

蘇我入鹿の皇子・高麗王・高麗王

13–17, August, 2018 Ulaanbaatar, Mongolia

PROCEEDINGS of the 7th international conference on the genus *Marmota* “Marmots of the Old and New World” 13-17 August, 2018. Ulaanbaatar Mongolia. Narud Design LLC. 336 pp.

Editors: Adiya Yansanjav, Oleg Brandler, Lkhagvasuren Badamjav, Gantulga Gankhuyag, Hannah Davie, Batdorj Sodnompil, Undrakhbayar Enkhbat

Printing layout: Ts.Naranbat

Conference organizers:

Institute of General and Experimental Biology, Mongolian Academy of Sciences

Ministry of Nature, Environment, and Tourism of Mongolia

Ministry of Education, Culture, Science, and Sports of Mongolia

Commission on Marmot Investigation of the Theriological Society at the Russian Academy of Sciences

Mammalian Ecological Society of Mongolia

Joint Russian–Mongolian Complex Biological Expedition of Russian Academy of Sciences and Academy of Sciences of Mongolia

Mammalian Ecology Laboratory, Institute of General & Experimental Biology, MAS

Scientific and Organizing Committees:

Scientific Committee:

Prof. Kenneth B. Armitage, University of Kansas, USA

Dr. Adiya Yansanjav, Institute of General and Experimental Biology, MAS, Mongolia

Prof. Walter Arnold, University of Wien, Austria

Prof. B. Avid, Scientific Secretary General, Mongolian Academy of Sciences, Mongolia

Prof. Daniel T. Blumstein, University of California, UCLA, USA

Dr. Oleg Brandler, N.K. Koltzov Institute of Developmental Biology, RAS & Commission on Marmot Investigation of Russian Theriological Society, Russia

Dr. Daniela Lenti Boero, Université de la Vallée d’Aoste, Italy

Prof. Alexander Nikol’skii, Peoples’ Friendship University of Russia, Moscow, Russia

Dr. G. Nyamdavaa, Ministry of Environment, and Tourism of Mongolia

Dr. D. Odgerel, Ministry of Education, Culture, Science, and Sports of Mongolia

Dr. Sergei Pole, Kazakhstan

Prof. Viktor Tokarskii, V.N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine

Organizing Committee:

Adiya Yansanjav – Co-Chair, IGEB, MAS (adiya_ya@yahoo.com)

Oleg Brandler – Co-Chair, IDB, RAS (rusmarmot@yandex.ru)

Lkhagvasuren Badamjav – Conference Secretary, IGEB, MAS (lkhagvazeer@gmail.com)

Gantulga Gankhuyag – Assistant, IGEB, MAS (gantulgasage@gmail.com)



COMPLETE GENOME SEQUENCING OF MONGOLIAN MARMOT HEPADNAVIRUS

Oyunbileg J¹, Tsatsral Kh¹, Altantuya L¹, Nyamadawa P²

¹ National Center for Public Health

² Mongolian Academy of Sciences, Mongolian Academy of Medical Sciences

Background

Previously proposed the animal models for studies of immune-pathogenesis of hepatitis B virus infection, particularly the mechanisms of hepatocellular carcinoma: North American Woodchuck (Summers, et al. 1978) Tree squirrels (Feitelson, M.A et al. 1980). Therefore, we thought that we can find similar virus in population of Mongolian marmots. On the other hand, sequencing of the latent virus in the organism allows to make conclusion on origin and evolutionary pathway of host organism.

Goal

To detect the hepadnavirus and to sequence complete genome, to propose new animal model for studies of immune-pathogenesis of hepadnavirus infection

Objectives

Detecting of hepadnavirus in the population of Mongolian marmots (*Marmota sibirica*, Radde, 1862)

Sequencing of complete genome of marmot hepadnavirus

To propose the new animal model of immune-pathogenesis studies of hepadnavirus infection

Materials and methods

In total, we collected 980 samples of blood serum and liver samples. We used ELISA kits for detection of HBV and WHV markers. We performed PCR using the conserved primers of hepadnavirus and complete genome was sequenced.

Results

We detected anti-WHc in 25.3%, anti-WHs in 8.9% of Mongolian marmot population. These markers were different in Khentii, East Gobi, and Gobi-Altay Regions. We sequenced complete genome of Mongolian marmot hepadnavirus by amplification of genome by PCR, then sequencing.



Comparison of nucleotide and amino acid sequences of MMHV and WHV

Gene regions	Number of nucleotide and amino acid		Differences in nucleotides		Differences in amino acids	
	Number	%	Number	%	Number	%
Gene "S" (Pre-sI+Pre-sII+s)	1296/432	1296/432	0	0	0	0
Gene "X"	426/142	402/134	5	1.24	4	2.98
Gene "C"	678/226	678/226	1	0.14	0	0
Gene "P"	2655/885	2655/885	11	0.41	7	0.79

Total length of MMHV was 3223 nucleotides. By comparing of MMHV genome regions to WHV was found that there were no nucleotide and amino acid differences in "S" region, there was 1.24% difference in nucleotide and 2.98% difference in amino acid sequences in "X" region, 0.14% difference in nucleotide, however no difference in amino acid sequence in "C" region, there was 0.41% in nucleotide, 0.79% difference in amino acid sequence in "P" region. "X" gene, which has a trans-activating role for the genome is shorter in 24 nucleotides, its product in 8 amino acids in the MMHV than the WHV, therefore virion numbers are very few 10^2 to 10^3 . MMHV genome sequence was the most conserved comparing to five published sequences of Woodchuck hepatitis viruses. In the example of human hepatitis B virus was shown "X" gene is getting longer by evolution development. Above mentioned data show that Mongolian marmot might be an ancestor species among the marmot family. 2 marmots were taken to animal house and infected by MMHV, and observed PCR detection, however no infection.

Conclusion

Mongolian marmot and MMHV are the new model for studies of immune-pathogenesis of hepadnavirus infection.

MMHV genome has a most conserved sequence and "X" gene, which has a trans-activating role for the genome is shorter in 24 nucleotides, its product in 8 amino acids than the WHV, therefore its host the Mongolian marmot is the most ancestor of marmot family.



МОНГОЛ ТАРВАГАНЫ ХЕПАДНАВИРҮСИЙН ГЕНОМЫН
БҮРЭН ДАРААЛАЛ

МОНГОЛ ТАРВАГАНЫ ХЕПАДНАВИРҮСИЙН ГЕНОМЫН БҮРЭН ДАРААЛАЛ

Ж.Оюунбилэг¹, Х.Цацрал¹, Л.Алтантуяа¹, П.Нямдаваа²

¹ Нийгмийн эрүүл мэндийн үндэсний төв

² Монголын анагаах ухааны академи

Хепаднавирүсийн халдварын эмгэг жам, нэн ялангуяа Элэгний анхдагч өмөн (ЭАӨ) үүсэх механизмыг судлах Хойд Америкийн ойн тарваганы вирүс (Summers, J et al. 1978), ойн хэрэмний вирүс (Feitelson, M.A et al. 1980) зэрэг сүүн тэжээлтний загварыг гарган авсан нь бидэнд монгол тарваганы популяцид хепаднавирүс илрүүлэх шинжилгээ хийх сэдлийг төрүүлсэн юм. Нөгөө талаас тухай биемахбодид бугшдаг вирүсийн генийн дарааллыг тогтоох нь эзэн биемахбодийн гарал үүсэл, эволюци хөгжлийн талаар дүгнэлт хийх бололцоо олгох юм.

Зорилго. Монгол тарваганы популяцид (*Marmota sibirica*, Radde, 1862) Хепаднавирүс илрүүлж, түүний геномын бүтэц, бүрэн дарааллыг тодорхойлж, уг вирүсийн халдварын эмгэг жамыг судлах амьтны загвар гарган авах

Зорилт. Монгол тарваганы популяцид хепаднавирүс илрүүлэх, Хепаднавирүсийн геномын бүрэн дарааллыг тодорхойлох, Хепаднавирүсийн халдварын эмгэг жамыг судлах вирүс-амьтны загвар гарган авах

Материал, аргазүй. Хэнтий, Говь-Алтай, Төв ба Дундговь аймгийн нутгаас нийт 980 тарваганы цусны ийлдэс, элэгний дээж цуглуулсан. Хепаднавирүс илрүүлэхийн тулд ХВВ-ийн ба Америкийн ойн тарваганы гадаргын эсрэгтөрөгч ба эсрэгбие илрүүлэх ФХУ-ын цомог, хепаднавирүсийн нийтлэг дараалалд үндэслэн праймер нийлэгжүүлж, ПГУ-аар геномын дарааллыг олшруулан бүтэн геномын секвенс хийв.

Үр дүн. Монгол тарваганы популяцид хепаднавирүсийн (МТХВ) цөмийн эсрэгтөрөгчийн эсрэгбие дунджаар 25.3%, гадаргын эсрэгтөрөгчийн эсрэгбие 8.9% байв. Эдгээр маркерууд Хэнтий, Дундговь, Говь-Алтайн тарваганы сүрэгт өөр, өөр байлаа. Хепаднавирүсийн нийтлэг праймер ашиглан ПГУ-аар геномын дарааллыг олшруулан секвенс хийхэд Монгол тарваганы хепаднавирүсийн геномын урт 3223 нуклеотид байв. 2 тарвагыг гаршуулж МТХВ-ээр халдаахад ПГУ-аар иэлрч байсан боловч, тарвага халдвар аваагүй.

МТХВ ба ОТХВ-ийн нуклеотидын ба аминхүчлийн ялгааг харьцуулсан дүн

Ген	Нуклеотид ба аминхүчлийн хэмжээ		Нуклеотидуудын ялгаа		Аминхүчлүүдийн ялгаа	
	ОТХВ	МТХВ	Тоо	Хувь	Тоо	Хувь
“S” ген	1296/432	1296/432	0	0	0	0
“X” ген	426/142	402/134	5	1.24	4	2.98
“C” ген	678/226	678/226	1	0.14	0	0
“P” ген	2655/885	2655/885	11	0.41	7	0.79

МТХВ-ийн геномын дарааллыг Хойд Америкийн ойн тарваганы (ОТХВ) геномтой харьцуулахад “S” генод нуклеотидын ба аминхүчлийн дарааллын ялгаа байхгүй, “X” генод нуклеотидын дараалалд 1.24%, аминхүчлийн дараалалд 2.98%-ийн, “C” генод нуклеотидын дараалалд 0.14%-ийн ялгаатай боловч аминхүчлийн дараалалд ялгаа байхгүй, “P” генод нуклеотидын түвшинд 0.41%, аминхүчлийн дараалалд 0.79%-ийн ялгаатай байв. Монгол тарваганы популяцид хепаднавирүсийн вирионы тоо маш цөөн буюу 10^2 - 10^3 байв.

ОТХВ-ийн геномын хэвлэгдсэн 5 дараалалтай харьцуулахад МТХВ хамгийн өвөг, уламжлагдсан дараалалтай байв. Мөн хүний ХВВ-ийн жишээн дээр “X” ген эволюци хөгжлийн явцад уртасч буйг баталсан бөгөөд энэ нь МТХВ-ийн геномд 24 нуклеотидээр, түүний бүтээгдэхүүн нь 8 аминхүчлээр богино байв. Эдгээр нь МТХВ-ийн эзэн биемахбодь болох Монгол тарвага нь бусад тарваганы өвөг болохыг үзүүлж байна.

Дүгнэлт

МТХВ нь хепаднавирүсийн халдварын эмгэгжамыг судлах шинэ загвар болж байна. МТХВ-ийн геном нь хамгийн уламжлагдсан дараалалтай байгаа ба идэвхжүүлэх үүрэг бүхий “X” ген нь 24 нуклеотид, бүтээгдэхүүн нь 8 аминхүчлээр богино байгаа тул Монгол тарвага нь өвөг шинжтэй гэсэн дүгнэлтийг хийх бололцоо олгож байна.