

23. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals mammals, birds and bees [Текст] / International Office of Epizootics, Biological Standards Commission, International Office of Epizootics, International Committee// Paris.,Office international des epizooties. - 2008. - 6th ed.

**COMPARATIVE STUDIES OF FIELD ISOLATES OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS ISOLATED FROM CHICKENS AND PIGEONS**

**Altaher Harith Abdulla**

Kharkiv State Zooveterinary Academy

**Stegniy B.T.**

National Scientific center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkov

*Paramyxovirus – a group of viruses belonging to the Paramyxoviridae family and can cause disease in various animals. Over the past 40 years, these viruses have been isolated from various mammalian species, including humans as well as the birds. Avian paramyxovirus take a special place in infectious pathology of birds that causes one of the most dangerous diseases - Newcastle disease.*

*Purpose. The main purpose of our research was to conduct a comparative study the biological properties of two Newcastle disease viruses isolated from different hosts.*

*Materials and methods. Two Newcastle diseases viruses that were isolated from sick chickens with gardening of Mykolayiv region, as well as from sick domestic pigeon from the city of Kharkov were used in studies.*

*Results. In 2013, from clinically sick chickens from a small subsistence farming in the Mykolaiv region that have not been vaccinated against Newcastle disease was hemagglutinated isolate was isolated with activity of 1:256. When serological study paired blood sera from sick chicken in this farm, a significant increase of specific antibodies to Newcastle disease virus was established. Also this year from clinically sick synanthropic pigeon in Kharkov it was isolated hemagglutinated virus with activity of 1:64-128. When serological and molecular genetic identification it was established that both viruses belong to the Newcastle disease virus. When comparing their biological properties it was shown that the virus isolated from chickens are velogenic, causes death of chick embryos, whereas virus isolated from pigeons poorly reproduced in chick embryos without causing their death and belongs to lentogenic viruses.*

*Conclusions. These results suggest the circulation of diverse pathogenicity and biological properties of the field Newcastle disease virus in populations of domestic and synanthropic birds requires further study.*

**Keywords:** Newcastle disease, chickens, pigeons synanthropic.

**УДК 619:616.98:579.887.111**

**ТЕОРЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ СЕКРЕТОРНИХ ПРОТЕЇНІВ ЗБУДНИКА КОНТАГІОЗНОЇ ПЛЕВРОПНЕВМОНІЇ ВРХ**

**Болотін В.І.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,  
м. Харків, e-mail: dalum@mail.ru

*Проведений аналіз геному збудника контагіозної плевропневмонії ВРХ біоінформатичними методами досліджень щодо наявності генів, відповідальних за синтез секреторних протеїнів. За допомогою різних алгоритмів передбачення потенційних секреторних білків обрано 5 з 1095 протеїнів *Mycoplasma mycoides* subsp *mycoides* small colony референтного штаму Gladysdale. У кожній послідовності передбачено локалізацію та послідовності імуногенних епітопів. Отримані результати можуть бути використані при розробці діагностичних і профілактичних засобів при контагіозній плевропневмонії ВРХ.*

**Ключові слова:** контагіозна плевропневмонія ВРХ, секреторні протеїни, біоінформатика

Збудник контагіозної плевропневмонії великої рогатої худоби (КРП ВРХ) *Mycoplasma mycoides* subsp *mycoides* small colony (MmmSc) вважається одним з найбільш патогенних мікроорганізмів класу *Mollicutes*.

КРП ВРХ була повністю ліквідована на території України ще в 1938 р. завдяки впровадженню системи оздоровчих заходів, контролю за рухом худоби та карантину. Разом з тим повторні спалахи наприкінці минулого століття в Португалії та Італії продемонстрували небезпеку виникнення захворювання на теренах Європейського континенту і необхідності впровадження кошовних заходів щодо її викорінення. В останнє десятиріччя спалахи КРП ВРХ трапляються в ряді країн Азії, Західної та Центральної Африки [1, 2, 3].

Ідентифікація та охарактеризування нових специфічних імуногенних протеїнів *MmmSc* є безумовно важливим кроком для розуміння механізмів патогенності цього збудника та може бути передумовою для розробки більш чутливих діагностиків і ефективних вакцин.

Вивчення амінокислотного складу різних мікроорганізмів, у тому числі і мікоплазм, стало можливим завдяки розвитку методів протеоміки. Такий підхід істотно розширює знання про антигенну структуру збудника. Найбільшої уваги для пошуку нових антигенів заслуговують білки зовнішньої мембрани та секреторні протеїни, бо саме вони в першу чергу є мішенями для імунної системи організму хазяїна. Таким чином, імуногенні білки і фактори вірулентності слід шукати саме серед цієї групи протеїнів, докладний аналіз яких досі не проведений [4, 5].

Тому метою нашої роботи був аналіз секреторних протеїнів шляхом вивчення геному *Mmm Sc* та пошуку відповідних генів, що кодують вищезгадані білки.

**Матеріали та методи.** Дослідження геному *Mmm Sc* штаму Gladysdale (Acc.No. CP002107) [6] проведені за допомогою біоінформатичних методів із застосуванням програмного забезпечення LipoP 1.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/LipoP/>) [7], SignalP-4.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) [8] та TargetP (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>) [9]. Додатково використовували алгоритми PSORTb [10] та Cello [11], які передбачають локалізацію бактеріальних білків у клітини. Аналіз амінокислотних послідовностей щодо кількості трансмембранних  $\alpha$ -спіральних та  $\beta$ -барелів проводили за допомогою серверів TMHMM [12] та BOMP [13] відповідно.

Послідовності ймовірних секреторних протеїнів були вивчені з огляду на наявність потенційних В-клітинних епітопів, використовуючи веб-програми ABCpred ([www.imtech.res.in/raghava/abcpred/](http://www.imtech.res.in/raghava/abcpred/)) [14] або BCPREDS (<http://ailab.cs.iastate.edu/bcpreds/>) [15]. Аналіз амінокислотних послідовностей проводили з використанням програми DNASTAR Lasergene (версія для Windows; DNASTAR Inc, Медісон, США). Пошук гомологічних послідовностей проводили за допомогою програми BLASTX [16]. Порівняння амінокислотних послідовностей проводили, використовуючи модуль CLASTALW [17].

**Результати досліджень.** З часу секвенування повного геному *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (*Mmm*) з'явилася можливість детального вивчення як окремих генів збудника, так й кодованих ними протеїнів. Штам Gladysdale був виділений у 1964 р. в Австралії та широко використовується в якості референтного, геном якого має довжину близько 1 200 тис. н.з. та представлений 1135 генами, з яких 1095 кодують протеїни [6]. Відповідні відкритим рамкам зчитування амінокислотні послідовності використовували для аналізу за різних алгоритмів та систем порівняння з аналогами. Для цього застосовували комбіноване дослідження послідовності білків з використанням декількох програм для підвищення точності передбачення секреторних протеїнів.

На першому етапі досліджень, користуючись ресурсами SignalP-4.0 та TargetP, передбачували наявність та структуру сигнального пептиду і сайту його відщеплення на підставі оцінки амінокислотної послідовності білка з використанням нейронних мереж [8]. За результатами цієї роботи обрали 81 протеїн. За допомогою програми LipoP виявляли ділянки в послідовності поліпептиду(ліпо-бокси), які є сайтами для сигнальної пептидази двох типів. На цьому етапі визначили 62 протеїни, які мають у своєму складі сайт для сигнальної пептидази першого типу та 39 – другого. Ці протеїни скоріше за все відносяться до ліпопротеїнів мембрани, тому для подальших досліджень нами не обиралися.

Отже, при порівнянні результатів, отриманих за умов використання цих алгоритмів, відібрано 37 послідовностей ймовірних секреторних протеїнів. Таблиця 1 містить узагальнені результати біоінформатичного аналізу цих послідовностей за різних алгоритмів.

**Таблиця 1 – Результати пошуку секреторних протеїнів *Mmm Sc* штаму Gladysdale**

Назва локусу в геномі штаму Gladysdale	Довжина, а.з.	Позиція сайту розрізання с.п.	Гомологи у штамі PG1	PSORTb/ CELLO	TMH	BOMP	Позиція цистеїну
MMS_A0032	1050	29-30	MSC_0032	н/с	1	0	-
MMS_A0123	180	18-19	MSC_0111	н/ц	1	0	-
MMS_A0133	238	25-26	MSC_0117	н/с	0	0	26
MMS_A0211	1047	21-22	MSC_0184	з.м./з.м.	0	1	24
MMS_A0225	227	19-20	MSC_0198	н/з.м.	1	0	-
MMS_A0380	93	20-21	MSC_0344	н/ц	0	0	-
MMS_A0431	59	23-24	MSC_0390	н/с	0	0	24
MMS_A0433	114	21-22	MSC_0392	н/п	0	0	24
MMS_A0434	109	21-22	MSC_0393	н/п	0	0	24
MMS_A0442	44	23-24	MSC_0441	н/п	0	0	24
MMS_A0506	820	22-23	MSC_0456	з.м./з.м.	1	0	23
MMS_A0548	717	23-24	MSC_0499	з.м./с	0	1	24
MMS_A0549	970	21-22	MSC_0500	з.м./с	0	0	24
MMS_A0567	622	23-24	MSC_0519	н/с	1	0	24

MMS_A0570	46	23-24	MSC_0521	н/ц	0	0	-
MMS_A0627	238	17-18	MSC_0574	н/з.м.	0	0	-
MMS_A0629	341	21-22	MSC_0575	н/п	0	0	24
MMS_A0678	832	23-24	MSC_0626	з.м./з.м.	0	0	24
MMS_A0687	750	27-28	MSC_0628	з.м./з.м.	1	0	-
MMS_A0689	750	27-28	MSC_0628	н/з.м.	1	0	-
MMS_A0694	750	27-28	MSC_0633	з.м./з.м.	1	1	-
MMS_A0697	753	28-29	MSC_0637	з.м./з.м.	1	0	-
MMS_A0732	407	20-21	MSC_0668	з.м./с	1	0	13
MMS_A0780	934	20-21	MSC_0711	з.м./с	0	0	25
MMS_A0857	630	33-34	MSC_0782	ц/з.м.	1	0	14, 34
MMS_A0864	477	28-29	MSC_0804	ц/п	0	1	29
MMS_A0872	679	33-34	MSC_0798	ц/з.м.	1	0	14, 34
MMS_A0878	490	28-29	MSC_0790	п/п	0	0	29
MMS_A0884	292	19-20	MSC_0809	н/с	0	0	11
MMS_A0889	405	23-24	MSC_0816*	н/с	0	0	-
MMS_A0890	405	23-24	MSC_0817*	с/с	0	0	-
MMS_A0952	107	21-22	MSC_0878	з.м./з.м.	3	0	-
MMS_A1012	295	22-23	MSC_0924	н/з.м.	1	0	26
MMS_A1049	433	20-21	MSC_0957	з.м./с	0	0	24
MMS_A1084	113	23-24	MSC_0992	н/ц	0	0	-
MMS_A1088	57	17-18	MSC_0996	н/с	0	0	-
MMS_A1123	152	17-18	MSC_1027	н/ц	1	0	-

**Примітки:** \* перекриває частину N-кінцевої області; а.з. – амінокислотні залишки; с.п. – сигнальний пептид; ТМН – кількість трансмембранних  $\alpha$ -спіральных ділянок; PSORTb/CELLO – локалізація протеїнів: ц – цитоплазма, п – периплазма, з.м. – зовнішня мембрана, с-поза клітиною (секреторний); BOMP – кількість  $\beta$ -барелів

Для встановлення локалізації гіпотетичних протеїнів у клітині використовували програми PSORTb та CELLO. Треба відмітити, що позаклітинна локалізація білків співпала в обох випадках тільки для протеїну MMS\_A0890, ще сім послідовностей розпізнані як секреторні сервером CELLO та не визначені алгоритмом PSORTb. Тому обрані послідовності додатково аналізували щодо вмісту трансмембранних  $\alpha$ -спіральных ділянок та  $\beta$ -барелів. Їх наявність у грам негативних бактеріях вказує на високу ймовірність розташування цих білків на зовнішній мембрані [18]. Загалом передбачено наявність цих регіонів у 18 послідовностях, одна з яких (MMS\_A0694) містила  $\alpha$ -спіральну ділянку та  $\beta$ -барель одночасно.

У декількох послідовностях обраних протеїнів початок N-кінцевого регіону (до 35 позиції) має у своєму складі цистеїн, до якого приєднуються жирні кислоти, а тому ці білки, ймовірно, є попередниками ліпопротеїнів. Важливим етапом досліджень було проведення пошуку гомологів цих протеїнів в штамі PG1. Згідно літературних даних декілька протеїнів цього штаму вже були вивчені за допомогою серологічних методів досліджень [19]. Серед них треба відмітити варіабельні поверхневі ліпопротеїни MSC\_0117 (гомолог протеїну MMS\_A0133), MSC\_574 (MMS\_A0627), MSC\_0711 (MMS\_A0780) та MSC\_0816 (MMS\_A0889). Ураховуючи усе вищевикладене, можна дійти висновку, що серед розглянутих послідовностей протеїнів з *MmmSc* найбільший відсоток ймовірності передбачення секреторних протеїнів мають протеїни MMS\_A0380, MMS\_A0570, MMS\_A0890, MMS\_A1084 та MMS\_A1088.

На наступному етапі досліджень послідовності протеїнів аналізували щодо наявності потенційних В-клітинних епітопів за допомогою бази даних BCIPEP [14, 15]. Відбирали ті послідовності, для яких порогова величина була не менше 0,8. Отримані результати показали наявність В-клітинних епітопів у складі обраних послідовностей (табл. 2).

**Таблиця 2** – Передбачення В-клітинних епітопів у послідовностях протеїнів MMS\_A0380, MMS\_A0570, MMS\_A0890, MMS\_A1084 та MMS\_A1088

Протеїн штаму Gladysdale	Послідовність В-клітинних епітопів	Начальна позиція епітопу в білку
MMS_A0380	IEPIIKRNEITHELKI	75
MMS_A0570	KVSNINANYAENDNE	26
MMS_A0890	DKLIEIGYYWDSHDRQ	49
	KDENQTTKTSNAIKDK	352
MMS_A1084	SKKIQAFLHNDVFYTS	52
MMS_A1088	TTLWTNYISKQNNANF	19

Для MMS\_A0570 та MMS\_A1084 передбачено N-кінцеве розташування епітопу, для MMS\_A0380 – С-кінцеве та для MMS\_A1084 – усередині. Спрогнозовано наявність у протеїнів MMS\_A0890 двох епітопів, розташованих з обох кінців. Визначення локалізації цих структур має значення для подальших досліджень, а саме для клонування відповідних ділянок генів у експресійні вектори та отримання рекомбінантних протеїнів.

Таким чином, проведений комплексний теоретичний аналіз дозволив з високою ступеню ймовірності віднести протеїни MMS\_A0380, MMS\_A0570, MMS\_A0890, MMS\_A1084 та MMS\_A1088 до класу секреторних протеїнів, які мають важливе значення під час імунної відповіді на потрапляння *MmmSc* в сприятливий організм.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** Комплексний теоретичний аналіз дозволив знайти серед 1095 відкритих рамок читування *MmmSc* штаму Gladysdale п'ять ймовірних, які з високим ступенем ймовірності кодують секреторні протеїни. Результати цих досліджень можуть бути використані для подальших робіт у напрямку створення високоспецифічних діагностичних тест-систем та ефективних вакцинних препаратів проти контагіозної плевропневмонії ВРХ.

#### Список літератури

1. Analysis of the immunoproteome of *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* small colony type reveals immunogenic homologues to other known virulence traits in related *Mycoplasma* species [Text]/ Jores J, Meens J, Buettner FF, Linz B, Naessens J//Vet Immunol. Immunopathol. – 2009. –Vol. 131. –P. 238–245.
2. Pilo, P. Molecular mechanisms of pathogenicity of *Mycoplasma mycoides subsp. mycoidesSC* [Text]/ P. Pilo, J. Frey, E. M. Vilei// Vet.J.- 2006. – Vol.4–P.142-145.
3. Чевелева, Т. С. Сравнительный анализ генома вакцинных и эпизоотических штаммов возбудителя контагиозной плевропневмонии крупного рогатого скота [Текст]: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. вет. наук: 16.00.03 / Т.С. Чевелева. - Покров, 1998. - 25 с.
4. Phage display-based identification and potential diagnostic application of novel antigens from *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* small colony type [Text]/ S. Naseem, J. Meens, J. Jores, M. Heller, S. Dubel, M. Hust, and G. F. Gerlach// Vet. Microbiol. – 2010. – Vol. 142. – P.285–292.
5. 5.. Protective effect of vaccination with culture supernate of *M. hyopneumoniae* against experimental infection in pigs [Text]/ M. Okada , T. Asai, M. Ono, T. Sakano, and S. Sato// J.Vet.Med.B Infect.Dis.Vet.Public Health. – 2000 – Vol. 47 – P.527-533.
6. Complete genome sequences of *Mycoplasma leachii* strain PG50T and the pathogenic *Mycoplasma mycoidessubsp. mycoides* small colony biotype strain Gladysdale /Wise KS, Calcutt MJ, Foecking MF, Madupu R, DeBoy RT. et al. [Text] – J. Bacteriol. – 2012. – Vol.194 – P.4448–4449.
7. Prediction of lipoprotein signal peptides in Gram-negative bacteria [Text]/ A. S. Juncker, H. Willenbrock, G. von Heijne, H. Nielsen, S. Brunak and A. Krogh// Protein Sci. – 2003. – Vol. 12(8):1652-62,
8. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions [Text]/ T. N. Petersen, S. Brunak, Gunnar von Heijne, H. Nielsen// Nature Methods – 2011. – Vol. 8.–P.785-786.
9. Predicting subcellular localization of proteins based on their N-terminal amino acid sequence /O. Emanuelsson, H. Nielsen, S. Brunak and Gunnar von Heijne// J. Mol. Biol. – 2000. –Vol. 300 – P.1005-1016.
10. Yu, N.Y. PSORTb 3.0: improved protein subcellular localization prediction with refined localization subcategories and predictive capabilities for all prokaryotes[Text]/ N.Y. Yu, Wagner J.R., Laird M.R. //Bioinformatics – 2010.–Vol.26 (13). – P.1608–1615.
11. Yu, C.S. Prediction of protein subcellular localization [Text] / C.S. Yu, Y.C. Chen, C.H. Lu //Proteins: Structure, Function and Bioinformatics – 2006.–Vol.64 (3) – P.643–651.
12. Predicting transmembrane protein topology with a hidden Markov model: application to complete genomes [Text] / Krogh A, Larsson B, von Heijne G, Sonnhammer EL// J MolBiol – 2001. – Vol.305. – P.567–580
13. Berven, F.S. BOMP: a program to predict integral  $\beta$ -barrel outer membrane proteins encoded within genomes of Gram-negative bacteria [Text] / Berven FS, Flikka K, Jensen HB, Eidhammer I.// Nucleic acids research. – 2004. – Vol.32.– P.394-399.
14. Saha, S. Prediction of continuous B-cell epitopes in an antigen using recurrent neural network [Text]/S. Saha, G. P. Raghava//Proteins. – 2006. – Vol.65. – P.40-48.
15. El Manzalawy, Y. Predicting linear B-cell epitopes using string kernels [Text] / Y.El Manzalawy, D. Dobbs, and V. Honavar. //J.Mol.Recognit. – 2008. – Vol. 21 – P.243-255.
16. Basic local alignment search tool [Text] / Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. // J. Mol. Biol. – 1990. – Vol. 215. – P. 403–410.
17. The CLUSTALW windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [Text] / Thomson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F., Higgins D.G. // Nucl. Acids Res. – 1997. – Vol. 25. –P. 4876-4882.
18. Vogt, J. The structure of the outer membrane protein Ompx from *Escherichia coli* reveals mechanisms of virulent [Text]/ J. Vogt, G.E. Schulz //Structure. – 1999. – Vol.7. – 1301–1309.
19. Multiplex screening of surface proteins from *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* small colony for an antigen cocktail enzyme-linked immunosorbent assay [Text] / Neiman M., Hamsten C., Schwenk J. M., Bölske G., Persson A.// Clin Vaccine Immunol. – 2009. –Vol. 16. – P.1665–1674.

### IN SILICO ANALYSIS OF SECRETED PROTEINS FROM CONTAGIOUS BOVINE PLEUROPNEUMONIA AGENT

**Bolotin V.I.**

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkov

**Objective.** The goal of this work was to carry out the bioinformatics analysis of *Mycoplasma mycoides subsp mycoides* small colony (*MmmSc*) genome using reference strain Gladysdale with propose of searching the genes that code potential secreted proteins.

***Materials and Methods.** We used algorithms LipoP 1.0, SignalP-4.0, TargetP, PSORTb, Cello, TMHMM and BOMP. Sequence of B-cell epitopes were predicted by the algorithm ABCpred or BCPREDS. Server modules BLASTX and CLASTALW were used for the searching of homologues proteins.*

***Results.** As the first step of the work it was aimed to the analyzing the complete genome of reference strain MmmSc Gladysdale. It consisted in finding open reading frames and selecting the corresponding amino acid sequences. In total 1095 were used. The sequences were selected by the presence of lipobox and signal peptides that could indicate their transmembrane localization. Among these sequences it was conducted by the absence of  $\alpha$ - helices and  $\beta$ - barrels, which is typical for membrane lipoproteins. Additionally, prediction algorithms were used protein localization in the cell, making it possible in a complex with other proteins results select five of them. In sequences of these proteins B-cell epitopes localization were predicted.*

***Conclusions.** A comprehensive theoretical analysis allowed us to find among the 1095 ORFs MmmSc strains Gladysdale five that with high probability encode secretory proteins. The results of these studies can be used for subsequent work towards a highly specific diagnostic test systems and effective vaccines against contagious bovine pleuropneumonia.*

**Keywords:** contagious bovine pleuropneumonia, secreted proteins, bioinformatics

**УДК 619:578:616.98:578.831**

### **ГЕНОТИПУВАННЯ ПЕСТІВІРУСІВ ТВАРИН НА ОСНОВІ ФІЛОГЕНЕТИЧНОГО АНАЛІЗУ**

**Герілович А.П., Лиманська О.Ю., Горайчук І.В., Ареф'єв В.Л., Гема І.О.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,  
м. Харків, e-mail: antger@vet.kharkov.ua

*Вивчено філогенетичні зв'язки вірусів класичної чуми свиней різних генотипів, що циркулюють у різних географічних регіонах. Продемонстрована перспективність проведення філогенетичного аналізу для генотипування та молекулярного маркування мікроорганізмів.*

**Ключові слова:** вірус класичної чуми свиней, генотип, філогенетичний аналіз.

Найчастішою подією молекулярної еволюції біомакромолекул, ДНК та РНК, є нуклеотидні заміни, які накопичуються під час незалежної еволюції послідовностей, що дивергують від спільної батьківської форми. Середня кількість замін на один нуклеотидний сайт для двох гомологічних послідовностей біологічних молекул двох видів організмів визначає еволюційну відстань. Встановлення еволюційної відстані полягає у знаходженні різниці на рівні генетичного матеріалу та її взаємозв'язку між часом еволюції. Саме знання цієї залежності в подальшому робить можливим побудову філогенетичних дерев, визначення часу дивергенції таксонів на основі порівняння первинних структур генетичних біомакромолекул, реконструкцію історії біот, дослідження порівняно недавніх змін, вивчення еволюції генів у просторі та часі [1, 2]. У найпростішому випадку, коли заміни рідкісні (або час еволюції невеликий), можна припустити, що число замін у парі послідовностей прямо пропорційно часу їх еволюції. При цьому відстань між двома послідовностями відображає подвійний час, що минув з моменту дивергенції (за умови, що швидкості накопичення замін у двох послідовностях були однакові). Визначення еволюційних відстаней можна здійснити за допомогою низки методів:

- однопараметричного методу Джукса і Кантора, який використовує вірогідність заміни одного нуклеотиду на інший;
- методу Тадзими-Ней, який припускає рівність швидкостей заміщення серед сайтів і між заміщеннями за типом транзицій та трансверсій;
- двопараметричного методу Кімури, у якому вірогідності транзицій не дорівнюють вірогідностям трансверсій;
- трипараметричного методу Тамури, який враховує не тільки різну частоту транзицій та трансверсій, але й вміст гуаніну та цитозину.

Наведені методи ґрунтуються на припущенні, що швидкості фіксації нуклеотидних замін у ході молекулярної еволюції даного сімейства гомологічних нуклеотидних послідовностей є рівномірними. Топологія побудованих з урахуванням еволюційних відстаней філогенетичних дерев дозволяє отримати достовірну інформацію, зокрема, про генотипову характеристику збудника, спектр ізолятів інфекційного агента, що циркулює на певній території [3, 4].

Зазначені процеси значно ускладнюють здійснення генотипування збудників інфекційних захворювань та, отже, потребують ретельного дослідження з боку фахівців ветеринарної медицини та молекулярної біології, що є важливим для розвитку галузі тваринництва України та розробки системи прогнозування та всебічного контролю спалахів інфекційних, зокрема вірусних, захворювань сільськогосподарських тварин.

**Метою** даної роботи є вивчення філогенетичних зв'язків основних пестівірусів тварин.