	4	4	3	3	3	1	2	2	1		3	3	4	4	5
53	Monetro-1	LC075563	3	3	3	3	3	3	6	3	3	3	3	3	3	3	3	4	3	4	3	4	3	3	3	4	4	5	3	3	4	4	5	4	5	4	3	4	4	5	4	3	3	3	4	3	3	4	4	2	3	3	2	3		1	4	4	5
54	Portachello-20	LC075567	3	3	3	3	3	3	6	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	5	3	3	4	4	5	4	5	4	3	4	4	5	4	3	3	3	4	3	3	3	3	2	3	3	2	3	1		4	4	5
55	Pa51-A3	KU233547	4	4	4	4	5	4	7	4	4	4	4	4	4	5	3	4	3	4	4	4	3	3	3	5	5	5	3	3	4	4	5	4	5	4	4	4	4	5	4	4	4	4	5	4	4	4	4	3	4	4	3	4	4	4		1	2
56	ML45-B3	KU233540	4	5	5	5	5	5	7	4	5	5	5	5	5	5	4	5	4	5	4	5	4	4	4	5	5	6	3	3	4	4	5	4	5	5	4	5	5	5	4	4	4	4	5	5	4	4	4	4	4	5	4	4	4	4	1		2
57	L1	LC154066	5	5	6	6	6	5	7	5	6	6	5	6	5	6	5	5	4	5	5	5	4	4	4	6	6	6	4	4	5	4	5	5	5	5	5	5	5	6	5	5	5	5	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	2	2	

Приложение Б

Таблица – Интерпретация *env*-ПЦР-ПДРФ-профилей 505 изолятов ВБЛ

№ п.п.	Г	Изолят ВБЛ	GenBank A/N	ПЦР-продукт (bp)	ПДРФ-фрагменты (п.н.)					1/2/3
					*Bam*HI	*Bcl*I	*BglI*	*Hae*III	*Pvu*II	
001	1	AL-63	FJ808571	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
002	1	AL-167	FJ808575	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
003	1	AL-112	FJ808572	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
004	1	AL-220	FJ808576	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
005	1	JPEH-1	EF065652	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
006	1	JPAI-2	EF065651	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
007	1	JPHY	EF065646	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
008	1	CRAG-2	EF065640	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
009	1	CE08/176/MT	JN254640	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
010	1	CE09/197/SP	JN254636	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
011	1		AY995174	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
012	1	485	AY151262	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
013	1	141	AF547184	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
014	1	PL-4315	FJ808589	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
015	1	JPEH-2	EF065653	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
016	1	PL-3556	FJ808588	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
017	1	PL-3252	FJ808585	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
018	1	PL-3222	FJ808584	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
019	1	AL-148	FJ808573	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
020	1	PL-3254	FJ808586	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
021	1	Australian	D00647	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
022	1	FLK-BLV	M35242	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
023	1	USIA	EF065644	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
024	1	USID	EF065641	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
025	1	pBLV913	EF600696	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
026	1	NB7	JQ686110	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
027	1	Isfahan	EU266061	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
028	1	Shahrekord	EU266060	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
029	1	Tehran	EU266063	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
030	1	Varamin	EU266064	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
031	1		EU266066	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
032	1	30	AF399703	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
033	1	CRAS-3	EF065637	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
034	1	JPKA-2	EF065659	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
035	1	JPKA-1	EF065658	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
036	1	JPAI-1	EF065657	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
037	1	UruL07IX	FM955576	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
038	1	UruL07VIII	FM955575	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
039	1	UruL07VI	FM955573	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
040	1	UruL07V	FM955572	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
041	1	UruL07II	FM955570	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
042	1	UruL07I	FM955569	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
043	1	UruC06III	FM955559	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
044	1	UruC06I	FM955557	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
045	1	UruL01VIII	FM955547	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
046	1	UruL01I	FM955540	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
047	1	UruL07VII	FM955574	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
048	1	UruL07III	FM955571	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
049	1	UruL01IV	FM955543	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
050	1	USPA	EF065656	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
051	1	468-22	AY078387	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
052	1	Zanjan	EU266065	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
053	1	USWI	EF065642	444	316/128	444	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/?/?
054	1	2014survey_15	LC061835	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
055	1	2014survey_03	LC061823	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
056	1	Australian isolate	D00647	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
057	1	Cow 527	AF007764	444	316/128	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	444	J/3/B
058	1		K02120	444	316/128	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	444	J/3/B
059	1	Cow 134	AF007763	444	316/128	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	444	J/3/B
060	1	JPMI-1	EF065660	444	316/128	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	444	J/3/B
061	1	TO29	AB099344	444	316/128	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	444	J/3/B
062	1	IW7	AB099338	444	316/128	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	444	J/3/B
063	1	JPMI-2	EF065661	444	316/128	219/121/104	444	285/94/32/27/6	444	J/3/B
064	1	JPMI-3	EF065662	444	316/128	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	444	J/3/B

065	1	23	U87873	444	316/128	225/219	444	312/94/32/6	444	A/?/G
066	1	AL-2106	FJ808578	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
067	1	Uru13	FM209475	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
068	1	Uru7	FM209474	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
069	1	Uru18	FM209473	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
070	1	Uru24	FM209472	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
071	1	Uru34	FM209469	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
072	1	UruL002I	FM955584	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
073	1	Uru9JD	FM955566	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
074	1	Uru1R1	FM955563	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
075	1	Uru1100	FM955562	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
076	1	UruC06IV	FM955560	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
077	1	UruC05V	FM955556	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
078	1	UruC05III	FM955554	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
079	1	UruL03III	FM955551	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
080	1	UruL03I	FM955550	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
081	1	UruL01X	FM955549	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
082	1	UruL01IX	FM955548	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
083	1	UruL01VII	FM955546	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
084	1	UruL01III	FM955542	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
085	1	UruL01II	FM955541	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
086	1	UruL01V	FM955544	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
087	1	UruC05IV	FM955555	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
088	1	UruC05II	FM955553	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
089	1	UruC06VI	FM955561	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
090	1	Uru8JD	FM955565	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
091	1	Uru1R2	FM955564	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
092	1	Uru11JD	FM955568	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
093	1	UruC05I	FM955552	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
094	1	UruL09XXI	FM955583	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
095	1	32	DQ059418	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
096	1	UruL01VI	FM955545	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
097	1	UruL09XI	FM955582	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
098	1	UruL09VI	FM955581	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
099	1	UruL09I	FM955577	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
100	1	UruL09II	FM955578	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
101	1	Uru1JD	FM955567	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
102	1	Uru38	FM209471	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
103	1	Uru33	FM209470	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
104	1	UruMC	FM209468	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
105	1	LS1	HE967301	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
106	1	LS2	HE967302	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
107	1	LS3	HE967303	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
108	1	UruC06II	FM955558	444	444	225/219	444	285/94/32/27/6	444	?/5/?
109	1	VdM	M35239	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
110	1	Kurdistan	EU266062	444	316/128	225/191/28	328/116	198/119/94/27/6	444	?/?/?
111	2	AL-164	FJ808574	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
112	2	LS-TSR2	FJ808597	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
113	2	LS-LS1	FJ808594	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
114	2	LS-GBA	FJ808593	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
115	2	PL-3371	FJ808587	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
116	2	PL-1042	FJ808581	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
117	2	B19	AF257515	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
118	2	A2771	AB099324	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
119	2	A2761	AB099323	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
120	2	A2715	AB099321	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
121	2	A2368	AB099314	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
122	2	A2162	AB099313	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
123	2	A179	AB099309	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
124	2	A2695	AB099318	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
125	2	A2697	AB099319	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
126	2	A22	AB099305	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
127	2	LS-G2	FJ808592	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
128	2	LS-Zoo2	FJ808598	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
129	2	PL9006	FJ808591	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
130	2	PL-1457	FJ808583	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
131	2	AL-6114	FJ808579	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
132	2	A2757	AB099322	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
133	2	A2613	AB099317	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
134	2	A2608	AB099316	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F

135	2	A96	AB099306	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
136	2	A2060	AB099312	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
137	2	A8086	AB099326	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
138	2	A2699	AB099320	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
139	2	A134	AB099308	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
140	2	A9014	AB099327	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
141	2	A8028	AB099325	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
142	2	Arg41	FJ914764	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
143	2	384	AF399704	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
144	2	PL-247	FJ808580	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
145	2	PL-4960	FJ808590	444	316/128	225/219	328/116	198/87/49/45/32/27/6	280/164	?/6/F
146	2	ARGSF8	AF485773	444	316/128	444	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/?/?
147	2	AL-1453	FJ808577	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
148	3	USCA-1	EF065647	444	316/128	225/219	444	285/94/32/21/6/6	444	A/?/C
149	3	USCA-2	EF065648	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5C
150	3	USCA-3	EF065649	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
151	3	JPFU	EF065650	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
152	4	BG	EF065638	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
153	4	N10	HM102355	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
154	4	N72	JF683619	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
155	4	4-2	HM563781	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
156	4	N097	KC886628	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
157	4	5Z	HM563780	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
158	4	4Z	HM563779	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
159	4	5	HM563771	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
160	4	2	HM563772	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
161	4	4	HM563770	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
162	4	1C	JF720354	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
163	4	8C	JF720356	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
164	4	9C	JF720357	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
165	4	1S-c18	JQ353648	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
166	4	1S-c20	JQ353647	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
167	4	1S-c15	JQ353641	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
168	4	NV13	JQ686111	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
169	4	N025	KC867150	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
170	4	N026		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
171	4	N096		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
172	4	1	HM563773	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
173	4	21	U87871	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
174	4		K02251	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
175	4		AF033818	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
176	4	PL1	AF067081	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
177	4	LB59	M35238	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
178	4	LS-SFB	FJ808596	444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
179	4	LS-SFA	FJ808595	444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
180	4	344	AF503581	444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
181	4	LB285	M35240	444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
182	4	BLVgp-11	AF111171	444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
183	4	27	AY515277	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
184	4	145	AY515275	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
185	4	58	AY515278	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
186	4	96	AY515273	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
187	4	8	AY515279	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
188	4	7C	JF720355	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
189	4	1S-c17	JQ353644	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
190	4	1S-c13	JQ353643	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
191	4	1s-c12	JQ353637	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
192	4	NK4	JQ686118	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
193	4	KA6	JQ686096	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
194	4	KE136	JQ686095	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
195	4	1_8_RU	HQ902262	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
196	4	1S-c14	JQ353642	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
197	4	NB3	JQ686108	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
198	4	KE7	JQ686093	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
199	4	1_4_RU	HQ902260	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
200	4	MS9368	JQ686100	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
201	4	MS3630	JQ686099	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
202	4	MS3569	JQ686098	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
203	4	N069	KC886619	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
204	4	N072		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A

205	4	4T-c5	JQ353668	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
206	4	4T-c6	JQ353659	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
207	4	4T-c4	JQ353669	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
208	4	4T-c3	JQ353660	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
209	4	4T-c7	JQ353657	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
210	4	MS3566	JQ686097	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
211	4	3K	HM563782	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
212	4	6T	HM563783	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
213	4	MKC5233	JQ675758	444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
214	4	KE107	JQ686094	444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
215	4	MC57	JQ686092	444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
216	4	MC45	JQ686091	444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
217	4	MC46	JQ686090	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
218	4	MC19	JQ686089	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
219	4	1S-c11	JQ353646	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
220	4	R6077	JQ686107	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
221	4	R9884	JQ686105	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
222	4	R6164	JQ686104	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
223	4	NV3	JQ686112	444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
224	4	R6136	JQ686103	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
225	4	R5070	JQ686102	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
226	4	R5164	JQ686106	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
227	4	R5036	JQ686101	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
228	4	NV14	JQ686113	444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
229	4	4T-c2	JQ353666	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
230	4	1S-c19	JQ353639	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
231	4	N001	KC867136	444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
232	4	N002	KC867137	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
233	4	N004		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
234	4	N007	KC867141	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
235	4	N018	KC867145	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
236	4	N019	KC867146	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
237	4	N022	KC867148	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
238	4	N027	KC886607	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
239	4	N033		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
240	4	N031	KC886610	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
241	4	N028		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
242	4	N050	KC886613	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
243	4	N053		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
244	4	N056		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
245	4	N054	KC886614	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
246	4	N074	KC886620	444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
247	4	N075		444	444	225/219	444	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
248	4	N078	KC886621	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
249	4	N079		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
250	4	N080		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
251	4	N082	KC886622	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
252	4	N084	KC886623	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
253	4	N086		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
254	4	N087		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
255	4	N090	KC886625	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
256	4	N110		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
257	4	N111		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
258	4	N113		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
259	4	N114		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
260	4	N124		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
261	4	N092	KC886626	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
262	4	N095		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
263	4	N094	KC886627	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
264	4	N100	KC886630	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
265	4	N122	KC886632	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
266	4	N123	KC886633	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
267	4	3	U87872	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
268	4	1S-c16	JQ353652	444	444	444	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/?/?
269	4	N015	KC867143	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
270	4	N016		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
271	4	N062	KC886615	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
272	4	N127		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
273	4	N128		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
274	4	N129		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A

275	4	N130		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
276	4	N131		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
277	4	N132		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
278	4	N134		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
279	4	N136		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
280	4	N137		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
281	4	N138		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
282	4	N139		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
283	4	N140		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/26/6	280/164	B/6/A
284	4	N023	KC867149	444	253/191	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/?
285	4	1_BY	HQ902258	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
286	4	2_BY	HQ902259	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
287	4	N029	KC886608	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
288	4	N083		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
289	4	N085		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
290	4	N091		444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
291	4	N030	KC886609	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
292	4	N034	KC886611	444	444	225/219	328/116	198/121/87/32/6	280/164	B/?/A
293	4	1S-c9	JQ353640	444	444	225/219	328/116	198/119/94/27/6	280/164	B/?/A
294	4	NK11	JQ686117	444	444	225/219	444	285/94/32/27/6	280/164	B/?/A
295	4	70	HM563778	444	444	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	280/164	?/?/?
296	4	107	HM563755	444	444	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	280/164	?/?/?
297	4	67	HM563775	444	444	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	280/164	?/?/?
298	4	65	HM563776	444	444	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	280/164	?/?/?
299	4	NB12	JQ686109	444	444	225/219	444	285/94/32/27/6	280/164	B/?/A
300	4	1S-c10	JQ353650	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	B/6/A
301	5	CRAS-1	EF065635	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
302	5	CRAS-2	EF065636	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
303	5	CRLC-2	EF065654	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
304	5	8513	AF399702	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
305	5	31	DQ059416	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
306	5	13	GQ985390	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
307	5	CE09/87/SP	JN254634	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
308	5	CRLV	EF065643	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
309	5	CRGC	EF065639	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	280/164	?/?/?
310	5	CRLC-1	EF065655	444	316/128	219/189/36	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/?/?
311	5	CRAG-1	EF065645	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
312	6	PL-1238	FJ808582	444	316/128	219/121/104	444	285/94/32/27/6	444	J/3/B
313	6	29	GQ985391	444	316/128	219/121/104	444	285/94/32/27/6	444	J/3/B
314	6	CE09/80/SP	JN254633	444	316/128	219/121/104	444	285/94/32/27/6	444	J/3/B
315	6	CE09/196/MT	JN254635	444	316/128	219/121/104	444	285/94/32/27/6	444	J/3/B
316	6	CE07/04/SP	JN254637	444	316/128	219/121/104	444	285/94/32/27/6	444	J/3/B
317	6	CE09/159/SP	JN254638	444	316/128	219/121/104	444	285/94/32/27/6	444	J/3/B
318	6	34	DQ059419	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
319	6	151	AY185360	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
320	6	135	AY283061	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
321	6	89	AY277947	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
322	6	50	DQ059421	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
323	6	2	DQ059420	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
324	6	25	DQ059415	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
325	6	10	GQ985389	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
326	6	CE08/180/SP	JN254639	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
327	6	GS-4	MF574056	444	316/128	225/219	444	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
328	6	QH2	MF574058	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
329	6	SC1	MF574059	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
330	6	GS1	MF580991	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
331	6	GS2	MF574054	444	316/128	225/219	444	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
332	6	par62	LC080656	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
333	6	Paraguray-98	LC075553	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
334	6	Paraguay-39	LC075561	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
335	6	Bolivia_Ya-47	LC075575	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
336	6	Monetro-34	LC075576	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
337	6	Montero-141	LC075574	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
338	6	Montero-93	LC075572	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
339	6	Montero-144	LC075573	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
340	6	Sa24-H3	KU233563	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
341	6	Sa11-H2	KU233562	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
342	6	Ch28-F5	KU233531	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
343	6	Ch17-F4	KU233530	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
344	6	Ns94-D4	KU233544	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C

345	6	Lo48-E4	KU233536	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
346	6	GS3	MF574055	444	316/128	444	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/?/?
347	6	Pa53-A4	KU233548	444	316/128	444	444	198/94/87/32/27/6	444	?/?/?
348	6	Pa67-A5	KU233549	444	316/128	444	444	198/94/87/32/27/6	444	?/?/?
349	6	Pucallpa-36	LC075549	444	316/128	444	444	198/94/87/32/27/6	444	?/?/?
350	6	Pucallpa-110	LC075551	444	316/128	444	444	198/94/87/32/27/6	444	?/?/?
351	6	Bolivia_Ya-102	LC075571	444	316/128	444	444	198/94/87/32/27/6	444	?/?/?
352	6	Paraguray-91	LC075555	444	316/128	444	444	198/94/87/32/27/6	444	?/?/?
353	6	par91	LC080658	444	316/128	444	444	198/94/87/32/27/6	444	?/?/?
354	6	par89	LC080657	444	316/128	444	444	198/94/87/32/27/6	444	?/?/?
355	6	Paraguray-93	LC075554	444	316/128	444	444	198/94/87/32/27/6	444	?/?/?
356	6	Pucallpa-187	LC075550	444	316/128	444	444	198/94/87/32/27/6	444	?/?/?
357	6	SC2	MF574060	444	242/128/74	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/?
358	6	QH1	MF574057	444	316/128	444	328/116	198/94/81/32/21/6/6	444	?/?/?
359	6	Pucallpa-7	LC075552	444	316/128	444	444	198/94/87/32/27/6	444	?/?/?
360	6	Paraguay-96	LC075556	444	316/128	444	444	198/121/87/32/6	444	?/?/?
361	7	N28	HM102356	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
362	7	N013	KC867142	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
363	7	N014		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
364	7	N057		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
365	7	N058		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
366	7	N060		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
367	7	N061		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
368	7	176	AY515276	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
369	7	1	AY515280	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
370	7	5T	HM563754	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
371	7	4K	HM563753	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
372	7	4	HM563752	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
373	7	3	HM563751	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
374	7	2S	JF720350	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
375	7	4T-c16	JQ353665	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
376	7	1S-c5	JQ353635	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
377	7	NV12	JQ686115	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
378	7	NV20	JQ686116	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
379	7	N035	KC886612	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
380	7	N064		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
381	7	N081		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
382	7	N108		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
383	7	N116		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
384	7	N118		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
385	7	N120		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
386	7	N125		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
387	7	N133		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
388	7	4T	HM563757	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
389	7	3T	HM563756	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
390	7	2	HM563750	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
391	7	5	HM563749	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
392	7	3	HM563748	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
393	7	3-1	HM563761	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
394	7	3-3	HM563760	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
395	7	3-18	HM563759	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
396	7	3-15	HM563758	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
397	7	160	HM563763	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
398	7	I_7_RU	HQ902261	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
399	7	4T-c14	JQ353671	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
400	7	4T-c17	JQ353664	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
401	7	4T-c18	JQ353667	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
402	7	1S-c8	JQ353636	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
403	7	MKC3877	JQ675756	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
404	7	NK13	JQ686119	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
405	7	1S-c2	JQ353638	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
406	7	4T-c15	JQ353653	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
407	7	4T-c13	JQ353654	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
408	7	MKC626	JQ675757	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
409	7	N003	KC867138	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
410	7	N008		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
411	7	N005	KC867139	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
412	7	N017	KC867144	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
413	7	N021	KC867147	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
414	7	N066	KC886617	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C

415	7	N099	KC886629	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
416	7	N101		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
417	7	N102		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
418	7	N104		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
419	7	N105		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
420	7	N106		444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
421	7	I2	S83530	444	316/128	219/121/104	328/116	285/94/32/27/6	444	J/3/B
422	7	14	AY515274	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
423	7	30	DQ059417	444	316/128	444	328/116	198/87/49/45/32/27/6	444	?/?/?
424	7	3S	JF720351	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
425	7	5S	JF720353	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
426	7	1S-c3	JQ353645	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	280/164	?/6/F
427	7	4T-c19	JQ353655	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
428	7	4T-c20	JQ353661	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
429	7	4T-c21	JQ353663	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
430	7	1S-c4	JQ353651	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
431	7	NK17	JQ686120	444	316/128	225/219	328/116	198/87/49/45/32/27/6	444	A/?/C
432	7	4T-c12	JQ353662	444	316/128	225/219	328/116	198/87/49/45/32/27/6	444	A/?/C
433	7	4S	JF720352	444	316/128	225/219	328/116	198/119/94/27/6	444	A/?/C
434	7	1S-c6	JQ353633	444	316/128	444	328/116	198/121/87/32/6	444	?/?/?
435	7	4T-c11	JQ353656	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
436	7	N067	KC886618	444	316/128	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	A/1/C
437	7	1S-c1	JQ353649	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
438	7	4T-c1	JQ353658	444	444	225/219	328/116	198/94/87/32/27/6	444	?/1/D
439	8	M1/ELG_Cro/08	GU724606	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
440	8	ELG_Cro/BEM/08	JN990069	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
441	8	ELG_Cro/OSA/08	JN990070	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
442	8	ELG_Cro/MIT/09	JN990073	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
443	8	ELG_Cro/ORA/09	JN990071	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
444	8	3-43	HM563767	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
445	8	4-1	HM563766	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
446	8	N063	KC886616	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
447	8	N068		444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
448	8	2-48	HM563768	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
449	8	N006	KC867140	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
450	8	N009		444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
451	8	N089	KC886624	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
452	8	N174	JF713455	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
453	8	MKC3511	JQ675760	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
454	8	N121	KC886631	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
455	8	N142	KC886634	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
456	8	ELG_Cro/VRA/09	JN990072	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
457	8	ELG_Cro/BIO/10	JN990074	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
458	8	4-6	HM563764	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
459	8	MKC2137	JQ675759	444	316/128	225/219	328/116	225/94/87/32/6	444	A/?/E
460	9	Monetro-1	LC075563	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
461	9	mon1	LC080659	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
462	9	Bolivia_Ya-36	LC075565	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
463	9	por108	LC080675	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
464	9	por93	LC080674	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
465	9	por87	LC080673	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
466	9	por84	LC080672	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
467	9	por71	LC080671	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
468	9	por57	LC080670	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
469	9	por46	LC080669	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
470	9	por25	LC080667	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
471	9	por14	LC080665	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
472	9	por2	LC080664	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
473	9	mon41	LC080663	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
474	9	mon28	LC080662	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
475	9	mon22	LC080661	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
476	9	mon17	LC080660	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
477	9	Montero-165	LC075566	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
478	9	Bolivia_Ya-106	LC075564	444	316/128	225/219	444	285/94/32/27/6	444	A/5/C
479	9	Portachello-20	LC075567	444	444	225/219	444	285/94/32/27/6	444	?/5/?
480	9	por20	LC080666	444	444	225/219	444	285/94/32/27/6	444	?/5/?
481	9	por28	LC080668	444	444	225/219	444	285/94/32/27/6	444	?/5/?
482	10	Pa51-A3	KU233547	444	444	225/219	328/116	198/94/81/32/27/6/6	444	?/?/?
483	10	Lo41-E3	KU233535	444	444	225/219	328/116	198/94/81/32/27/6/6	444	?/?/?
484	10	Sa8-H1	KU233561	444	444	444	328/116	198/94/81/32/27/6/6	444	?/?/?

485	**10**	**Pa76-A6**	**KU233550**	**444**	**444**	**444**	**328/116**	**198/94/81/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
486	**10**	**Pa41-A2**	**KU233546**	**444**	**444**	**444**	**328/116**	**198/94/81/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
487	**10**	**Pr42-C3**	**KU233554**	**444**	**444**	**444**	**328/116**	**198/94/81/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
488	**10**	**Pkk23-J3**	**KU233553**	**444**	**444**	**444**	**328/116**	**198/94/81/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
489	**10**	**Ch2-F1**	**KU233527**	**444**	**444**	**444**	**328/116**	**198/94/81/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
490	**10**	**Pr67-C5**	**KU233555**	**444**	**444**	**444**	**328/116**	**198/94/81/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
491	**10**	**L2**	**LC154064**	**444**	**444**	**225/219**	**328/116**	**198/94/81/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
492	**10**	**S3**	**LC154067**	**444**	**444**	**225/219**	**328/116**	**198/94/81/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
493	**10**	**S5**	**LC154065**	**444**	**444**	**225/219**	**328/116**	**198/94/81/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
494	**10**	**ML45-B3**	**KU233540**	**444**	**444**	**225/219**	**444**	**279/94/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
495	**10**	**ML30-B2**	**KU233539**	**444**	**444**	**225/219**	**444**	**279/94/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
496	**10**	**ML29-B1**	**KU233538**	**444**	**444**	**225/219**	**444**	**279/94/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
497	**10**	**Lo50-E5**	**KU233537**	**444**	**444**	**225/219**	**444**	**279/94/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
498	**10**	**Pkk17-J2**	**KU233552**	**444**	**444**	**225/219**	**444**	**279/94/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
499	**10**	**Pkk12-J1**	**KU233551**	**444**	**444**	**225/219**	**444**	**279/94/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
500	**10**	**Ns95-D5**	**KU233545**	**444**	**444**	**225/219**	**444**	**279/94/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
501	**10**	**Ns12-D2**	**KU233542**	**444**	**444**	**225/219**	**444**	**279/94/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
502	**10**	**Ns4-D1**	**KU233541**	**444**	**444**	**225/219**	**444**	**279/94/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
503	**10**	**Lo19-E1**	**KU233534**	**444**	**444**	**225/219**	**444**	**279/94/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
504	**10**	**Ns80-D3**	**KU233543**	**444**	**444**	**225/219**	**444**	**279/94/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**
505	**10**	**L1**	**LC154066**	**444**	**444**	**225/219**	**328/116**	**198/94/81/32/27/6/6**	**444**	**?/?/?**

Обозначения: Г – генотип ВБЛ согласно филогенетической классификации.

1/2/3 – классификация ВБЛ на основе ПЦР-ПДРФ-анализа:

1/2/3 – Австралийская [A], Бельгийская [B] и Японская [J] подгруппы ВБЛ (D. Beier et al., 2001);

1/2/3 – генотипы [1-6] ВБЛ (M. Licursi et al., 2002);

1/2/3 – вариантные группы [A-G] ВБЛ (H. Fechner et al., 1997).

Приложение В

Таблица – Интерпретация *env*-ПЦР-ПДРФ-профилей 505 изолятов ВБЛ в соответствии с филогенетической классификацией

№ п.п.	Г	Изолят ВБЛ	GenBank A/N	ПЦР-продукт	ПДРФ-фрагменты (bp)					К
					*Pvu*II	*Ssp*I	*Hph*I	*Hae*III	*Bst*YI	
001	1	AL-63	FJ808571	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
002	1	AL-167	FJ808575	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
003	1	AL-112	FJ808572	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
004	1	AL-220	FJ808576	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
005	1	JPEH-1	EF065652	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
006	1	JPAI-2	EF065651	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
007	1	JPHY	EF065646	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
008	1	CRAG-2	EF065640	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
009	1	CE08/176/MT	JN254640	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
010	1	CE09/197/SP	JN254636	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
011	1		AY995174	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
012	1	485	AY151262	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
013	1	141	AF547184	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
014	1	PL-4315	FJ808589	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
015	1	JPEH-2	EF065653	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
016	1	PL-3556	FJ808588	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
017	1	PL-3252	FJ808585	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
018	1	PL-3222	FJ808584	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
019	1	AL-148	FJ808573	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
020	1	PL-3254	FJ808586	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
021	1	Australian	D00647	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
022	1	FLK-BLV	M35242	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
023	1	USIA	EF065644	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
024	1	USID	EF065641	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
025	1	pBLV913	EF600696	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
026	1	NB7	JQ686110	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
027	1	Isfahan	EU266061	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
028	1	Shahrekord	EU266060	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
029	1	Tehran	EU266063	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
030	1	Varamin	EU266064	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
031	1		EU266066	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
032	1	30	AF399703	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
033	1	CRAS-3	EF065637	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
034	1	JPKA-2	EF065659	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
035	1	JPKA-1	EF065658	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
036	1	JPAI-1	EF065657	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
037	1	UruL07IX	FM955576	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
038	1	UruL07VIII	FM955575	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
039	1	UruL07VI	FM955573	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
040	1	UruL07V	FM955572	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
041	1	UruL07II	FM955570	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
042	1	UruL07I	FM955569	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
043	1	UruC06III	FM955559	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
044	1	UruC06I	FM955557	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
045	1	UruL01VIII	FM955547	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
046	1	UruL01I	FM955540	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
047	1	UruL07VII	FM955574	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
048	1	UruL07III	FM955571	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
049	1	UruL01IV	FM955543	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
050	1	USPA	EF065656	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
051	1	468-22	AY078387	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
052	1	Zanjan	EU266065	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
053	1	USWI	EF065642	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
054	1	2014survey_15	LC061835	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
055	1	2014survey_03	LC061823	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
056	1	Australian isolate	D00647	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	1
057	1	Cow 527	AF007764	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	198/128/118	2
058	1		K02120	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	198/128/118	2
059	1	Cow 134	AF007763	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	198/128/118	2
060	1	JPMI-1	EF065660	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	198/128/118	2

061	1	TO29	AB099344	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	198/128/118	2
062	1	IW7	AB099338	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	198/128/118	2
063	1	JPMI-2	EF065661	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	198/128/118	2
064	1	JPMI-3	EF065662	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	198/128/118	2
065	1	23	U87873	444	444	399/45	224/220	312/94/32/6	198/128/118	3
066	1	AL-2106	FJ808578	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
067	1	Uru13	FM209475	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
068	1	Uru7	FM209474	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
069	1	Uru18	FM209473	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
070	1	Uru24	FM209472	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
071	1	Uru34	FM209469	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
072	1	UruL002I	FM955584	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
073	1	Uru9JD	FM955566	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
074	1	Uru1R1	FM955563	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
075	1	Uru1100	FM955562	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
076	1	UruC06IV	FM955560	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
077	1	UruC05V	FM955556	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
078	1	UruC05III	FM955554	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
079	1	UruL03III	FM955551	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
080	1	UruL03I	FM955550	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
081	1	UruL01X	FM955549	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
082	1	UruL01IX	FM955548	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
083	1	UruL01VII	FM955546	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
084	1	UruL01III	FM955542	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
085	1	UruL01II	FM955541	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
086	1	UruL01V	FM955544	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
087	1	UruC05IV	FM955555	444	444	499/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
088	1	UruC05II	FM955553	444	444	499/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
089	1	UruC06VI	FM955561	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
090	1	Uru8JD	FM955565	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
091	1	Uru1R2	FM955564	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
092	1	Uru11JD	FM955568	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
093	1	UruC05I	FM955552	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
094	1	UruL09XXI	FM955583	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
095	1	32	DQ059418	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
096	1	UruL01VI	FM955545	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
097	1	UruL09XI	FM955582	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
098	1	UruL09VI	FM955581	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
099	1	UruL09I	FM955577	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
100	1	UruL09II	FM955578	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
101	1	Uru1JD	FM955567	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
102	1	Uru38	FM209471	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
103	1	Uru33	FM209470	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
104	1	UruMC	FM209468	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
105	1	LS1	HE967301	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
106	1	LS2	HE967302	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
107	1	LS3	HE967303	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	246/198	4
108	1	UruC06II	FM955558	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	246/198	5
109	1	VdM	M35239	444	444	399/45	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	6
110	1	Kurdistan	EU266062	444	444	399/45	220/196/28	198/119/94/27/6	198/128/118	7
111	2	AL-164	FJ808574	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
112	2	LS-TSR2	FJ808597	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
113	2	LS-LS1	FJ808594	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
114	2	LS-GBA	FJ808593	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
115	2	PL-3371	FJ808587	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
116	2	PL-1042	FJ808581	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
117	2	B19	AF257515	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
118	2	A2771	AB099324	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
119	2	A2761	AB099323	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
120	2	A2715	AB099321	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
121	2	A2368	AB099314	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
122	2	A2162	AB099313	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
123	2	A179	AB099309	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
124	2	A2695	AB099318	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
125	2	A2697	AB099319	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
126	2	A22	AB099305	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
127	2	LS-G2	FJ808592	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8

128	2	LS-Zoo2	FJ808598	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
129	2	PL9006	FJ808591	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
130	2	PL-1457	FJ808583	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
131	2	AL-6114	FJ808579	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
132	2	A2757	AB099322	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
133	2	A2613	AB099317	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
134	2	A2608	AB099316	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
135	2	A96	AB099306	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
136	2	A2060	AB099312	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
137	2	A8086	AB099326	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
138	2	A2699	AB099320	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
139	2	A134	AB099308	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
140	2	A9014	AB099327	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
141	2	A8028	AB099325	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
142	2	Arg41	FJ914764	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
143	2	384	AF399704	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
144	2	PL-247	FJ808580	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	8
145	2	PL-4960	FJ808590	444	280/164	399/45	224/220	198/87/49/45/32/27/6	198/128/118	9
146	2	ARGSF8	AF485773	444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/27/6	198/128/118	10
147	2	AL-1453	FJ808577	444	280/164	444	224/220	198/94/87/32/27/6	198/128/118	11
148	3	USCA-1	EF065647	444	444	399/45	444	285/94/32/21/6/6	198/128/96/22	12
149	3	USCA-2	EF065648	444	444	399/45	444	285/94/32/27/6	198/128/96/22	13
150	3	USCA-3	EF065649	444	444	399/45	444	285/94/32/27/6	198/128/96/22	13
151	3	JPFU	EF065650	444	444	399/45	444	285/94/32/27/6	198/128/118	14
152	4	BG	EF065638	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
153	4	N10	HM102355	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
154	4	N72	JF683619	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
155	4	4-2	HM563781	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
156	4	N097	KC886628	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
157	4	5Z	HM563780	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
158	4	4Z	HM563779	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
159	4	5	HM563771	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
160	4	2	HM563772	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
161	4	4	HM563770	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
162	4	1C	JF720354	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
163	4	8C	JF720356	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
164	4	9C	JF720357	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
165	4	1S-c18	JQ353648	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
166	4	1S-c20	JQ353647	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
167	4	1S-c15	JQ353641	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
168	4	NV13	JQ686111	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
169	4	N025	KC867150	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
170	4	N026		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
171	4	N096		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
172	4	1	HM563773	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
173	4	21	U87871	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
174	4		K02251	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
175	4		AF033818	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
176	4	PL1	AF067081	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
177	4	LB59	M35238	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
178	4	LS-SFB	FJ808596	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
179	4	LS-SFA	FJ808595	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
180	4	344	AF503581	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
181	4	LB285	M35240	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
182	4	BLVgp-11	AF111171	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
183	4	27	AY515277	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
184	4	145	AY515275	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
185	4	58	AY515278	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
186	4	96	AY515273	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
187	4	8	AY515279	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
188	4	7C	JF720355	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
189	4	1S-c17	JQ353644	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
190	4	1S-c13	JQ353643	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
191	4	1s-c12	JQ353637	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
192	4	NK4	JQ686118	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
193	4	KA6	JQ686096	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
194	4	KE136	JQ686095	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15

195	4	1_8_RU	HQ902262	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
196	4	1S-c14	JQ353642	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
197	4	NB3	JQ686108	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
198	4	KE7	JQ686093	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
199	4	1_4_RU	HQ902260	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
200	4	MS9368	JQ686100	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
201	4	MS3630	JQ686099	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
202	4	MS3569	JQ686098	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
203	4	N069	KC886619	444	280.164	399.45	224.220	198/94/87/32/27/6	444	15
204	4	N072		444	280.164	399.45	224.220	198/94/87/32/27/6	444	15
205	4	4T-c5	JQ353668	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
206	4	4T-c6	JQ353659	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
207	4	4T-c4	JQ353669	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
208	4	4T-c3	JQ353660	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
209	4	4T-c7	JQ353657	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
210	4	MS3566	JQ686097	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
211	4	3K	HM563782	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
212	4	6T	HM563783	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
213	4	MKC5233	JQ675758	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
214	4	KE107	JQ686094	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
215	4	MC57	JQ686092	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
216	4	MC45	JQ686091	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
217	4	MC46	JQ686090	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
218	4	MC19	JQ686089	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
219	4	1S-c11	JQ353646	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
220	4	R6077	JQ686107	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
221	4	R9884	JQ686105	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
222	4	R6164	JQ686104	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
223	4	NV3	JQ686112	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
224	4	R6136	JQ686103	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
225	4	R5070	JQ686102	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
226	4	R5164	JQ686106	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
227	4	R5036	JQ686101	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
228	4	NV14	JQ686113	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
229	4	4T-c2	JQ353666	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
230	4	1S-c19	JQ353639	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
231	4	N001	KC867136	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
232	4	N002	KC867137	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
233	4	N004		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
234	4	N007	KC867141	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
235	4	N018	KC867145	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
236	4	N019	KC867146	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
237	4	N022	KC867148	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
238	4	N027	KC886607	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
239	4	N033		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
240	4	N031	KC886610	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
241	4	N028		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
242	4	N050	KC886613	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
243	4	N053		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
244	4	N056		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
245	4	N054	KC886614	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
246	4	N074	KC886620	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
247	4	N075		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
248	4	N078	KC886621	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
249	4	N079		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
250	4	N080		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
251	4	N082	KC886622	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
252	4	N084	KC886623	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
253	4	N086		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
254	4	N087		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
255	4	N090	KC886625	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
256	4	N110		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
257	4	N111		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
258	4	N113		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
259	4	N114		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
260	4	N124		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
261	4	N092	KC886626	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15

262	4	N095		444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
263	4	N094	KC886627	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
264	4	N100	KC886630	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
265	4	N122	KC886632	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
266	4	N123	KC886633	444	280/164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	15
267	4	3	U87872	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	444	16
268	4	1S-c16	JQ353652	444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/27/6	444	17
269	4	N015	KC867143	444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
270	4	N016		444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
271	4	N062	KC886615	444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
272	4	N127		444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
273	4	N128		444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
274	4	N129		444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
275	4	N130		444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
276	4	N131		444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
277	4	N132		444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
278	4	N134		444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
279	4	N136		444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
280	4	N137		444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
281	4	N138		444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
282	4	N139		444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
283	4	N140		444	280/164	399/45	444	198/94/87/32/26/6	444	17
284	4	N023	KC867149	444	280.164	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	253/191	18
285	4	1_BY	HQ902258	444	280/164	444	224/220	198/94/87/32/27/6	444	19
286	4	2_BY	HQ902259	444	280/164	444	224/220	198/94/87/32/27/6	444	19
287	4	N029	KC886608	444	280/164	444	224/220	198/94/87/32/27/6	444	19
288	4	N083		444	280/164	444	224/220	198/94/87/32/27/6	444	19
289	4	N085		444	280/164	444	224/220	198/94/87/32/27/6	444	19
290	4	N091		444	280/164	444	224/220	198/94/87/32/27/6	444	19
291	4	N030	KC886609	444	280/164	444	224/220	198/94/87/32/27/6	444	19
292	4	N034	KC886611	444	280/164	399/45	224/220	198/121/87/32/6	444	20
293	4	1S-c9	JQ353640	444	280/164	399/45	224/220	198/119/94/27/6	444	21
294	4	NK11	JQ686117	444	280/164	399/45	224/220	285/94/32/27/6	444	22
295	4	70	HM563778	444	280/164	399/45	224/220	285/94/32/27/6	444	22
296	4	107	HM563755	444	280/164	399/45	224/220	285/94/32/27/6	444	22
297	4	67	HM563775	444	280/164	399/45	224/220	285/94/32/27/6	444	22
298	4	65	HM563776	444	280/164	399/45	224/220	285/94/32/27/6	444	22
299	4	NB12	JQ686109	444	280/164	399/45	224/220	285/94/32/27/6	444	22
300	4	1S-c10	JQ353650	444	280/164	399/45	220/145/79	198/94/87/32/27/6	444	23
301	5	CRAS-1	EF065635	444	280/164	399/45	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	24
302	5	CRAS-2	EF065636	444	280/164	399/45	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	24
303	5	CRLC-2	EF065654	444	280/164	399/45	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	24
304	5	8513	AF399702	444	280/164	399/45	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	24
305	5	31	DQ059416	444	280/164	399/45	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	24
306	5	13	GQ985390	444	280/164	399/45	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	24
307	5	CE09/87/SP	JN254634	444	280/164	399/45	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	24
308	5	CRLV	EF065643	444	280/164	399/45	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	24
309	5	CRGC	EF065639	444	280/164	399/45	224/181/39	285/94/32/27/6	316/128	25
310	5	CRLC-1	EF065655	444	280/164	444	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	26
311	5	CRAG-1	EF065645	444	280/164	444	224/181/39	198/94/87/32/27/6	316/128	26
312	6	PL-1238	FJ808582	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	316/128	27
313	6	29	GQ985391	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	316/128	27
314	6	CE09/80/SP	JN254633	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	316/128	27
315	6	CE09/196/MT	JN254635	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	316/128	27
316	6	CE07/04/SP	JN254637	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	316/128	27
317	6	CE09/159/SP	JN254638	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	316/128	27
318	6	34	DQ059419	444	444	399/45	224/220	285/94/32/27/6	316/128	27
319	6	151	AY185360	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
320	6	135	AY283061	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
321	6	89	AY277947	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
322	6	50	DQ059421	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
323	6	2	DQ059420	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
324	6	25	DQ059415	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
325	6	10	GQ985389	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
326	6	CE08/180/SP	JN254639	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
327	6	GS-4	MF574056	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
328	6	QH2	MF574058	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28

329	6	SC1	MF574059	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
330	6	GS1	MF580991	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
331	6	GS2	MF574054	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
332	6	par62	LC080656	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
333	6	Paraguray-98	LC075553	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
334	6	Paraguay-39	LC075561	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
335	6	Bolivia_Ya-47	LC075575	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
336	6	Monetro-34	LC075576	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
337	6	Montero-141	LC075574	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
338	6	Montero-93	LC075572	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
339	6	Montero-144	LC075573	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
340	6	Sa24-H3	KU233563	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
341	6	Sa11-H2	KU233562	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
342	6	Ch28-F5	KU233531	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
343	6	Ch17-F4	KU233530	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
344	6	Ns94-D4	KU233544	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
345	6	Lo48-E4	KU233536	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	316/128	28
346	6	GS3	MF574055	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/128	29
347	6	Pa53-A4	KU233548	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/128	29
348	6	Pa67-A5	KU233549	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/128	29
349	6	Pucallpa-36	LC075549	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/128	29
350	6	Pucallpa-110	LC075551	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/128	29
351	6	Bolivia_Ya-102	LC075571	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/128	29
352	6	Paraguray-91	LC075555	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/128	29
353	6	par91	LC080658	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/128	29
354	6	par89	LC080657	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/128	29
355	6	Paraguray-93	LC075554	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/128	29
356	6	Pucallpa-187	LC075550	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/128	29
357	6	SC2	MF574060	444	444	399/45	224/220	198/94/87/32/27/6	242/128/74	30
358	6	QH1	MF574057	444	444	213/186/45	444	198/94/81/32/21/6/6	316/128	31
359	6	Pucallpa-7	LC075552	444	444	399/45	444	198/94/87/32/27/6	316/79/49	32
360	6	Paraguay-96	LC075556	444	444	399/45	444	198/121/87/32/6	316/128	33
361	7	N28	HM102356	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	294/128/22	34
362	7	N013	KC867142	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	294/128/22	34
363	7	N014		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	294/128/22	34
364	7	N057		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	294/128/22	34
365	7	N058		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	294/128/22	34
366	7	N060		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	294/128/22	34
367	7	N061		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	294/128/22	34
368	7	176	AY515276	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
369	7	1	AY515280	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
370	7	5T	HM563754	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
371	7	4K	HM563753	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
372	7	4	HM563752	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
373	7	3	HM563751	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
374	7	2S	JF720350	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
375	7	4T-c16	JQ353665	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
376	7	1S-c5	JQ353635	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
377	7	NV12	JQ686115	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
378	7	NV20	JQ686116	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
379	7	N035	KC886612	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
380	7	N064		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
381	7	N081		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
382	7	N108		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
383	7	N116		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
384	7	N118		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
385	7	N120		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
386	7	N125		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
387	7	N133		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
388	7	4T	HM563757	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
389	7	3T	HM563756	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
390	7	2	HM563750	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
391	7	5	HM563749	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
392	7	3	HM563748	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
393	7	3-1	HM563761	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
394	7	3-3	HM563760	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
395	7	3-18	HM563759	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35

396	7	3-15	HM563758	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
397	7	160	HM563763	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
398	7	I_7_RU	HQ902261	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
399	7	4T-c14	JQ353671	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
400	7	4T-c17	JQ353664	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
401	7	4T-c18	JQ353667	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
402	7	1S-c8	JQ353636	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
403	7	MKC3877	JQ675756	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
404	7	NK13	JQ686119	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
405	7	1S-c2	JQ353638	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
406	7	4T-c15	JQ353653	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
407	7	4T-c13	JQ353654	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
408	7	MKC626	JQ675757	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
409	7	N003	KC867138	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
410	7	N008		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
411	7	N005	KC867139	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
412	7	N017	KC867144	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
413	7	N021	KC867147	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
414	7	N066	KC886617	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
415	7	N099	KC886629	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
416	7	N101		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
417	7	N102		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
418	7	N104		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
419	7	N105		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
420	7	N106		444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	35
421	7	I2	S83530	444	444	444	224/220	285/94/32/27/6	316/128	36
422	7	14	AY515274	444	444	444	145/137/83/79	198/94/87/32/27/6	316/128	37
423	7	30	DQ059417	444	444	444	444	198/87/49/45/32/27/6	316/128	38
424	7	3S	JF720351	444	280/164	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	39
425	7	5S	JF720353	444	280/164	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	39
426	7	1S-c3	JQ353645	444	280/164	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	39
427	7	4T-c19	JQ353655	444	444	399/45	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	40
428	7	4T-c20	JQ353661	444	444	399/45	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	40
429	7	4T-c21	JQ353663	444	444	399/45	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/128	40
430	7	1S-c4	JQ353651	444	444	444	224/137/83	198/94/87/32/27/6	316/79/49	41
431	7	NK17	JQ686120	444	444	444	224/137/83	198/87/49/45/32/27/6	316/128	42
432	7	4T-c12	JQ353662	444	444	444	224/137/83	198/87/49/45/32/27/6	316/128	42
433	7	4S	JF720352	444	444	444	224/137/83	198/119/94/27/6	316/128	43
434	7	1S-c6	JQ353633	444	444	444	224/137/83	198/121/87/32/6	316/128	44
435	7	4T-c11	JQ353656	444	444	444	224/137/83	285/94/32/27/6	316/128	45
436	7	N067	KC886618	444	444	444	224/137/44/39	198/94/87/32/27/6	316/128	46
437	7	1S-c1	JQ353649	444	444	444	224/220	198/94/87/32/27/6	444	47
438	7	4T-c1	JQ353658	444	444	444	224/220	198/94/87/32/27/6	444	47
439	8	M1/ELG_Cro/08	GU724606	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48
440	8	ELG_Cro/BEM/08	JN990069	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48
441	8	ELG_Cro/OSA/08	JN990070	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48
442	8	ELG_Cro/MIT/09	JN990073	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48
443	8	ELG_Cro/ORA/09	JN990071	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48
444	8	3-43	HM563767	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48
445	8	4-1	HM563766	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48
446	8	N063	KC886616	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48
447	8	N068		444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48
448	8	2-48	HM563768	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48
449	8	N006	KC867140	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48
450	8	N009		444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48
451	8	N089	KC886624	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	48
452	8	N174	JF713455	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	316/128	49
453	8	MKC3511	JQ675760	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	316/128	49
454	8	N121	KC886631	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	316/128	49
455	8	N142	KC886634	444	444	399/45	224/220	225/94/87/32/6	316/128	49
456	8	ELG_Cro/VRA/09	JN990072	444	444	444	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	50
457	8	ELG_Cro/BIO/10	JN990074	444	444	444	224/220	225/94/87/32/6	198/128/118	50
458	8	4-6	HM563764	444	444	399/45	224/137/83	225/94/87/32/6	198/128/118	51
459	8	MKC2137	JQ675759	444	444	399/45	444	225/94/87/32/6	198/128/118	52
460	9	Monetro-1	LC075563	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
461	9	mon1	LC080659	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
462	9	Bolivia_Ya-36	LC075565	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53

463	9	por108	LC080675	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
464	9	por93	LC080674	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
465	9	por87	LC080673	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
466	9	por84	LC080672	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
467	9	por71	LC080671	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
468	9	por57	LC080670	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
469	9	por46	LC080669	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
470	9	por25	LC080667	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
471	9	por14	LC080665	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
472	9	por2	LC080664	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
473	9	mon41	LC080663	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
474	9	mon28	LC080662	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
475	9	mon22	LC080661	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
476	9	mon17	LC080660	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
477	9	Montero-165	LC075566	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
478	9	Bolivia_Ya-106	LC075564	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	198/128/118	53
479	9	Portachello-20	LC075567	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	246/198	54
480	9	por20	LC080666	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	246/198	54
481	9	por28	LC080668	444	444	399/45	224/171/49	285/94/32/27/6	246/198	54
482	10	Pa51-A3	KU233547	444	444	399/45	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	55
483	10	Lo41-E3	KU233535	444	444	399/45	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	55
484	10	Sa8-H1	KU233561	444	444	399/45	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	55
485	10	Pa76-A6	KU233550	444	444	399/45	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	55
486	10	Pa41-A2	KU233546	444	444	399/45	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	55
487	10	Pr42-C3	KU233554	444	444	399/45	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	55
488	10	Pkk23-J3	KU233553	444	444	399/45	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	55
489	10	Ch2-F1	KU233527	444	444	399/45	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	55
490	10	Pr67-C5	KU233555	444	444	399/45	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	55
491	10	L2	LC154064	444	444	399/45	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	55
492	10	S3	LC154067	444	444	399/45	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	55
493	10	S5	LC154065	444	444	399/45	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	55
494	10	ML45-B3	KU233540	444	444	399/45	224/220	279/94/32/27/6/6	444	56
495	10	ML30-B2	KU233539	444	444	399/45	224/220	279/94/32/27/6/6	444	56
496	10	ML29-B1	KU233538	444	444	399/45	224/220	279/94/32/27/6/6	444	56
497	10	Lo50-E5	KU233537	444	444	399/45	224/220	279/94/32/27/6/6	444	56
498	10	Pkk17-J2	KU233552	444	444	399/45	224/220	279/94/32/27/6/6	444	56
499	10	Pkk12-J1	KU233551	444	444	399/45	224/220	279/94/32/27/6/6	444	56
500	10	Ns95-D5	KU233545	444	444	399/45	224/220	279/94/32/27/6/6	444	56
501	10	Ns12-D2	KU233542	444	444	399/45	224/220	279/94/32/27/6/6	444	56
502	10	Ns4-D1	KU233541	444	444	399/45	224/220	279/94/32/27/6/6	444	56
503	10	Lo19-E1	KU233534	444	444	399/45	224/220	279/94/32/27/6/6	444	56
504	10	Ns80-D3	KU233543	444	444	399/45	224/220	279/94/32/27/6/6	444	56
505	10	L1	LC154066	444	444	444	224/220	198/94/81/32/27/6/6	444	57

Обозначения: Г – генотип**; К –** комбинация.

Приложение Г

```
                     Праймер «env5099»                    HaeIII
Изолят ВБЛ       CCCACAAGGGCGGCGCCGGTTT          HaeIIIHphI
AL-63        001 CCCACAAGGGCGGCGCCGGTTTGGAGCCAGGGCCATGGTCACATATGATT
Cow 527      001 ..............................GGGC.............
23           001 ..............................GGGC.............
AL-2106      001 ..............................GGGC.............
UruC06II     001 ..............................GGGC.............
VdM          001 ....A.........................GGGC.............
Kurdistan    001 ..............................CGGC...G.........
AL-164       001 ..............................GGGC.............
PL-4960      001 ..............................GGGC.............
ARGSF8       001 ..............................GGGC.............
AL-1453      001 ..............................GGGC.............
USCA-1       001 ..................A...........GGGC.............
USCA-2       001 ..................A...........GGGC.............
JPFU         001 ..................A...........GGGC.....T.......
BG           001 ..............................GGGC.............
3            001 ..............................GGGC.............
1S-c16       001 ..............................GGGC.............
N023         001 ..............................GGGC.............
1_BY         001 ..............................GGGC.............
N034         001 ..............................GGGC.............
1S-c9        001 ..............................AGGC.............
NK11         001 ..............................GGGC.............
1S-c10       001 ..............................GGGC.............
CRAS-1       001 ....................C.........GGGC.............
CRGC         001 ....................C.........GGGC.....T.......
CRLC-1       001 ....................C.........GGGC...A.........
PL-1238      001 ..............................GGGC.............
151          001 ..............................GGGC.............
GS3          001 ..............................GGGC.............
SC2          001 ..............................GGGC.............
QH1          001 ..............................GGGC.............
Pucallpa-7   001 ..............................GGGC.............
Paraguay-96  001 ..............................GGGC.............
N28          001 ..............................GGGC.............
176          001 ..............................GGGC.............
I2           001 ............A.................GGGC.............
14           001 ..............................GGGC.............
30           001 ..............................GGGC.............
3S           001 ............................AGGGC.............
4T-c19       001 ...G........A.................GGGC.............
1S-c4        001 ...G........A.................GGGC.............
NK17         001 ...G........A.................GGGC.............
4S           001 ...............................AGGC.............
1S-c6        001 ...G........A.................GGGC.............
4T-c11       001 ...G.G......A.................GGGC.............
N067         001 ..............................GGGC.............
1S-c1        001 ...G........A.................GGGC.............
M1/ELG_Cro/08 001 ..............................GGGC.............
N174         001 ..............................GGGC.............
ELG_Cro/VRA/09 001 ..............................GGGC.............
4-6          001 ..............................GGGC.............
MKC2137      001 ..............................GGGC.............
Monetro-1    001 ..............................GGGC...G.........
Portachello-20 001 ..............................GGGC...G.........
Pa51-A3      001 ..............................GGGC..C..........
ML45-B3      001 ..............................GGGC..C..........
L1           001 ...G..........................GGGC..C..........
                 ***   ****** ***** ** *******   *  **   **********
```

```
Изолят ВБЛ                                  BstYI
AL-63          051 GCGAGCCCCGATGCCCTTATGTGGGGGCAGATCGCTTCGACTGCCCCCAC
Cow 527        051 ...................................G...............
23             051 ..................................................
AL-2106        051 ..................................................
UruC06II       051 ..................................................
VdM            051 ..................................................
Kurdistan      051 ..................................................
AL-164         051 ..................................................
PL-4960        051 ..................................................
ARGSF8         051 ..................................................
AL-1453        051 ..................................................
USCA-1         051 ..................................................
USCA-2         051 ..................................................
JPFU           051 ........................A.........................
BG             051 ...................................A...............
3              051 ................C..................A......A.........
1S-c16         051 ...................................A...............
N023           051 ...................C..............A...............
1_BY           051 ..........G........................A...............
N034           051 ...................................A...............
1S-c9          051 ...................................A...............
NK11           051 ...................................A...............
1S-c10         051 ...................................A...............
CRAS-1         051 ..................................................
CRGC           051 ..................................................
CRLC-1         051 ..................................................
PL-1238        051 ...................................T...............
151            051 ...................................A...............
GS3            051 ..................................................
SC2            051 ..................................................
QH1            051 ..................................................
Pucallpa-7     051 ..............................T.................
Paraguay-96    051 ..................................................
N28            051 ........................................T.........
176            051 ..................................................
I2             051 ...................................G...............
14             051 ..................................................
30             051 ..................................................
3S             051 ..................................................
4T-c19         051 ..................................................
1S-c4          051 ..............................T.................
NK17           051 ..................................................
4S             051 ..................................................
1S-c6          051 ..................................................
4T-c11         051 ..................................................
N067           051 ..................................................
1S-c1          051 ...................................A...............
M1/ELG_Cro/08  051 ............................................T......
N174           051 ..................................................
ELG_Cro/VRA/09 051 ............................................T......
4-6            051 ..................................................
MKC2137        051 ..................................................
Monetro-1      051 ..................................................
Portachello-20 051 ..................................................
Pa51-A3        051 ..................................................
ML45-B3        051 ..................................................
L1             051 ..................................................
                   ********** ***** ** ***** *******  ***** ** ******
```

```
Изолят ВБЛ                                  HaeIII     BstYI     HphI
AL-63          101 TGGGACAATGCCTCCCAGGCCGATCGAGGATCCTTTTATGTCAATCATCA
Cow 527        101 ....................T....A.......................
23             101 ..................A......A.......................
AL-2106        101 ..................A...A...A...T...................
UruC06II       101 ....................T.A...A...T........C...........
VdM            101 ....................A.......................
Kurdistan      101 ..T.................AG................T...T...
AL-164         101 ....................A.................G.......
PL-4960        101 ....................A.................G.......
ARGSF8         101 ....................A.................G.......
AL-1453        101 ....................A.................G.......
USCA-1         101 ..................A.....A.................G.......
USCA-2         101 ..................A.....A.................G.......
JPFU           101 ..................A.....A.................G.......
BG             101 ....................A...G...................
3              101 ..............T.....A...G...................
1S-c16         101 ....................A...G...................
N023           101 ....................A...G...................
1_BY           101 ...A................A...G...................
N034           101 ....................A...G...................
1S-c9          101 ....................A...G...................
NK11           101 ..................C.....A...G...................
1S-c10         101 ....................A...G...................
CRAS-1         101 ........C.......G........A.......................
CRGC           101 ........C.......G.A.....A.......................
CRLC-1         101 ........C.......G........A.......................
PL-1238        101 ....................AT...AG.......................
151            101 ....................AG.......................
GS3            101 ....................AG................T........
SC2            101 ....................AG................T........
QH1            101 ....................AG................T........
Pucallpa-7     101 ...........T........AG.......................
Paraguay-96    101 ...........T........AG................T........
N28            101 ....................A.................C..
176            101 ....................A.................C..
I2             101 ....................T...A.................C.........
14             101 ....................A.................C..
30             101 ........C...........A.......................
3S             101 ....................A.................C..
4T-c19         101 ........C...........A.................C..
1S-c4          101 ....................A.................C..
NK17           101 ....................A.................C..
4S             101 ....................A.................C..
1S-c6          101 ....................A.................C..
4T-c11         101 ........C..........T.....A.................C..
N067           101 ....................A.................C..
1S-c1          101 ....................A...G...................
M1/ELG_Cro/08  101 ....................A.......................
N174           101 ....................AG......................
ELG_Cro/VRA/09 101 ....................A.......................
4-6            101 ....................A.................C..
MKC2137        101 ....................A.......................
Monetro-1      101 ..............T....T.....A.................G...
Portachello-20 101 ..............T....T.....A...G...................
Pa51-A3        101 ....................A.....T..................
ML45-B3        101 ................A.......AG....T..................
L1             101 ....................AG....T.................G
                   **  **** ** ** * *    ***  ** * ****** * * ***  *
```

```
Изолят ВБЛ          BstYI                          HphISspI
AL-63          151 GATTTTATTCCTGCATCTCAAACAATGTCATGGAATTTTCACTCTAACCT
Cow 527        151 ..................................................
23             151 ..................................................
AL-2106        151 ........C.........................................
UruC06II       151 ........C.........................................
VdM            151 ................................C.............C.....
Kurdistan      151 ..................................................
AL-164         151 ............................................T.....
PL-4960        151 ............................................T.....
ARGSF8         151 ............................................T.....
AL-1453        151 ............................................T.....
USCA-1         151 ...C..............................................
USCA-2         151 ...C..............................................
JPFU           151 .........T........................................
BG             151 ..................................................
3              151 ..................................................
1S-c16         151 ..C...............................................
N023           151 ......................G...................T.....
1_BY           151 ..................................................
N034           151 ............A..........G..........................
1S-c9          151 ..C...............................................
NK11           151 ..C...............................................
1S-c10         151 ..C...............................................
CRAS-1         151 ................................C.............C..G....
CRGC           151 ................................C.............C.....
CRLC-1         151 ................................C.............C.....
PL-1238        151 ..C...........................................T.....
151            151 ..C.......T.......................................
GS3            151 ..CC..............................................
SC2            151 ..CC..............................C.............
QH1            151 ..CC......T..........................A...........
Pucallpa-7     151 ..CC..............................C.............
Paraguay-96    151 ..CC..............................C.............
N28            151 ...C...C.................................G....
176            151 .............................................G....
I2             151 ...............G..................................
14             151 .............................................G....
30             151 ............A.....T..............................T.
3S             151 .............................................G....
4T-c19         151 .............................................G....
1S-c4          151 .............................................G....
NK17           151 .............................................G....
4S             151 .............................................G....
1S-c6          151 .............................................G....
4T-c11         151 .............................................G....
N067           151 ................................C.............C.....
1S-c1          151 ..C...............................................
M1/ELG_Cro/08  151 ..................................................
N174           151 ..................................................
ELG_Cro/VRA/09 151 ..................................................
4-6            151 ..................................................
MKC2137        151 ..................................................
Monetro-1      151 ..................................................
Portachello-20 151 ..................................................
Pa51-A3        151 ..C...............T...............................
ML45-B3        151 ..C...............T...............................
L1             151 ..C...............T...............................
                   **  ****   * ** ** **** ************ *****  * ** *
```

```
Изолят ВБЛ                                  HphI                BstYI
AL-63          201 GGGAGATATGGGGATATGATCCCCTGATCACCTTTTCTTTACATAAGATC
Cow 527        201 ......................................................
23             201 ......................................................
AL-2106        201 ......................................................
UruC06II       201 ......................................................
VdM            201 .......................................................T
Kurdistan      201 ........AA......C.....................................
AL-164         201 ....A...............C.....................................
PL-4960        201 ....A...............C.....................................
ARGSF8         201 ....A...............C.......C.....................
AL-1453        201 ....A...............C.....................................
USCA-1         201 ....A............................G.....................
USCA-2         201 ....A............................G.....................
JPFU           201 ....A............................G.....................
BG             201 ....A.......................................A..T
3              201 ....A.......................................A..T
1S-c16         201 ....A.........................G.....................A...
N023           201 ....A.......................................A...
1_BY           201 ....A.......................................A...
N034           201 ....A.......................................A...
1S-c9          201 ....A.......................................A...
NK11           201 ....A.......................................A...
1S-c10         201 ....A.......................................A...
CRAS-1         201 ....A...............C.....................A...
CRGC           201 ....A...............C.....................A...
CRLC-1         201 ....A...............C.....................A...
PL-1238        201 ....A...............C.....................A...
151            201 ....A...............C.....................A...
GS3            201 ....A.........................T........C........A...
SC2            201 ....A...............C.....A........A...
QH1            201 ....A.........................T........C........A...
Pucallpa-7     201 ....A.........................T........C........A...
Paraguay-96    201 ....A.........................T........C........A...
N28            201 ....A...............C.....................A...
176            201 ....A...............C.....................A...
I2             201 ....A...............C.....................A...
14             201 ....A...............C.....................A...
30             201 ....A...............C........T.....C..A...
3S             201 ....A...............C.....................A...
4T-c19         201 ....A...............C.....................A...
1S-c4          201 ....A...............C.....................A...
NK17           201 ....A...............C.....................A...
4S             201 ....A...............C.....C.....A...
1S-c6          201 ....A...............C....C.....A...
4T-c11         201 ....A...............C.....A...
N067           201 ....A...............C.....A...
1S-c1          201 ....A...C...........C.....A...
M1/ELG_Cro/08  201 ....A...............................
N174           201 ....A...............G...T
ELG_Cro/VRA/09 201 ....A...............
4-6            201 ....A...............
MKC2137        201 ....A............................T.....
Monetro-1      201 ....A...............
Portachello-20 201 ....A...............
Pa51-A3        201 ....A...............A...
ML45-B3        201 ....A...............C.....A...
L1             201 ....A.....................C.....A...
                   **** ***  ****** ** **** **   * ** **  **** *  **
```

```
Изолят ВБЛ          BstYIHphI                   PvuII    HphI
AL-63          251  CCTGATCCCCCTCAACCCGACTTTCCCCAGTTGAACAGTGACTGGGTTCC
Cow 527        251  .................................................
23             251  .................................................
AL-2106        251  .................................................
UruC06II       251  .................................................
VdM            251  .................................................
Kurdistan      251  .......A..T......T.....A.....A....................
AL-164         251  .......................C..T...C...................
PL-4960        251  .......................C..T...C...................
ARGSF8         251  .....................A.C..T...C...................
AL-1453        251  .......................C..T...C...................
USCA-1         251  .......................C..T.......................
USCA-2         251  .......................C..T.......................
JPFU           251  .......................C..T.......................
BG             251  .......................C..T...C...................
3              251  .......................C..T...C.A.................
1S-c16         251  .......................C..T...C...................
N023           251  ..G....................C..T...C...................
1_BY           251  .......................C..T...C...................
N034           251  ..........................T...C...................
1S-c9          251  .......................C..T...C...................
NK11           251  .......................C..T...C...................
1S-c10         251  .......................C..T...C.....G.............
CRAS-1         251  ...........C...........C..T...C...................
CRGC           251  ...........C...........C..T...C...................
CRLC-1         251  ...........C...........C..T...C...................
PL-1238        251  .......................C..T.......................
151            251  .......................C..T.......................
GS3            251  .......................C..T..............T........
SC2            251  .......................C..T.......................
QH1            251  .......................C..T..............T........
Pucallpa-7     251  .......................C..T.......................
Paraguay-96    251  .......................C..T.......................
N28            251  .......................C..T.......................
176            251  .......................C..T.......................
I2             251  .......................C..T.......................
14             251  .......................C..T.........G.............
30             251  ..C....................C..T.......................
3S             251  .......................C..T...C...................
4T-c19         251  .......................C..T.......................
1S-c4          251  .......................C..T.......................
NK17           251  .......................C..T.......................
4S             251  .......T...............C..T.......................
1S-c6          251  .......................C..T.......................
4T-c11         251  .......................C..T.......................
N067           251  .......................C..T.......................
1S-c1          251  .......................C..T.......................
M1/ELG_Cro/08  251  .......................C..T.......................
N174           251  .......................C..T.......................
ELG_Cro/VRA/09 251  .......................C..T.......................
4-6            251  .......................C..T.......................
MKC2137        251  .......................C..T.......................
Monetro-1      251  .......................C..T.......................
Portachello-20 251  .......................C..T.......................
Pa51-A3        251  T......................C..T.....A.................
ML45-B3        251  T......................C..T.....A.................
L1             251  T......................C..T.....A..T..............
                     * **** **  ***** *** * ** **  * **  **** ********
```

```
Изолят ВБЛ                                  HaeIII                HaeIIIHaeIII
AL-63            301 CTCTGTCAGATCATGGGCCCTGCTTTTAAATCAAACAGCACGGGCCTTCC
Cow 527          301 ...............................................
23               301 ................T..............................
AL-2106          301 ...............................................
UruC06II         301 ...............................................
VdM              301 ...............................................
Kurdistan        301 ...............................A...............
AL-164           301 ...............................G..G............
PL-4960          301 ...............................G..G............
ARGSF8           301 ...............................G..G............
AL-1453          301 ...............................G..G............
USCA-1           301 ...............................G..C............
USCA-2           301 ...............G...............G...............
JPFU             301 ...............G...............G...............
BG               301 ...............G...............G...............
3                301 ...............................................
1S-c16           301 ...............G...............G...............
N023             301 ...............G...............G...............
1_BY             301 ...............G...............G...............
N034             301 ...............G...............G........T......
1S-c9            301 ...............G...............G...............
NK11             301 ...............G...............G...............
1S-c10           301 ...............A...............G...............
CRAS-1           301 ...............C...............G...............
CRGC             301 ...............C...............G...............
CRLC-1           301 .........G.....C...............G...............
PL-1238          301 ...............G...............G...............
151              301 ...............G...............G...............
GS3              301 ...............G...............G...............
SC2              301 ...............G...............G...............
QH1              301 ...............G...............G..C............
Pucallpa-7       301 ...............G...............G..G.............
Paraguay-96      301 ...............G...............G..G.....T......
N28              301 ...............G...............G...............
176              301 ...............G...............G...............
I2               301 ...............G...............G...............
14               301 ...............G...............G...............
30               301 ...............G...............G...............
3S               301 ...............G...............G...............
4T-c19           301 ...............G...............G...............
1S-c4            301 ...............G...............G...............
NK17             301 ...............G...............G...............
4S               301 ...............C...............G...............
1S-c6            301 ..A............G...............G........T......
4T-c11           301 ...............G...............G...............
N067             301 ...............G...............G...............
1S-c1            301 ...............G...............G...............
M1/ELG_Cro/08    301 ................T..............G...............
N174             301 ......T.........T..............G...............
ELG_Cro/VRA/09   301 ................T..............G.G.............
4-6              301 ................T..............G...............
MKC2137          301 ................T..............G...............
Monetro-1        301 ...............G...............G...............
Portachello-20   301 ...............G...............G...............
Pa51-A3          301 ...............G...............G...A...........
ML45-B3          301 ...............G...............G...A...........
L1               301 ...............A...............G...A...........
                     ** *** ** *******  ** **  ******* ** *   **** ****
```

```
Изолят ВБЛ                                  BstYI              HaeIII   SspI
AL-63           351 CAGACTGTGCTATATGTTGGGAACCTTCCCCTCCCTGGGCTCCCGAAATA
Cow 527         351 ..................................................
23              351 ................................T.................
AL-2106         351 ..................................................
UruC06II        351 ..................................................
VdM             351 ..................................................
Kurdistan       351 ..................................................
AL-164          351 ..................................................
PL-4960         351 ........................................C.........
ARGSF8          351 ..................................................
AL-1453         351 .................................................
USCA-1          351 ..........C...........G...........................
USCA-2          351 ..........C...........G...........................
JPFU            351 ..........C...........G...........................
BG              351 ..................................................
3               351 ..................................................
1S-c16          351 ..................................................
N023            351 ..................................................
1_BY            351 .................................................
N034            351 ..................................................
1S-c9           351 ..................................................
NK11            351 ..................................................
1S-c10          351 ..................................................
CRAS-1          351 ..................................................
CRGC            351 ..................................................
CRLC-1          351 ...................................................G...
PL-1238         351 ..................................................
151             351 ..................................................
GS3             351 .......................G..........................
SC2             351 ......................T...........................
QH1             351 .......................C..........................
Pucallpa-7      351 .......................G..........................
Paraguay-96     351 .......................G..........................
N28             351 ...................................................G...
176             351 ...................................................G...
I2              351 ..............................T....................G...
14              351 ........................................A..G...
30              351 ........................................C.....G...
3S              351 ...................................................G...
4T-c19          351 ..................................................
1S-c4           351 ...................................................G...
NK17            351 ........................................C.....G...
4S              351 ...................................................G...
1S-c6           351 ...................................................G...
4T-c11          351 .....C.............................................G...
N067            351 ...................................................G...
1S-c1           351 ...................................................G...
M1/ELG_Cro/08   351 ...............................................T.....
N174            351 ...............................................T.....
ELG_Cro/VRA/09  351 ........................G..................T......
4-6             351 ...............................................T.....
MKC2137         351 ..............................T................T.....
Monetro-1       351 .......C...........................................
Portachello-20  351 .......C...........................................
Pa51-A3         351 ..................................................
ML45-B3         351 ..................................................
L1              351 ...................................................C...
                    ***** * ** *********** ** ** *** ******* **  * ***
```

```
                                                                  HaeIII
                                                        Праймер «env5521»
Изолят ВБЛ                                              CCAGCTCTGGACCCGGCCTCGC
AL-63          401 TTAGTATATAACAAAACCATCTCCAGCTCTGGACCCGGCCTCGC 444 bp
Cow 527        401 ..........................................  444 bp
23             401 ..........................................  444 bp
AL-2106        401 ..........................................  444 bp
UruC06II       401 ..........................................  444 bp
VdM            401 ..........................................  444 bp
Kurdistan      401 ..........................................  444 bp
AL-164         401 ..........................................  444 bp
PL-4960        401 ..G.......................T................  444 bp
ARGSF8         401 ..........................................  444 bp
AL-1453        401 G.........................................  444 bp
USCA-1         401 ..........................................  444 bp
USCA-2         401 ..........................................  444 bp
JPFU           401 ..........................................  444 bp
BG             401 ..........................................  444 bp
3              401 ..........................................  444 bp
1S-c16         401 ..........................................  444 bp
N023           401 ..........................................  444 bp
1_BY           401 C.........................................  444 bp
N034           401 ..........................................  444 bp
1S-c9          401 ..........................................  444 bp
NK11           401 ..........................................  444 bp
1S-c10         401 ..........................................  444 bp
CRAS-1         401 ..........T...............................  444 bp
CRGC           401 ..........T...............................  444 bp
CRLC-1         401 ...........T..............................  444 bp
PL-1238        401 ..........................................  444 bp
151            401 ..........................................  444 bp
GS3            401 ..........................................  444 bp
SC2            401 ..........................................  444 bp
QH1            401 ..........................................  444 bp
Pucallpa-7     401 ..........................................  444 bp
Paraguay-96    401 ..........................................  444 bp
N28            401 ........C.................................  444 bp
176            401 ........C.................................  444 bp
I2             401 ..........................................  444 bp
14             401 ........C.................................  444 bp
30             401 .....G..C.................................  444 bp
3S             401 ........C.................................  444 bp
4T-c19         401 ........C.................................  444 bp
1S-c4          401 ........C.................................  444 bp
NK17           401 ........C.................................  444 bp
4S             401 ........C.................................  444 bp
1S-c6          401 ........C.................................  444 bp
4T-c11         401 ........C.................................  444 bp
N067           401 ........C.................................  444 bp
1S-c1          401 ........C.................................  444 bp
M1/ELG_Cro/08  401 ..........................C...............  444 bp
N174           401 ..........................................  444 bp
ELG_Cro/VRA/09 401 C.....................T......C.............  444 bp
4-6            401 ..........................................  444 bp
MKC2137        401 ..........................C...............  444 bp
Monetro-1      401 ..........................................  444 bp
Portachello-20 401 ..........................................  444 bp
Pa51-A3        401 .............G............................  444 bp
ML45-B3        401 ..........................................  444 bp
L1             401 ..........................................  444 bp
                    * ** ** ** ** ******* *** ** ***** ** *****
```

Изолят ВБЛ	ПЦР-продукт	GenBank A/N	Генотип ВБЛ	Комбинация ПЦР-ПДРФ-профилей
AL-63	444 bp	FJ808571	генотип 1	1-ая комбинация
Cow 527	444 bp	AF007764	генотип 1	2-ая комбинация
23	444 bp	U87873	генотип 1	3-ая комбинация
AL-2106	444 bp	FJ808578	генотип 1	4-ая комбинация
UruC06II	444 bp	FM955558	генотип 1	5-ая комбинация
VdM	444 bp	M35239	генотип 1	6-ая комбинация
Kurdistan	444 bp	EU266062	генотип 1	7-ая комбинация
AL-164	444 bp	FJ808574	генотип 2	8-ая комбинация
PL-4960	444 bp	FJ808590	генотип 2	9-ая комбинация
ARGSF8	444 bp	AF485773	генотип 2	10-ая комбинация
AL-1453	444 bp	FJ808577	генотип 2	11-ая комбинация
USCA-1	444 bp	EF065647	генотип 3	12-ая комбинация
USCA-2	444 bp	EF065648	генотип 3	13-ая комбинация
JPFU	444 bp	EF065650	генотип 3	14-ая комбинация
BG	444 bp	EF065638	генотип 4	15-ая комбинация
3	444 bp	U87872	генотип 4	16-ая комбинация
1S-c16	444 bp	JQ353652	генотип 4	17-ая комбинация
N023	444 bp	KC867149	генотип 4	18-ая комбинация
1_BY	444 bp	HQ902258	генотип 4	19-ая комбинация
N034	444 bp	KC886611	генотип 4	20-ая комбинация
1S-c9	444 bp	JQ353640	генотип 4	21-ая комбинация
NK11	444 bp	JQ686117	генотип 4	22-ая комбинация
1S-c10	444 bp	JQ353650	генотип 5	23-ая комбинация
CRAS-1	444 bp	EF065635	генотип 5	24-ая комбинация
CRGC	444 bp	EF065639	генотип 5	25-ая комбинация
CRLC-1	444 bp	EF065655	генотип 5	26-ая комбинация
PL-1238	444 bp	FJ808582	генотип 6	27-ая комбинация
151	444 bp	AY185360	генотип 6	28-ая комбинация
GS3	444 bp	MF574055	генотип 6	29-ая комбинация
SC2	444 bp	MF574060	генотип 6	30-ая комбинация
QH1	444 bp	MF574057	генотип 6	31-ая комбинация
Pucallpa-7	444 bp	LC075552	генотип 6	32-ая комбинация
Paraguay-96	444 bp	LC075556	генотип 6	33-ая комбинация
N28	444 bp	HM102356	генотип 7	34-ая комбинация
176	444 bp	AY515276	генотип 7	35-ая комбинация
I2	444 bp	S83530	генотип 7	36-ая комбинация
14	444 bp	AY515274	генотип 7	37-ая комбинация
30	444 bp	DQ059417	генотип 7	38-ая комбинация
3S	444 bp	JF720351	генотип 7	39-ая комбинация
4T-c19	444 bp	JQ353655	генотип 7	40-ая комбинация
1S-c4	444 bp	JQ353651	генотип 7	41-ая комбинация
NK17	444 bp	JQ686120	генотип 7	42-ая комбинация
4S	444 bp	JF720352	генотип 7	43-ая комбинация
1S-c6	444 bp	JQ353633	генотип 7	44-ая комбинация
4T-c11	444 bp	JQ353656	генотип 7	45-ая комбинация
N067	444 bp	KC886618	генотип 7	46-ая комбинация
1S-c1	444 bp	JQ353649	генотип 7	47-ая комбинация
M1/ELG_Cro/08	444 bp	GU724606	генотип 8	48-ая комбинация
N174	444 bp	JF713455	генотип 8	49-ая комбинация
ELG_Cro/VRA/09	444 bp	JN990072	генотип 8	50-ая комбинация
4-6	444 bp	HM563764	генотип 8	51-ая комбинация
MKC2137	444 bp	JQ675759	генотип 8	52-ая комбинация
Monetro-1	444 bp	LC075563	генотип 9	53-ая комбинация
Portachello-20	444 bp	LC075567	генотип 9	54-ая комбинация
Pa51-A3	444 bp	KU233547	генотип 10	55-ая комбинация
ML45-B3	444 bp	KU233540	генотип 10	56-ая комбинация
L1	444 bp	LC154066	генотип 10	57-ая комбинация

Изолят BLV	*Pvu*II-картирование	*Ssp*I-картирование	*Hph*I-рестрикционное картирование
AL-63	1-444	1-399/400-444	1-220/221-444
Cow 527	1-444	1-399/400-444	1-220/221-444
23	1-444	1-399/400-444	1-220/221-444
AL-2106	1-444	1-399/400-444	1-220/221-444
UruC06II	1-444	1-399/400-444	1-220/221-444
VdM	1-444	1-399/400-444	1-181/182-220/221-444
Kurdistan	1-444	1-399/400-444	1-220/221-248/249-444
AL-164	1-280/281-444	1-399/400-444	1-220/221-444
PL-4960	1-280/281-444	1-399/400-444	1-220/221-444
ARGSF8	1-280/281-444	1-399/400-444	1-444
AL-1453	1-280/281-444	1-444	1-220/221-444
USCA-1	1-444	1-399/400-444	1-444
USCA-2	1-444	1-399/400-444	1-444
JPFU	1-444	1-399/400-444	1-444
BG	1-280/281-444	1-399/400-444	1-220/221-444
3	1-444	1-399/400-444	1-220/221-444
1S-c16	1-280/281-444	1-399/400-444	1-444
N023	1-280/281-444	1-399/400-444	1-220/221-444
1_BY	1-280/281-444	1-444	1-220/221-444
N034	1-280/281-444	1-399/400-444	1-220/221-444
1S-c9	1-280/281-444	1-399/400-444	1-220/221-444
NK11	1-280/281-444	1-399/400-444	1-220/221-444
1S-c10	1-280/281-444	1-399/400-444	1-220/221-299/300-444
CRAS-1	1-280/281-444	1-399/400-444	1-181/182-220/221-444
CRGC	1-280/281-444	1-399/400-444	1-181/182-220/221-444
CRLC-1	1-280/281-444	1-444	1-181/182-220/221-444
PL-1238	1-444	1-399/400-444	1-220/221-444
151	1-444	1-399/400-444	1-220/221-444
GS3	1-444	1-399/400-444	1-444
SC2	1-444	1-399/400-444	1-220/221-444
QH1	1-444	1-186/187-399/400-444	1-444
Pucallpa-7	1-444	1-399/400-444	1-444
Paraguay-96	1-444	1-399/400-444	1-444
N28	1-444	1-444	1-137/138-220/221-444
176	1-444	1-444	1-137/138-220/221-444
I2	1-444	1-444	1-220/221-444
14	1-444	1-444	1-137/138-220/221-299/300-444
30	1-444	1-444	1-444
3S	1-280/281-444	1-444	1-137/138-220/221-444
4T-c19	1-444	1-399/400-444	1-137/138-220/221-444
1S-c4	1-444	1-444	1-137/138-220/221-444
NK17	1-444	1-444	1-137/138-220/221-444
4S	1-444	1-444	1-137/138-220/221-444
1S-c6	1-444	1-444	1-137/138-220/221-444
4T-c11	1-444	1-444	1-137/138-220/221-444
N067	1-444	1-444	1-137/138-181/182-220/221-444
1S-c1	1-444	1-444	1-220/221-444
M1/ELG_Cro/08	1-444	1-399/400-444	1-220/221-444
N174	1-444	1-399/400-444	1-220/221-444
ELG_Cro/VRA/09	1-444	1-444	1-220/221-444
4-6	1-444	1-399/400-444	1-137/138-220/221-444
MKC2137	1-444	1-399/400-444	1-444
Monetro-1	1-444	1-399/400-444	1-49/50-220/221-444
Portachello-20	1-444	1-399/400-444	1-49/50-220/221-444
Pa51-A3	1-444	1-399/400-444	1-220/221-444
ML45-B3	1-444	1-399/400-444	1-220/221-444
L1	1-444	1-444	1-220/221-444

Изолят ВБЛ	*Hae*III-рестрикционное картирование
AL-63	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
Cow 527	1-32/33-317/318-344/345-438/439-444
23	1-32/33-344/345-438/439-444
AL-2106	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
UruC06II	1-32/33-317/318-344/345-438/439-444
VdM	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
Kurdistan	1-119/120-317/318-344/345-438/439-444
AL-164	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
PL-4960	1-32/33-119/120-317/318-344/345-389/390-438/439-444
ARGSF8	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
AL-1453	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
USCA-1	1-32/33-317/318-338/339-344/345-438/439-444
USCA-2	1-32/33-317/318-344/345-438/439-444
JPFU	1-32/33-317/318-344/345-438/439-444
BG	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
3	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
1S-c16	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
N023	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
1_BY	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
N034	1-32/33-119/120-317/318-438/439-444
1S-c9	1-119/120-317/318-344/345-438/439-444
NK11	1-32/33-317/318-344/345-438/439-444
1S-c10	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
CRAS-1	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
CRGC	1-32/33-317/318-344/345-438/439-444
CRLC-1	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
PL-1238	1-32/33-317/318-344/345-438/439-444
151	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
GS3	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
SC2	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
QH1	1-32/33-119/120-317/318-338/339-344/345-438/439-444
Pucallpa-7	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
Paraguay-96	1-32/33-119/120-317/318-438/439-444
N28	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
176	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
I2	1-32/33-317/318-344/345-438/439-444
14	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
30	1-32/33-119/120-317/318-344/345-389/390-438/439-444
3S	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
4T-c19	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
1S-c4	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
NK17	1-32/33-119/120-317/318-344/345-389/390-438/439-444
4S	1-119/120-317/318-344/345-438/439-444
1S-c6	1-32/33-119/120-317/318-438/439-444
4T-c11	1-32/33-317/318-344/345-438/439-444
N067	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
1S-c1	1-32/33-119/120-317/318-344/345-438/439-444
M1/ELG_Cro/08	1-32/33-119/120-344/345-438/439-444
N174	1-32/33-119/120-344/345-438/439-444
ELG_Cro/VRA/09	1-32/33-119/120-344/345-438/439-444
4-6	1-32/33-119/120-344/345-438/439-444
MKC2137	1-32/33-119/120-344/345-438/439-444
Monetro-1	1-32/33-317/318-344/345-438/439-444
Portachello-20	1-32/33-317/318-344/345-438/439-444
Pa51-A3	1-32/33-38/39-119/120-317/318-344/345-438/439-444
ML45-B3	1-32/33-38/39-317/318-344/345-438/439-444
L1	1-32/33-38/39-119/120-317/318-344/345-438/439-444

Изолят ВБЛ	*Bst*YI-рестрикционное картирование
AL-63	1-128/129-246/247-444
Cow 527	1-128/129-246/247-444
23	1-128/129-246/247-444
AL-2106	1-246/247-444
UruC06II	1-246/247-444
VdM	1-128/129-444
Kurdistan	1-128/129-246/247-444
AL-164	1-128/129-246/247-444
PL-4960	1-128/129-246/247-444
ARGSF8	1-128/129-246/247-444
AL-1453	1-128/129-246/247-444
USCA-1	1-128/129-150/151-246/247-444
USCA-2	1-128/129-150/151-246/247-444
JPFU	1-128/129-246/247-444
BG	1-444
3	1-444
1S-c16	1-444
N023	1-253/254-444
1_BY	1-444
N034	1-444
1S-c9	1-444
NK11	1-444
1S-c10	1-444
CRAS-1	1-128/129-444
CRGC	1-128/129-444
CRLC-1	1-128/129-444
PL-1238	1-128/129-444
151	1-128/129-444
GS3	1-128/129-444
SC2	1-128/129-370/371-444
QH1	1-128/129-444
Pucallpa-7	1-79/80-128/129-444
Paraguay-96	1-128/129-444
N28	1-128/129-150/151-444
176	1-128/129-444
I2	1-128/129-444
14	1-128/129-444
30	1-128/129-444
3S	1-128/129-444
4T-c19	1-128/129-444
1S-c4	1-79/80-128/129-444
NK17	1-128/129-444
4S	1-128/129-444
1S-c6	1-128/129-444
4T-c11	1-128/129-444
N067	1-128/129-444
1S-c1	1-444
M1/ELG_Cro/08	1-128/129-246/247-444
N174	1-128/129-444
ELG_Cro/VRA/09	1-128/129-246/247-444
4-6	1-128/129-246/247-444
MKC2137	1-128/129-246/247-444
Monetro-1	1-128/129-246/247-444
Portachello-20	1-246/247-444
Pa51-A3	1-444
ML45-B3	1-444
L1	1-444

Рисунок – Выравнивание и рестрикционное картирование амплифицируемых с праймерами «env5099» и «env5521» нуклеотидных последовательностей ДНК фрагмента *env*-гена референсных изолятов известных генотипов ВБЛ