

УДК 619:57.065:578.828

Научная статья



Открытый доступ

DOI: 10.32634/0869-8155-2023-372-7-22-26

Р.Р. Вафин,
Х.Х. Гильманов, ✉
П.Н. Шастин,
Е.А. Гулюкин,
А.Г. Григорьев

Федеральный научный
центр — Всероссийский научно-
исследовательский институт
экспериментальной ветеринарии
им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко
Российской академии наук, Москва,
Россия

✉ gilmanov.xx@mail.ru

Поступила в редакцию:
12.05.2023

Одобрена после рецензирования:
01.06.2023

Принята к публикации:
19.06.2023

Research article



Open access

DOI: 10.32634/0869-8155-2023-372-7-22-26

Ramil R. Vafin,
Khamid Kh. Gilmanov, ✉
Pavel N. Shastin,
Evgeny A. Gulyukin,
Artem G. Grigoriev

All-Russian Research Institute of
Experimental Veterinary Medicine named
after K.I. Skryabin and Y.R. Kovalenko
of the Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russia

✉ gilmanov.xx@mail.ru

Received by the editorial office:
12.05.2023

Accepted in revised:
01.06.2023

Accepted for publication:
19.06.2023

Диагностически значимые однонуклеотидные полиморфизмы в локусе *env*-гена для SNP-генотипирования *Bovine leukemia virus*

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Этиологическим агентом развития персистентного лимфоцитоза и лимфосаркомы у крупного рогатого скота является *Bovine leukemia virus*. Филогенетический анализ секвенированных нуклеотидных последовательностей локуса *env*-гена BLV основной, но не единственный подход к генотипической классификации возбудителя.

Методы. Цель исследования — выявление однонуклеотидных полиморфизмов в локусе *env*-гена *Bovine leukemia virus*, рассматриваемых в качестве диагностически значимых для SNP-генотипирования BLV на основе анализа данных прямого секвенирования ПЦР-продукта.

Результаты. Выравниванием нуклеотидных последовательностей локуса *env*-гена 101 типового изолята BLV известных генотипов *Bovine leukemia virus* выявлено 155 однонуклеотидных полиморфизмов, из которых 35 SNP рассматривались в качестве диагностически значимых. При этом для SNP-генотипирования BLV достаточен анализ по 22 охарактеризованным однонуклеотидным полиморфизмам, 14 из которых являются генотип-специфичными по отношению к 9 генотипам изучаемого вирусного патогена (C232G — для 3-го, G84A — 4-го, A117G, T326C и C412T — 5-го, C394T — 8-го, C40G — 9-го, C132T — 10-го, T113A и T256C — 11-го, T49C и G140A — 12-го, C83A и T304C — для 13-го генотипа), тем самым обеспечивая их идентификацию. Другие 8 охарактеризованных полиморфных позиций не являются генотип-специфичными, но интерпретация результатов их детекции имеет идентификационную ценность в отношении оставшихся 4 генотипов BLV: 1-го (G205G и A337A), 2-го (T220C и A334G), 6-го (A127R, C132C, T153C и C341C) и 7-го (T220C и A334A) соответственно.

Ключевые слова: BLV, изолят, *env*, ген, генотип, ПЦР, секвенирование, выравнивание, SNP, генотипирование

Для цитирования: Вафин Р.Р., Гильманов Х.Х., Шастин П.Н., Гулюкин Е.А., Григорьев А.Г. Диагностически значимые однонуклеотидные полиморфизмы в локусе *env*-гена для SNP-генотипирования *Bovine leukemia virus*. *Аграрная наука*. 2023; 372(7): 22–26. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-372-7-22-26>

© Вафин Р.Р., Гильманов Х.Х., Шастин П.Н., Гулюкин Е.А., Григорьев А.Г.

Diagnostically significant single nucleotide polymorphisms in the *env*-gene locus for SNP-genotyping of *Bovine leukemia virus*

ABSTRACT

Relevance. The etiological agent in the development of persistent lymphocytosis and lymphosarcoma in cattle is *Bovine leukemia virus*. Phylogenetic analysis of sequenced nucleotide sequences of the BLV *env*-gene locus is the main, but not the only, approach to pathogen genotypic classification.

Methods. The aim of the study was to identify single-nucleotide polymorphisms in the locus of the *Bovine leukemia virus env*-gene, considered as diagnostically significant for SNP genotyping of BLV based on the analysis of direct sequencing data of the PCR-product.

Results. Alignment of the nucleotide sequences of the *env*-gene locus of 101 BLV type isolates of known *Bovine leukemia virus* genotypes revealed 155 single nucleotide polymorphisms, of which 35 SNP were considered diagnostically significant. At the same time, for BLV SNP-genotyping, an analysis of 22 characterized single nucleotide polymorphisms is sufficient, 14 of which are genotype-specific in relation to nine genotypes of the studied viral pathogen (C232G for the 3rd, G84A for the 4th, A117G, T326C and C412T — 5th, C394T — 8th, C40G — 9th, C132T — 10th, T113A and T256C — the 11th, T49C and G140A — the 12th, C83A and T304C — the 13th genotypes, thereby ensuring their identification. The other 8 characterized polymorphic positions are not genotype-specific, but the interpretation of the results of their detection has identification value in relation to the remaining 4 BLV genotypes: 1st (G205G and A337A), 2nd (T220C and A334G), 6th (A127R, C132C, T153C and C341C) and 7th (T220C and A334A) respectively.

Key words: BLV, isolate, *env*, gene, genotype, PCR, sequencing, alignment, SNP, genotyping

For citation: Vafin R.R., Gilmanov Kh.Kh., Shastin P.N., Gulyukin E.A., Grigoriev A.G. Diagnostically significant single nucleotide polymorphisms in the *env*-gene locus for SNP-genotyping of *Bovine leukemia virus*. *Agrarian science*. 2023; 372(7): 22–26 (In Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-372-7-22-26>

© Vafin R.R., Gilmanov Kh.Kh., Shastin P.N., Gulyukin E.A., Grigoriev A.G.

Введение/Introduction

Изучение генетических механизмов формирования патологического процесса ретровирусных инфекций у продуктивных сельскохозяйственных животных и новых подходов к их диагностике и ликвидации — актуальный предмет исследования, выделенный в самостоятельный раздел фундаментальных и поисковых научных исследований (п. 4.3.1.3) по направлению «ветеринария» (п. 4.3.1) на 2021–2030 гг. в Российской Федерации¹.

Вид *Bovine leukemia virus* (BLV) семейства *Retroviridae* — наиболее проблемный биологический объект исследования в ветеринарной лейкологии, являющийся этиологическим агентом развития персистентного лимфоцитоза и лимфосаркомы у крупного рогатого скота [1].

Немаловажную роль в патогенезе инфекционного процесса, вызванного BLV, отводят оболочечному (от англ. *envelope*, сокр. *env*) *env*-гену возбудителя, кодирующему в том числе зрелый внеклеточный белок gp51, обладающий как антигенными, так и иммуногенными свойствами с инициацией высокой экспрессии специфических антител у инфицированных животных [2, 3].

На указанную генетическую мишень и антитела к транслируемому белку нацелены многие ПЦР, ИФА и РИД тест-системы для диагностики лейкоза крупного рогатого скота [4–6], а также экспериментальные средства специфической профилактики данного заболевания в виде рекомбинантных вакцин [6, 7].

Филогенетический анализ секвенируемых нуклеотидных последовательностей локуса *env*-гена BLV является основным [6, 8], но не единственным подходом к его генотипической классификации [9, 10]. Базовый способ типизации возбудителя может быть дополнен вспомогательными стратегиями ПЦР-ПДРФ-генотипирования [10, 11] и другими молекулярно-генетическими методами, требующими развития [12].

Цель исследования — выявление однонуклеотидных полиморфизмов в локусе *env*-гена *Bovine leukemia virus*, рассматриваемых в качестве диагностически значимых для SNP-генотипирования BLV на основе анализа данных прямого секвенирования ПЦР-продукта.

Материал и методы исследования / Material and methods

Работа выполнена в лаборатории лейкологии Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук в 2023 г.

Теоретико-аналитическая часть биоинформационного исследования по картированию однонуклеотидных полиморфизмов и выявлению диагностически значимых SNPs проведена выравниванием в онлайн-программах BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) и CLUSTALW (<https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw>) депонированных в GenBank NCBI нуклеотидных последовательностей локуса *env*-гена 101-го типового изолята известных генотипов BLV (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/11901/>), ограниченных праймерами *env5099* и *env5521* [11].

Для практической реализации экспериментальной части исследования по SNP-генотипированию BLV, запланированного в следующей работе, потребуются: постановка с экстрагированными образцами провирусной ДНК «гнездовой» ПЦР с «внешними» (*env5032* и *env5608*) и «внутренними» (*env5099* и *env5521*) праймерами;

детекция специфического ПЦР-продукта длиной 444 bp методом горизонтального электрофореза в 2,5% агарозном геле с последующей визуализацией полученных электрофореграмм в УФ-трансиллюминаторе; секвенирование ампликонов анализируемого локуса *env*-гена BLV на генетическом анализаторе «НАНОФОР-05» (Синтол, Россия) — восьмиканальном секвенаторе (секвенирование по Сэнгеру) с использованием «внутренних» праймеров в качестве сиквенсных с последующей интерпретацией детектируемых однонуклеотидных полиморфизмов в идентификационном ключе.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

В результате выравнивания нуклеотидных последовательностей локуса *env*-гена 101 типового изолята известных генотипов *Bovine leukemia virus* [11] в общей сложности было выявлено 155 однонуклеотидных полиморфизмов, из которых всего 35 SNP рассматривались в качестве диагностически значимых (табл. 1).

Исходя из данных таблицы 1, 1-й генотип BLV может быть идентифицирован интерпретацией результатов детекции сразу двух SNP (G205G и A337A). При этом анализ по одной только SNP в положении 205 не позволит дискриминировать 1-й генотип от 5-го, а также дифференцировать его представителей от изолята GBGS-12 (GenBank A/N: KP201465) 3-го генотипа BLV, тогда как SNP-анализ по другой только полиморфной позиции 337 не обеспечит полноценной идентификации 1-го генотипа от 4-го из-за двух недифференцируемых изолятов у последнего — 1S-c14 (JQ353642) и 3 (U87872).

Для идентификации 2-го генотипа BLV необходимо учитывать результаты детекции не менее двух SNP (T220C и A334G). При анализе же только одной SNP в положении 220 невозможно будет дифференцировать 2-й генотип от 7-го, а SNP-анализ только полиморфной позиции 334 не позволит дискриминировать 2-й генотип от 11-го генотипа BLV. 3-й и 4-й генотипы BLV имеют по одной генотип-специфичной SNP (C232G и G84A соответственно), благодаря чему могут быть успешно идентифицированы даже при нацеливании лишь на указанные полиморфные позиции. 5-й генотип BLV обладает сразу тремя генотип-специфичными SNP (A117G, T326C, C412T), что существенно повышает идентификационную способность SNP-генотипирования в отношении данного генотипа при секвенировании амплифицируемого локуса *env*-гена.

Идентификация 6-го генотипа BLV хоть и затруднена отсутствием у него генотип-специфичной SNP, но выполнима при фокусировании на четыре полиморфные позиции (A127R, C132C, T153C и C341C). По ним невозможно дифференцировать его только от 4-го и 11-го генотипов. Однако благодаря наличию у 4-го и 11-го генотипов BLV генотип-специфичных SNP, проблема их дифференциации фактически решается. 7-й генотип BLV также не имеет генотип-специфичной SNP, но всё равно может быть идентифицирован при SNP-анализе не менее двух полиморфных позиций (T220C и A334A), в совокупности обеспечивающих его дифференциацию от всех остальных генотипов BLV. 8-й, 9-й и 10-й генотипы BLV характеризуются наличием у них по одной генотип-специфичной SNP (C394T, C40G и C132T соответственно), тем самым гарантируя эффективную процедуру их идентификации при SNP-анализе указанных полиморфных позиций.

¹ Программа фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 гг.). Утверждена распоряжением Правительства Российской Федерации от 31 декабря 2020 г. № 3684-р.

Таблица 2. Однонуклеотидные полиморфизмы для SNP-генотипирования BLV
Table 2. Single nucleotide polymorphisms for SNP-genotyping of BLV

Генотип	22 однонуклеотидных полиморфизма (SNP)																					
	0 4 0	0 4 9	0 8 3	0 8 4	1 1 3	1 1 7	1 2 7	1 3 2	1 4 0	1 4 3	1 5 3	2 0 5	2 2 0	2 3 2	2 5 6	3 0 4	3 2 6	3 3 4	3 3 7	3 4 1	3 9 4	4 1 2
*AL-63	C	T	C	G	T	A	A	C	G	A	T	G	T	C	T	T	T	A	A	C	C	C
1	.	.	.	.	.	.	R	.	.	W	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
2	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	A	C	.	.	.	.	G	G	.	.	.
3	Y	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	R	.	G	.	.	.	.	G	.	.	.
4	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	Y	A	.	.	.	.	.	.	R	.	.	.
5	Y	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	G	.	.	T	.
6	.	.	.	K	.	.	R	.	.	.	C	A	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.
7	.	.	S	K	.	.	.	.	.	.	.	A	C	.	.	.	.	G	.	.	.	.
8	.	.	.	.	.	.	R	.	.	.	.	A	.	Y	.	.	.	G	.	T	.	.
9	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.
10	.	.	.	.	.	.	R	T	.	.	C	A	.	.	.	.	.	G	.	A	.	.
11	.	.	.	.	A	.	G	.	.	.	C	A	.	.	C	.	.	G	G	.	.	.
12	.	C	.	.	.	.	.	.	A	.	.	A	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.
13	.	.	A	.	.	.	.	.	.	G	.	A	.	.	.	C	.	G	.	.	.	.

Примечание: *AL-63 — типовой изолят 1-го генотипа BLV, A — аденин, T — тимин, G — гуанин, C — цитозин, Y — C или T, S — G или C, K — G или T, R — A или G, W — A или T, H — A либо C или T, M — A или C. Серым цветом выделены генотип-специфические SNP.

Оставшиеся три генотипа BLV имеют по две генотип-специфические SNP: T113A и T256C у 11-го, T49C и G140A у 12-го, C83A и T304C у 13-го генотипа BLV соответственно. Следовательно, указанные полиморфные позиции являются диагностически значимыми при идентификации перечисленных генотипов BLV. 13-й генотип [13], занимающий промежуточное положение между 2-м и 3-м, имеет схожую с ними полиморфную позицию (A143G), позволяющую дифференцировать их от других генотипов BLV.

Таким образом, для SNP-генотипирования BLV может быть достаточен анализ даже по 22 охарактеризованным однонуклеотидным полиморфизмам, дополненным по представленным в сводной таблице 2.

При этом девять генотипов BLV (3-й, 4-й, 5-й, 8-й, 9-й, 10-й, 11-й, 12-й и 13-й) характеризуются генотип-специфическими SNP и благодаря им эффективно идентифицируются, тогда как четыре генотипа BLV (1-й, 2-й, 6-й и 7-й) не имеют генотип-специфических SNP, но всё же могут быть идентифицированы при интерпретации результатов детекции целого ряда однонуклеотидных полиморфизмов, диагностически значимых для определенного генотипа.

Выводы/Conclusion

В проанализированной выборке выравненных нуклеотидных последовательностей локуса *env*-гена типовых изолятов известных генотипов BLV выявлено 155 однонуклеотидных полиморфизмов, из которых 35 SNP рассматривались в качестве диагностически значимых. При этом для SNP-генотипирования BLV на основе анализа данных прямого секвенирования ПЦР-продукта сделан акцент на 22 охарактеризованных однонуклеотидных полиморфизмах, включая 14 генотип-специфических SNP, обеспечивающих идентификацию девяти генотипов BLV: 3-го (C232G), 4-го (G84A), 5-го (A117G, T326C, C412T), 8-го (C394T), 9-го (C40G), 10-го (C132T), 11-го (T113A и T256C), 12-го (T49C и G140A) и 13-го (C83A и T304C). Другие восемь полиморфных позиций хоть и не являлись генотип-специфическими, но интерпретация результатов их анализа имеет идентификационную ценность в отношении оставшихся четырех генотипов BLV: 1-го (G205G и A337A), 2-го (T220C и A334G), 6-го (A127R, C132C, T153C и C341C) и 7-го (T220C и A334A).

Все авторы несут ответственность за свою работу и представленные данные.

Все авторы внесли равный вклад в эту научную работу. Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors have made an equal contribution to this scientific work. The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism. The authors declare no conflict of interest.

ФИНАНСИРОВАНИЕ:

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда № 22-76-10011 <https://rscf.ru/project/22-76-10011>

FUNDING:

This research was funded by Russian Science Foundation No. 22-76-10011 <https://rscf.ru/project/22-76-10011>

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Донник И.М., Гулюкин М.И., Бусол В.А., Коваленко Л.В., Коваленко А.М. Лейкоз крупного рогатого скота: диагностика, оздоровление, антропозоонозный потенциал (история вопроса) (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2021; 56(2): 230–244. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.2.230rus>
- Глазко В.И., Косовский Г.Ю., Глазко Т.Т., Донник И.М. Клеточные и надклеточные уровни взаимодействия ретровирусов с хозяином на примере вируса бычьего лейкоза. Сообщение II. Проникновение в клетку и интеграция в геном хозяина (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2018; 53(6): 1093–1106. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.6.1093rus>
- Глазко В.И., Косовский Г.Ю., Федорова Л.М., Глазко Т.Т. Клеточные и надклеточные уровни взаимодействия ретровирусов с хозяином на примере вируса бычьего лейкоза. Сообщение II. Критические стадии — поливариантность, универсальность (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2021; 56(6): 1079–1098. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.6.1079rus>
- Le D.T. et al. Detection and genotyping of bovine leukemia virus (BLV) in Vietnamese cattle. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2020; 82(7): 1042–1050. <https://doi.org/10.1292/jvms.20-0094>

REFERENCES

- Donnik I.M., Gulyukin M.I., Busol V.A., Kovalenko L.V., Kovalenko A.M. Bovine leukemia virus infection — diagnostics, eradication, and anthrozooonotic potential (background) (review). *Agricultural Biology*. 2021; 56(2): 230–244 (In Russian). <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.2.230rus>
- Glazko V.I., Kosovskii G.Yu., Glazko T.T., Donnik I.M. Cellular and supracellular levels of interaction of retroviruses with the host on the example of bovine leukemia virus. Message I. Penetration into the cell and integration into the host genome (review). *Agricultural Biology*. 2018; 53(6): 1093–1106 (In Russian). <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2018.6.1093rus>
- Glazko V.I., Kosovsky G.Yu., Fedorova L.M., Glazko T.T. Cellular and supracellular levels of interaction of retroviruses with the host on the example of ovine leukemia virus. Message II. Critical stages — polyvariance, universality (review). *Agricultural Biology*. 2021; 56(6): 1079–1098 (In Russian). <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.6.1079rus>
- Le D.T. et al. Detection and genotyping of bovine leukemia virus (BLV) in Vietnamese cattle. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2020; 82(7): 1042–1050. <https://doi.org/10.1292/jvms.20-0094>

5. Гулюкин М.И., Капустина О.В., Ездакова И.Ю., Вальсиферова С.В., Степанова Т.В., Аноятбеков М. Выявление специфических антител классов G и M к вирусу лейкоза крупного рогатого скота в сыворотках крови. *Вопросы вирусологии*. 2019; 64(4): 173–177. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-4-173-177>
6. Marawan M.A. *et al.* Bovine leukaemia virus: current epidemiological circumstance and future prospective. *Viruses*. 2021; 13(11): 2167. <https://doi.org/10.3390/v13112167>
7. Abdala A. *et al.* BLV: lessons on vaccine development. *Retrovirology*. 2019; 16: 26. <https://doi.org/10.1186/s12977-019-0488-8>
8. Sultanov A. *et al.* Molecular characterization of bovine leukemia virus with the evidence of a new genotype circulating in cattle from Kazakhstan. *Pathogens*. 2022; 11(2): 180. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020180>
9. Вафин Р.Р. и др. Генотипическая идентификация вируса бычьего лейкоза. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2014; (4): 34–40. <https://elibrary.ru/teovwv>
10. Nishikaku K. *et al.* Broadly applicable PCR restriction fragment length polymorphism method for genotyping bovine leukemia virus. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2019; 81(8): 1157–1161. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0603>
11. Вафин Р.Р., Гильманов Х.Х., Шастин П.Н., Савинов В.А., Лопунов С.В., Гулюкин А.М. Усовершенствованная стратегия ПЦР-ПДРФ-генотипирования BLV и ее согласованность с филогенетической классификацией. *Ветеринария и кормление*. 2023; (3): 14–19. <https://doi.org/10.30917/ATT-VK-1814-9588-2023-3-4>
12. Yang Y., Chu S., Shang S., Yang Z., Wang C. *Short communication:* Genotyping and single nucleotide polymorphism analysis of bovine leukemia virus in Chinese dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 2019; 102(4): 3469–3473. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15481>
5. Gulyukin M.I., Kapustina O.V., Ezdakova I.Y., Valtisferova S.V., Stepanova T.V., Anoyatbekov M. Detection of specific antibodies of classes G and M to bovine leukemia virus in the blood serum. *Problems of Virology*. 2019; 64(4): 173–177 (In Russian). <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-4-173-177>
6. Marawan M.A. *et al.* Bovine leukaemia virus: current epidemiological circumstance and future prospective. *Viruses*. 2021; 13(11): 2167. <https://doi.org/10.3390/v13112167>
7. Abdala A. *et al.* BLV: lessons on vaccine development. *Retrovirology*. 2019; 16: 26. <https://doi.org/10.1186/s12977-019-0488-8>
8. Sultanov A. *et al.* Molecular characterization of bovine leukemia virus with the evidence of a new genotype circulating in cattle from Kazakhstan. *Pathogens*. 2022; 11(2): 180. <https://doi.org/10.3390/pathogens11020180>
9. Vafin R.R. *et al.* Genotypic identification of the bovine leukemia virus. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2014; 29(4): 195–203. <https://doi.org/10.3103/S0891416814040120>
10. Nishikaku K. *et al.* Broadly applicable PCR restriction fragment length polymorphism method for genotyping bovine leukemia virus. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2019; 81(8): 1157–1161. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0603>
11. Vafin R.R., Gilmanov Kh.Kh., Shastin P.N., Savinov V.A., Lopunov S.V., Gulyukin A.M. An improved strategy for PCR-RFLP genotyping of BLV and its consistency with phylogenetic classification. *Veterinaria i kormlenie*. 2023; (3): 14–19 (In Russian). <https://doi.org/10.30917/ATT-VK-1814-9588-2023-3-4>
12. Yang Y., Chu S., Shang S., Yang Z., Wang C. *Short communication:* Genotyping and single nucleotide polymorphism analysis of bovine leukemia virus in Chinese dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 2019; 102(4): 3469–3473. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15481>

ОБ АВТОРАХ:

Рамиль Ришадович Вафин,
доктор биологических наук, профессор,
Федеральный научный центр — Всероссийский
научно-исследовательский институт экспериментальной
ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН,
Рязанский пр-т, 24, Москва, 109428, Россия
vafin-ramil@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0914-0053>

Хамид Халимович Гильманов,
кандидат биологических наук,
Федеральный научный центр — Всероссийский
научно-исследовательский институт экспериментальной
ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН,
Рязанский пр-т, 24, Москва, 109428, Россия
Gilmanov.xx@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7053-6925>

Павел Николаевич Шастин,
кандидат ветеринарных наук,
Федеральный научный центр — Всероссийский
научно-исследовательский институт экспериментальной
ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН,
Рязанский пр-т, 24, Москва, 109428, Россия
shastin.pasha@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7360-927X>

Евгений Алексеевич Гулюкин,
аспирант,
Федеральный научный центр — Всероссийский
научно-исследовательский институт экспериментальной
ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН,
Рязанский пр-т, 24, Москва, 109428, Россия
gulyukin_viev@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9898>

Артём Геннадьевич Григорьев,
младший научный сотрудник,
Федеральный научный центр — Всероссийский
научно-исследовательский институт экспериментальной
ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН,
Рязанский пр-т, 24, Москва, 109428, Россия
griartis.viev@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9731-5417>

ABOUT THE AUTHORS:

Ramil Rishadovich Vafin,
Doctor of biological sciences, professor,
Federal Scientific Center — All-Russian Research Institute
of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scryabyn
and Y.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences,
24 Ryazan Ave., Moscow, 109428, Russia
vafin-ramil@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0914-0053>

Khamid Khalimovich Gilmanov,
Candidate of biological sciences,
Federal Scientific Center — All-Russian Research Institute
of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scryabyn
and Y.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences,
24 Ryazan Ave., Moscow, 109428, Russia
Gilmanov.xx@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7053-6925>

Pavel Nikolaevich Shastin,
Candidate of veterinary sciences,
Federal Scientific Center — All-Russian Research Institute
of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scryabyn
and Y.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences,
24 Ryazan Ave., Moscow, 109428, Russia
shastin.pasha@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7360-927X>

Evgeny Alekseevich Gulyukin,
Postgraduate,
Federal Scientific Center — All-Russian Research Institute
of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scryabyn
and Y.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences,
24 Ryazan Ave., Moscow, 109428, Russia
gulyukin_viev@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9898>

Artem Gennadievich Grigoriev,
Junior researcher,
Federal Scientific Center — All-Russian Research Institute
of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scryabyn
and Y.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences,
24 Ryazan Ave., Moscow, 109428, Russia
griartis.viev@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9731-5417>