

Рус. УДК 636.2:636.01:575.174.015.3:577.2.08:51-76

Вовлечение микросателлита AGC в популяционно-генетическую дифференциацию крупного рогатого скота по устойчивости к инфицированию вирусом бычьего лейкоза

Глазко Валерий Иванович^{1,2}, Косовский Глеб Юрьевич²,
Тагмазян Арина Андраниковна², Глазко Татьяна Теодоровна^{1,2}

¹РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, Россия, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49

²ФГБНУ Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий, Россия, 127422, Москва, ул. Костякова, 12

E-mail: vglazko@yahoo.com

Аннотация:

Выполнен сравнительный анализ генетических структур групп голштинизированного крупного рогатого скота, отличающихся по инфицированности вирусом бычьего лейкоза (BLV), по полиморфизму фрагментов ДНК разной длины, фланкированных инвертированными повторами нуклеотидными последовательностями (GAG)₆C, (AG)₉C, (AGC)₆G (ISSR-PCR-маркеры). Животные были подразделены на три группы, свободные от инфекции (РИД-BLV-) и две группы инфицированных: несущие антитела к вирусным белкам и клоны клеток с геномной встройкой провирусной ДНК BLV (РИД+BLV+) и несущие антитела к вирусным белкам, но без клонов клеток с геномной встройкой провирусной ДНК BLV (РИД+BLV-). Выявлено вовлечение в межгрупповую дифференциацию фрагментов геномной ДНК разной длины, фланкированных инвертированным повтором последовательности микросателлита (AGC)₆G, который, по литературным данным, тесно связан с ретротранспозонами. Генетические расстояния, оцененные по таким фрагментам, оказались почти в два раза больше между группами РИД-BLV- и РИД+BLV+, по сравнению с отличиями между РИД-BLV- и РИД+BLV-. Обсуждается вовлечение в популяционно-генетическую дифференциацию крупного рогатого скота по устойчивости к инфицированию BLV механизмов внутриклеточной защиты от ретротранспозиций.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, вирус бычьего лейкоза, ISSR-PCR-маркеры, генетическая дифференциация, мобильные генетические элементы

Eng. *The involvement of microsatellite AGC in population-genetic differentiation of cattle for resistance to infection by the virus of bovine leukemia*
Glazko V.I.^{1,2}, Kosovsky G. Yu.², Tagmazian A.A.², Glazko V.I.^{1,2},

¹*Russian State Agrarian University – Moscow agricultural Academy (MTAA) named after K.A. Timiryazev, Russian Federation Timiryazevskaya Str., 49, Moscow 127550*

²*Federal State Budget Scientific Institution Center of Experimental Embryology and Reproductive Biotechnologies, 127422 Russian Federation, Moscow, Kostyakova str., 12, bld.4.*

Abstract:

The comparative analysis of the genetic structures of cattle groups that differ in bovine leucosis virus (BLV) infection, according to polymorphism of different lengths DNA fragments flanked by microsatellite inverted repeats (GAG)₆C, (AG)₉C, (AGC)₆G (ISSR-PCR markers) was carried out. The animals were divided into three groups - free from infection (REID-BLV-) and two groups of infected ones: bearing antibodies to viral proteins and cell clones with insertions in genomic DNA of proviruses DNA BLV (RID+BLV+) and carriers of antibodies to viral proteins, but no cell clones with proviruses DNA BLV insertions (RID+BLV-). Identified involvement in intergroup differentiation of genomic DNA fragments of different lengths flanked by inverted repeat sequences of microsatellite (AGC)₆G, which, according to the literature, is closely associated with retrotransposons. Genetic distances estimated according to such fragments, were almost two times more between groups of RID-BLV- and RID+BLV+, compared to the differences between the RID-BLV- and RID+BLV-. The involvement in population-genetic differentiation of cattle for resistance to BLV infection the mechanisms of intracellular protection from retrotransposition were discussed.

Key words: cattle, bovine leucosis virus, ISSR-PCR markers, genetic differentiation, genetic mobile elements

Введение

Распространение вируса бычьего лейкоза (BLV) приносит существенный экономический ущерб молочному и мясному скотоводству, по подсчетам некоторых исследователей, около 525 млн. долларов в год [11]. Ситуация осложняется еще и тем, что до сих пор не удается разработать оптимальных методов предупреждения его распространения. В последние годы особое внимание уделяется исследованиям закономерностей и молекулярно-генетических основ распространения BLV не только в связи с экономическими потерями в молочном скотоводстве, но и с тем, что BLV принадлежит к дельтавирусам, подсемейству орторетровирусов семейства ретровириды и филогенетически связан с вирусом Т клеточного лейкоза человека 1 типа (HTLV-1) [18], что позволяет использовать информацию о механизмах онкогенного действия BLV в качестве модели в изучении лейкозов человека, индуцируемых близкими ретровирусами.

Генетическая дифференциация крупного рогатого скота по чувствительности и устойчивости к инфицированию BLV обсуждается достаточно давно, как правило, такие внутригрупповые отличия связывают с полиморфизмом по генам второго класса главного комплекса гистосовместимости BoLA-DRB3 (например, [8, 14, 15]). В то же время, известные проблемы неуспешности вакцинации против антигенов белков BLV [12, 17], естественный отбор против В клеточных клонов, продуцирующих вирусные антигены [13], не позволяет предполагать, что полиморфизм одного гена антиген-презентирующей системы может лежать в основе сложной геномной сети, связанной с устойчивостью к ретровирусной инфекции. Еще одним свидетельством сложности таких сетей является тот факт, что в ряде исследований многократно подтверждено, что носители антител к BLV могут быть свободны от В клеточных клонов, несущих в своем геноме вставку провирусной BLV ДНК. По литературным данным количество таких животных в стадах крупного рогатого скота, инфицированных BLV, встречается более чем 7% животных [16]. В наших собственных исследованиях такие животные встречались достаточно часто [5, 7].

В наших предыдущих исследованиях с использованием метода полилокусного генотипирования (геномного сканирования) с применением ISSR-PCR маркеров (Inter-Simple Sequence Repeats – Polymerase Chain Reaction) мы рассмотрели эффективность использования этого метода для выявления популяционно-генетической дифференциации черно-пестрого голштинизированного скота в связи с их отличиями по молочной продуктивности, инфицированности BLV и происхождению от разных производителей [4]. Получены данные, свидетельствующие о том, что ISSR-

PCR маркеры - спектры ДНК фрагментов, фланкированных инвертированным повтором микросателлита праймера (AG)₉C, объединяли группы коров с повышенной молочной продуктивностью, (GA)₉C, (GAG)₆C, (AGC)₆G, (ACC)₆G – инфицированных BLV, независимо от их удоя. Оказалось также, что имеется определенная связь между повышенной молочной продуктивностью и инфицированностью коров BLV, что хорошо согласуется с литературными данными [1, 3]. В то же время, в наших исследованиях потомки трех производителей отличались от всех остальных не только инфицированностью BLV, но и низкой молочной продуктивностью, что, по-видимому, отражает общий сниженный адаптивный потенциал.

Для того, чтобы оценить участие спектров ISSR-PCR в дифференциации крупного рогатого скота по чувствительности к инфицированию BLV, в настоящем исследовании выполнено сопоставление таких спектров у коров, свободных от инфекции, инфицированных BLV (экспрессирующих антитела к BLV, РИД+, и несущих встройку провирусной ДНК BLV в своем геноме) и РИД+, но без встройки провирусной ДНК BLV в геноме, с использованием в качестве праймеров в PCR фрагментов микросателлитов (GAG)₆C, (AG)₉C и (AGC)₆G.

Материалы и методика

В исследования включены коровы, помеси симменталы х голштины (в ряде поколений проводилось поглощающее скрещивание на голштинов) хозяйства «Заря», Пензенской области. Кровь забирали из хвостовой вены животных.

ДНК выделяли из образцов цельной крови с помощью набора Синтол (Россия). Животные диагностировали на наличие антител (РИД+/-) и наличие встройки провирусной ДНК BLV с использованием разработанного нами ранее ДНК теста [6]. PCR выполнялось в амплификаторе «NYX Technik». Все животные были генотипированы по ISSR-PCR-маркерам с использованием в полимеразной цепной реакции (PCR) в качестве праймеров нуклеотидные последовательности (GAG)₆C, (AG)₉C, (AGC)₆G. PCR проводили в следующем режиме: первичная денатурация (95 °С, 2 мин.), денатурация (94 °С, 15 с), отжиг (55 °С, 15 с), элонгация (72 °С, 2 мин.) – 40 циклов, финальная элонгация (72 °С, 2 мин.). Для амплификации использовался набор реагентов HS-Taq Polimerase dNTP (Evrogen) и соответствующий протокол производителя.

Электрофоретический анализ продуктов амплификации проводили с использованием 1,2%-го агарозного геля в 1xTAE-буфере с добавлением бромистого этидия (10 мг/мл) в течении 1,5 часа. Для визуализации фрагментов ДНК использовался источник ультрафиолета трансиллюминатор

“ЕСХ-F20 M”. Размер фрагментов ДНК определяли при помощи маркера длин O’GeneRuler DNA Ladder Mix (100-10 000 п.н.) (Thermo Scientific, США).

На основании оценки присутствия/отсутствия индивидуальных фрагментов ДНК определенной длины у каждого из исследуемых животных была составлена бинарная матрица. Для математической обработки бинарных данных использовался алгоритм метода невзвешенного попарного среднего UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages) сервера DendroUPGMA и коэффициент подобия по Дайсу. Далее генетическое древо в формате Newick использовалось для построения дендрограммы в программе *TreeView*. Рассчитывали полиморфное информационное содержание – PIC (Polymorphic Information Content), или ожидаемая гетерозиготность, которая рассчитывается в программе GenAlEx 6.5 исходя из предположения о том, что по каждому фрагменту ДНК, который рассматривался как отдельный локус, исследуемая группа животных находится в равновесии Харди-Вайнберга. Частоту встречаемости животных без фрагмента ДНК определенной длины учитывали как гомозиготу по рецессивному аллелю (q^2) и по формуле Харди-Вайнберга $p^2 + 2pq + q^2$ находили $2pq$, затем усредняли полученные значения по всем учитываемым фрагментам ДНК спектра определенного праймера, усредненное значение представляли как PIC.

Результаты и их обсуждения

Исследованные коровы поделены на три группы: группа животных, свободных от инфекции, обозначали «РИД-BLV-»; инфицированных BLV с антителами и со встройкой в геном провирусной ДНК BLV – как «РИД+BLV+»; животных с антителами, но без встройки провирусной ДНК BLV – как «РИД+BLV-». Результаты оценок полиморфного информационного содержания (PIC, или ожидаемая гетерозиготность) спектров продуктов амплификации (ампликонов) для каждого праймера у коров трех исследованных групп приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Полиморфное информационное содержание (PIC) спектров продуктов амплификации ди- и тринуклеотидных праймеров у исследованных групп коров

Праймеры	РИД-BLV- (N=10)	РИД+BLV+ (N=10)	РИД+BLV- (N=11)
(GAG) ₆ C	0	0	0
(AGC) ₆ G	0,050	0,208	0,245
(AG) ₉ C	0	0,108	0,122

N – количество животных

По полученным данным (табл.1) видно, что у группы коров, свободных от инфекции, показатель PIC по спектрам ампликонов по фрагментам геномной ДНК, фланкированным инвертированными повторами всех трех микросателлитов (GAG)₆C (10 фрагментов ДНК), (AG)₉C (8 фрагментов ДНК) и (AGC)₆G (10 фрагментов ДНК), существенно ниже, чем у двух инфицированных BLV групп коров (табл.1). Судя по полиморфизму суммарно 28-ми локусов, группа коров, свободных от инфекции, отличалась от двух групп инфицированных животных относительно повышенной гетерозиготностью.

Наименьший полиморфизм наблюдался у всех групп коров в спектрах ампликонов праймера (GAG)₆C, наибольший – в спектрах праймера (AGC)₆G (табл.1). Микросателлит (AGC)₆G представляет особый интерес, поскольку по литературным данным известна его тесная ассоциация с транспозирующимися элементами [10]. Фрагменты геномной ДНК, фланкированные инвертированным повтором именно этого микросателлита, в наибольшей степени вовлекались в дифференциацию между группами черно-пестрых голштиinizированных коров, судя по результатам наших предыдущих исследований [4].

На основании полилокусных генотипов фрагментов геномной ДНК разной длины, фланкированных инвертированным повтором (AGC)₆G, построена дендрограмма, отражающая генетические взаимоотношения между исследованными коровами, принадлежащими к группам инфицированных BLV животных (РИД+BLV+; РИД+BLV-) и свободных от инфекции (РИД-BLV-), представленная на рисунке 1.

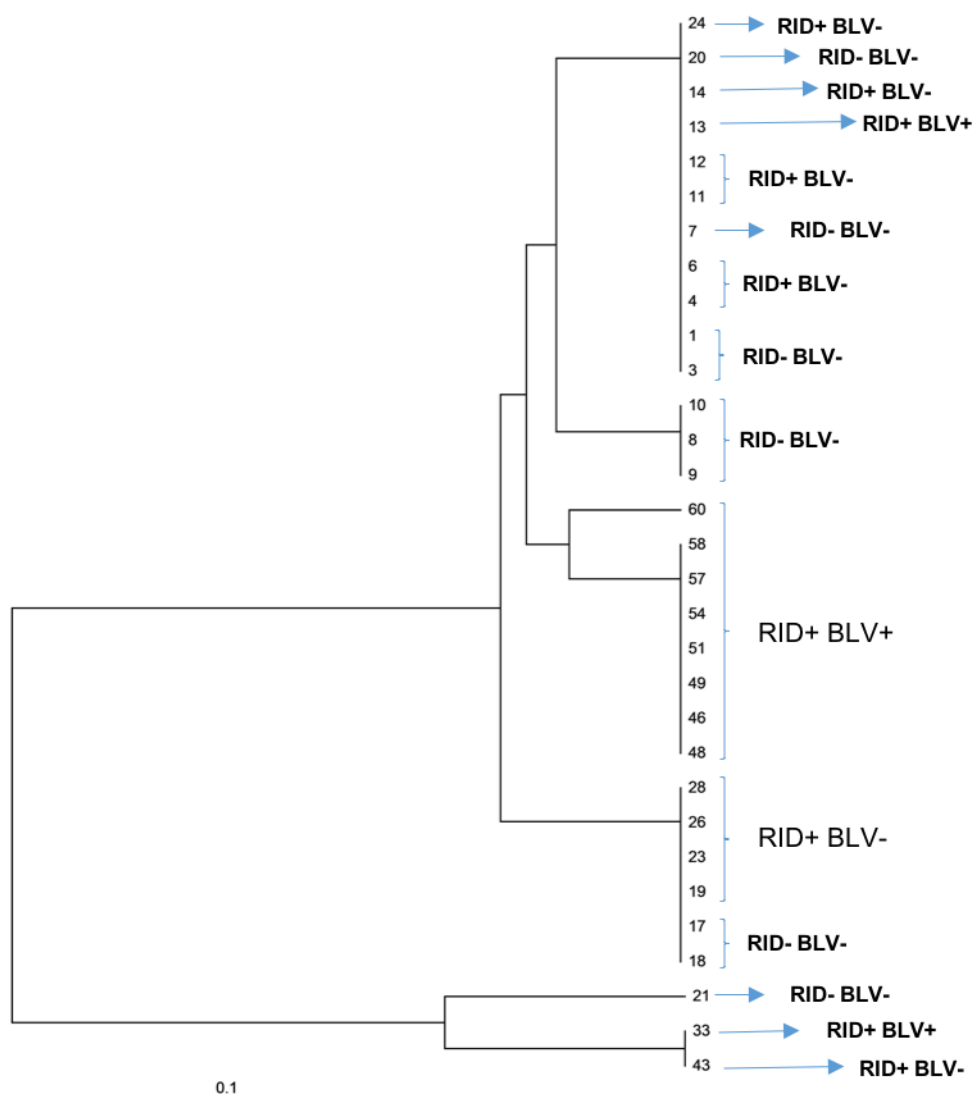


Рис. 1 – Дендрограмма генетических взаимоотношений в масштабе значений дистанции М. Нея между группами коров, инфицированных BLV животных (РИД+BLV+; РИД+BLV-) и свободных от инфекции (РИД-BLV-), построенная с использованием в программы TreeView на основании частот встречаемости фрагментов разной длины геномной ДНК, фланкированных инвертированным повтором (AGC)₆G. Цифрами обозначены номера образцов крови исследованных коров.

На дендрограмме отчетливо видно, что 8-мь коров из 10-ти исследованных группы РИД+BLV+ образуют общий подкластер, отличающий их от других групп, и только коровы №13 и №33 попадают в подкластеры, в которых присутствуют животные из других групп (рис.1). 19

коров групп РИД-BLV- и РИД+BLV- формируют два общих подкластера, дифференцирующихся от группы РИД-BLV- (рис.1). Полученные данные свидетельствуют об относительно большем сходстве между животными, свободными от инфекции BLV, и инфицированными, но без наличия клонов В клеток, несущих в геноме вставку провирусной ДНК BLV.

Величины генетических расстояний (М.Ней) свидетельствуют о том, что действительно, наибольшее генетическое расстояние наблюдается между инфицированной (2. РИД+BLV+) и неинфицированной (1. РИД-BLV-) группами животных. Группа 3. РИД+BLV- находится между ними, но ближе к группе животных, свободных от инфекции (табл. 2; рис. 2).

Таблица 2 – Величины генетических расстояний (М.Ней) между группами коров, свободных от инфекции BLV (1. РИД-BLV-); инфицированных с наличием антител к белкам BLV и клонов В клеток с интеграцией в геном провирусной ДНК BLV (2. РИД+BLV+); инфицированных с наличием антител к белкам BLV и отсутствием клонов В клеток с интеграцией в геном провирусной ДНК BLV (3. РИД+BLV-).

	1. РИД-BLV-	2. РИД+BLV+	3. РИД+BLV-
1. РИД-BLV-	-	0.4273	0.0997
2. РИД+BLV+	0.4273	-	0.2767
3. РИД+BLV-	0.0997	0.2767	-

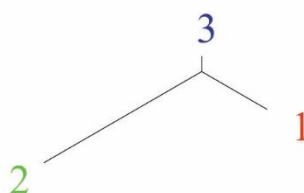


Рис. 2 – Графическое изображение генетических расстояний (М.Ней) между группами животных, инфицированных BLV (2. РИД+BLV+; 3. РИД+BLV-) и свободных от инфекции (1. РИД-BLV-)

Полученные данные подтверждают результаты наших более ранних исследований, свидетельствующие о том, что полиморфизм фрагментов разной длины геномной ДНК, фланкированных инвертированным повтором нуклеотидной последовательности (AGC)₆G, вовлекается в популяционно-генетическую дифференциацию коров, инфицированных BLV, и свободных от инфекции [4] и, кроме того, свидетельствует о выраженных отличиях по генетической структуре групп инфицированных BLV животных, утрачивающих клоны В лимфоцитов с геномной встройкой провирусной ДНК BLV, и несущих такие клоны.

Важно подчеркнуть, что сравнительный анализ секвенированных участков геномной ДНК, фланкированных инвертированным повтором последовательности (AGC)₆G, у инфицированных BLV и свободных от инфекции черно-пестрых голштинизированных коров позволил получить данные о том, что у инфицированных BLV животных в таких геномных участках повышена частота встречаемости мобильных генетических элементов и продуктов их рекомбинаций, что позволило нам прийти к выводу о том, что у инфицированных BLV животных относительно снижена защита от геномных транспозиций [2].

Заключение

Группы коров, инфицированных BLV и свободных от инфекции отличаются по генетической структуре по полилокусным спектрам фрагментов ДНК, фланкированных инвертированным повтором (AGC)₆G. Наибольшие отличия обнаруживаются между животными, свободными от инфекции и продуцирующими не только антитела к белкам BLV, но и несущими клоны В клеток с геномной встройкой провирусной ДНК BLV. По генетической структуре коровы, продуцирующие антитела, но с отсутствием клонов В клеток с геномной встройкой провирусной ДНК BLV, оказываются почти в два раза ближе к животным, свободным от инфекции. Тесная связь микросателлита AGC с мобильными генетическими элементами [10], выявленная нами ранее повышенная частота встречаемости мобильных генетических элементов и продуктов их рекомбинаций в секвенированных геномных последовательностях, фланкированных инвертированным повтором этого микросателлита у инфицированных BLV животных по сравнению со свободными от инфекции, позволяет предположить вовлечение систем защиты от геномных транспозиций в дифференциацию животных по устойчивости и чувствительности животных к инфицированию BLV. Известные данные о вовлечении врожденного и адаптивного иммунитета в устойчивость крупного рогатого скота к инфицированию BLV [9], полученные нами результаты позволяют предположить участие в формировании устойчивости к инфекции BLV не только систем клеточного

иммунитета, но и внутриклеточных факторов, контролирующих геномную защищенность от ретротранспозиций.

Список литературы

1. Гладырь Н.А., Зиновьева А.С., Быкова И.В., Виноградова Л.К., Эрнст Л.К. Молочная продуктивность коров в зависимости от инфицированности вирусом лейкоза и генотипа по BOLA-DRB3// Достижения науки и техники АПК, 2012. № 8. – С. 46-48.
2. Глазко В.И., Косовский Г.Ю., Ковальчук С.Н., Архипов А.В., Петрова И.О., Глазко Т.Т. Инвертированный повтор микросателлита (AGC)6G фланкирует районы ДНК с участками гомологии к ретротранспозонам в геноме крупного рогатого скота // Инновационные технологии в медицине, 2014. № 2(03). – С. 63–79.
3. Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Виноградова И.В., Молофеева Л.А., Михайлова М.Е., Эрнст Л.К. Распространение вируса лейкоза крупного рогатого скота у коров черно-пестрой породы с различным уровнем молочной продуктивности/ // Сельскохозяйственная биология, 2012. № 6. – С. 49-55.
4. Косовский Г.Ю., Глазко В.И., Архипов А.В., Петрова И.О., Глазко Т.Т. Популяционно-генетическая дифференциация молочного скота по ISSR-PCR-маркерам // Российская сельскохозяйственная наука, 2014. №5. – С. 53-56.
5. Косовский Г.Ю., Глазко В.И., Ковальчук С.Н., Глазко Т.Т. Эритроцитарные и лейкоцитарные клеточные характеристики у коров, инфицированных *Anaplasma marginale* и вирусом бычьего лейкоза // Сельскохозяйственная биология, 2017. Т. 52. № 2. – С. 391-400.
6. Косовский Г.Ю., Сотникова Е.А., Мудрик Н.Н., Cuong V.C., Тоан Т.Х., Ноан Т.Х., Глазко В.И. Диагностика лейкоза КРС с помощью праймеров к генам gag и pol // Ветеринария, 2013. № 8. – С. 58-61.
7. Облап Р.В., Глазко В.И., Созинов А.А. Вирус бычьего лейкоза и диагностика инфицированных животных // Цитология и генетика, 1997. Т. 31. № 2. – С. 41-43.
8. Сулимова Г.Е., Лазебная И.В., Рузина М.Н., Белокуров С.Г., Перчун А.В. Полиморфизм гена BOLA-DRB3 у быков-производителей костромской породы как генетический фактор устойчивости к лейкозу // Ветеринария, 2014. № 6. – С. 24-27.

9. Brym P, Kamiński S. Microarray analysis of differential gene expression profiles in blood cells of naturally BLV-infected and uninfected Holstein-Friesian cows // *Mol Biol Rep.*, 2017; 44(1). – P.109-127. doi: 10.1007/s11033-016-4088-6
10. Elsik C.G., Tellam, R. L., Worley K. C. The Genome Sequence of Taurine Cattle: A Window to Ruminant Biology and Evolution / C.G. Elsik, R. L. Tellam, K. C. Worley // *Science*. – 2009. – Vol. 324. – P. 522 – 528 doi:10.1126/science.1169588
11. Gillet N., Florins A., Boxus M. et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human // *Retrovirology*, 2007. 4:18 [Электронный ресурс] <http://www.retrovirology.com/content/4/1/18>
12. Gutiérrez G, Rodríguez SM, de Brogniez A, Gillet N, Golime R, Burny A, Jaworski JP, Alvarez I, Vagnoni L, Trono K, Willems L. Vaccination against δ -retroviruses: the bovine leukemia virus paradigm //, 2014. V.6, N.6. – P. 2416-2427. (doi: 10.3390/v6062416).
13. Ikebuchi R., Konnai S., Okagawa T., Nishimori A., Nakahara A., Murata S., Ohashi K. Differences in cellular function and viral protein expression between IgM^{high} and IgM^{low} B-cells in bovine leukemia virus-infected cattle // *J. Gen Virol.*, 2014. 95(Pt 8):1832-42. doi: 10.1099/vir.0.065011-0
14. Juliarena MA, Barrios CN, Ceriani MC, Esteban EN Hot topic: Bovine leukemia virus (BLV)-infected cows with low proviral load are not a source of infection for BLV-free cattle // *J. Dairy Sci.* , 2016. 99(6). – P.4586-4589. doi: 10.3168/jds.2015-10480.
15. Juliarena MA, Poli M, Ceriani C, Sala L, Rodríguez E, Gutierrez S, Dolcini G, Odeon A, Esteban EN. Antibody response against three widespread bovine viruses is not impaired in Holstein cattle carrying bovine leukocyte antigen DRB3.2 alleles associated with bovine leukemia virus resistance // *J. Dairy Sci.* 2009. 92(1). – P.375-381. doi: 10.3168/jds.2008-1143.
16. Nishiike M., Haoka M., Doi T., Kohda T., Mukamoto M. Development of a preliminary diagnostic measure for bovine leukosis in dairy cows using peripheral white blood cell and lymphocyte counts // *J. Vet. Med. Sci.*, 2016. 78(7). – P. 1145–1151, doi: 10.1292/jvms.16-0022.
17. Ohira K., Nakahara A., Konnai S., Okagawa T., Nishimori A., Maekawa N., Ikebuchi R., Kohara J., Murata S., Ohashi K. Bovine leukemia virus reduces anti-viral cytokine activities and NK cytotoxicity by inducing TGF- β secretion from regulatory T cells. // *Immun Inflamm Dis.*, 2016. 4(1). – P. 52-63. doi: 10.1002/iid3.93. eCollection 2016

18. Sagata, N., Yasunaga, T., Tsuzuku-Kawamura, J., Ohishi, K., Ogawa, Y. & Ikawa, Y. Complete nucleotide sequence of the genome of bovine leukemia virus: its evolutionary relationship to other retroviruses // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1985. 82. –P. 677–681.

Spisok literaturyi

1. Gladyir N.A., Zinoveva A.S., Byikova I.V., Vinogradova L.K., Ernst L.K. Molochnaya produktivnost korov v zavisimosti ot infitsirovannosti virusom leykoza i genotipa po BOLA-DRB3// Dostizheniya nauki i tehniki APK. 2012, # 8. – S. 46-48.
2. Glazko V.I., Kosovskiy G.Yu., Kovalchuk S.N., Arhipov A.V., Petrova I.O., Glazko T.T. Invertirovannyiy povtor mikrosatellita (AGC)6G flankiruet rayony DNK s uchastkami gomologii k retrotranspozonom v genome krupnogo rogatogo skota // Innovatsionnyie tehnologii v meditsine. 2014. # 2(03). – S. 63–79.
3. Zinoveva N.A., Gladyir E.A., Vinogradova I.V., Molofeeva L.A., Mihaylova M.E., Ernst L.K. Rasprostranenie virusa leykoza krupnogo rogatogo skota u korov cherno-pestroy porodyi s razlichnyim urovnem molochnoy produktivnosti/ // Selskohozyaystvennaya biologiya, 2012, # 6. – S. 49-55.
4. Kosovskiy G.Yu., Glazko V.I., Arhipov A.V., Petrova I.O., Glazko T.T. Populyatsionno-geneticheskaya differentsiatsiya molochnogo skota po ISSR-PCR-markeram // Rossiyskaya selskohozyaystvennaya nauka, 2014. #5. – S. 53-56.
5. Kosovskiy G.Yu., Glazko V.I., Kovalchuk S.N., Glazko T.T. Eritrotsitarnyye i leykotsitarnyye kletochnyie harakteristiki u korov, infitsirovannyih Anaplasma marginale i virusom byichego leykoza // Selskohozyaystvennaya biologiya, 2017. T. 52. # 2. – S. 391-400.
6. Kosovskiy G.Yu., Sotnikova E.A., Mudrik N.N., Cuong V.C., Toan T.X., Hoan T.X., Glazko V.I. Diagnostika leykoza KRS s pomoschyu praymerov k genam gag i pol // Veterinariya, 2013. # 8. – S. 58-61.
7. Oblap R.V., Glazko V.I., Sozinov A.A. Virus byichego leykoza i diagnostika infitsirovannyih zhivotnyih // Tsitologiya i genetika, 1997. T. 31. # 2. – S. 41-43.
8. Sulimova G.E., Lazebnaya I.V., Ruzina M.N., Belokurov S.G., Perchun A.V. Polimorfizm gena BOLA-DRB3 u byikov-proizvoditeley kostromskoy porodyi kak geneticheskii faktor ustoychivosti k leykozu // Veterinariya, 2014. # 6. – S. 24-27.

9. Brym P, Kamiński S. Microarray analysis of differential gene expression profiles in blood cells of naturally BLV-infected and uninfected Holstein-Friesian cows // *Mol Biol Rep.*, 2017; 44(1). – P.109-127. doi: 10.1007/s11033-016-4088-6
10. Elsik C.G., Tellam, R. L., Worley K. C. The Genome Sequence of Taurine Cattle: A Window to Ruminant Biology and Evolution / C.G. Elsik, R. L. Tellam, K. C. Worley // *Science*. – 2009. – Vol. 324. – P. 522 – 528 doi:10.1126/science.1169588
11. Gillet N., Florins A., Boxus M. et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human // *Retrovirology*, 2007. 4:18 [Электронный ресурс] <http://www.retrovirology.com/content/4/1/18>
12. Gutiérrez G, Rodríguez SM, de Brogniez A, Gillet N, Golime R, Burny A, Jaworski JP, Alvarez I, Vagnoni L, Trono K, Willems L. Vaccination against δ -retroviruses: the bovine leukemia virus paradigm //, 2014. V.6, N.6. – P. 2416-2427. (doi: 10.3390/v6062416).
13. Ikebuchi R., Konnai S., Okagawa T., Nishimori A., Nakahara A., Murata S., Ohashi K. Differences in cellular function and viral protein expression between IgM^{high} and IgM^{low} B-cells in bovine leukemia virus-infected cattle // *J. Gen Virol.*, 2014. 95(Pt 8):1832-42. doi: 10.1099/vir.0.065011-0
14. Juliarena MA, Barrios CN, Ceriani MC, Esteban EN Hot topic: Bovine leukemia virus (BLV)-infected cows with low proviral load are not a source of infection for BLV-free cattle // *J. Dairy Sci.* , 2016. 99(6). – P.4586-4589. doi: 10.3168/jds.2015-10480.
15. Juliarena MA, Poli M, Ceriani C, Sala L, Rodríguez E, Gutierrez S, Dolcini G, Odeon A, Esteban EN. Antibody response against three widespread bovine viruses is not impaired in Holstein cattle carrying bovine leukocyte antigen DRB3.2 alleles associated with bovine leukemia virus resistance // *J. Dairy Sci.* 2009. 92(1). – P.375-381. doi: 10.3168/jds.2008-1143.
16. Nishiike M., Haoka M., Doi T., Kohda T., Mukamoto M. Development of a preliminary diagnostic measure for bovine leukosis in dairy cows using peripheral white blood cell and lymphocyte counts // *J. Vet. Med. Sci.*, 2016. 78(7). – P. 1145–1151, doi: 10.1292/jvms.16-0022.
17. Ohira K., Nakahara A., Konnai S., Okagawa T., Nishimori A., Maekawa N., Ikebuchi R., Kohara J., Murata S., Ohashi K. Bovine leukemia virus reduces anti-viral cytokine activities and NK cytotoxicity by inducing TGF- β secretion from regulatory T cells. // *Immun Inflamm Dis.*, 2016. 4(1). – P. 52-63. doi: 10.1002/iid3.93. eCollection 2016

18. Sagata, N., Yasunaga, T., Tsuzuku-Kawamura, J., Ohishi, K., Ogawa, Y. & Ikawa, Y. Complete nucleotide sequence of the genome of bovine leukemia virus: its evolutionary relationship to other retroviruses // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1985. 82. –P. 677–681.