

浙江省1999—2010年乙型流感病毒血凝素和神经氨酸酶基因变化特征分析

茅海燕 周敏 张严峻 陈寅 徐昌平 李榛 严菊英 卢亦愚

【摘要】 目的 分析1999—2010年浙江省乙型流感病毒主要抗原基因血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA)的分子变异特征。方法 采集浙江省流感暴发疫情和哨点监测医院的流感样患者呼吸道标本,荧光定量RT-PCR快速检测和病毒分离,选取乙型流感病毒分离代表株进行HA和NA基因测序,采用生物信息学软件分析变异和进化。结果 共分析浙江省乙型流感病毒分离株34株,其中Victoria系20株,Yamagata系14株;1999—2010年间Victoria系毒株的HA₁基因变异率4.5%,Yamagata系毒株为3.4%;2004年后分离的Victoria系毒株均为基因重配株,HA属于Victoria系,而NA属于Yamagata系;2010年新型甲型H1N1流感流行高峰过后,浙江省仍以乙型流感病毒流行为主,分离株与2009—2010年流感疫苗株B/Brisbane/60/2008接近,与往年乙型流感毒株相比HA和NA发生多个氨基酸位点变异。结论 1999—2010年浙江省乙型流感病毒流行株发生明显变异,基因重配和抗原漂移是病毒发生变异的主要机制。

【关键词】 乙型流感病毒;血凝素;神经氨酸酶;变异

Genetic variation of the hemagglutinin and neuraminidase of influenza B viruses isolated in Zhejiang province during 1999–2010 MAO Hai-yan, ZHOU Min, ZHANG Yan-jun, CHEN Yin, XU Chang-ping, LI Zhen, YAN Ju-ying, LU Yi-yu. Virus Institute, Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou 310051, China

Corresponding author: LU Yi-yu, Email: luyiyuzjh@yahoo.com.cn

This work was supported by a grant from the Zhejiang Provincial Natural Science Foundation (No. Y2080987).

【Abstract】 **Objective** To Characterize the genetic diversity of hemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA) of influenza B viruses isolated in Zhejiang province during 1999–2010. **Methods** Respiratory specimens were collected from patients with flu-like syndrome during the influenza outbreaks or from the hospitals which carrying out influenza surveillance project in Zhejiang province. Samples were detected by real-time RT-PCR and isolated for influenza virus. HA₁ and NA genes of influenza B virus isolates were amplified and sequenced. Phylogenetic comparison and genetic diversity analysis were performed using the bioinformation software. **Results** A total of 34 influenza B viruses were evolved in this study including Victoria-like and Yamagata-like strains according to the results of the HI test. The mutation rate of Victoria-like HA₁ gene was 4.5% and Yamagata-like HA₁ gene was 3.4%, respectively. The Victoria-like influenza B isolates had appeared to be all re-assortants having a Victoria lineage HA and Yamagata lineage NA since 2004. The predominant type of influenza virus isolates in 2010 was also influenza B virus after the H1N1 flu pandemic in Zhejiang province. The isolated strains were antigenically and genetically similar to B/Brisbane/60/2008—the vaccine strain proposed for 2009–2010. Many differences of HA₁ and NA amino acids existed in the current isolates when compared to previous influenza B strains. **Conclusion** Significant diversity was generated among influenza B virus isolated from 1999 to 2010 in Zhejiang province. Genetic re-assortment and antigenic drift seemed the main evolutionary mechanism on influenza B virus.

【Key words】 Influenza B virus; Hemagglutinin; Neuraminidase; Variation

乙型流感病毒可分为Victoria与Yamagata两个

系别,分别以B/Victoria/2/87和B/Yamagata/16/88为代表株^[1]。浙江省最近10年出现甲₁、甲₃和乙型流感交替流行的特点,乙型流感曾在2006年上半年以及2009年初出现较强的流行高峰,发生多起乙型流感引起的聚集性疫情^[2,3]。根据中国流感监测信息

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.04.012

基金项目:浙江省自然科学基金(Y2080987)

作者单位:310051 杭州,浙江省疾病预防控制中心病毒所

通信作者:卢亦愚, Email: luyiyuzjh@yahoo.com.cn

系统数据显示,浙江省 2010 年 1—7 月新型甲型 H1N1 流感流行高峰逐渐回落,乙型流感又成为最主要流感流行株。为明确最近 10 年浙江省乙型流感流行株的主要分子进化特征和基因变异趋势,对 1999—2010 年间浙江省分离的乙型流感流行株主要表面抗原基因-血凝素(hemagglutinin, HA)和神经氨酸酶(neuraminidase, NA)基因进行分子变异特性研究。

材料与方法

1. 标本和病毒株来源:采集各年浙江省不同地区流感暴发疫情和国家流感哨点监测医院流感样病例咽拭子或含漱液标本,4 ℃运送至实验室后即刻进行核酸检测和病毒分离,标本均-80 ℃保存。1999 和 2001 年病毒株为本实验室早期分离,在 MDCK 细胞上增殖后备用。共有 34 株乙型流感分离株用于本研究(表 1)。

2. 标本核酸检测:取标本 200 μl,利用 Qiagen RNeasy mini 试剂盒提取病毒 RNA 后,根据本实验室建立的 TaqMan 探针荧光定量 RT-PCR 方法进行甲₁、甲₂及乙型流感病毒核酸检测^[4-6]。

3. 病毒分离与定型:流感病毒核酸检测阳性标本经抗生素处理后,接种于长成单层的 MDCK 细胞上,逐日观察细胞病变,共观察 7 d,阴性者盲传一代,细胞病变完全后收集培养物上清,用血凝试验确定阳性病变,并用血凝抑制试验(HI 试验)对阳性分离物进行型别鉴定,试验所用的标准血清和标准抗

原由国家流感中心提供。

4. HA 与 NA 基因序列扩增与测序:选取 1999—2010 年乙型流感病毒分离株 34 株提取病毒 RNA 后,用罗氏公司 Titan™ one step RT-PCR System 试剂盒扩增 HA₁和 NA 全基因序列。HA₁引物序列为: B_{HA}+2: 5'-GCA GAA GCA GAG CAT TTT CTA ATA TCC-3'和 B_{HA}-1160: 5'-TGC CAA CCT GCA ATC ATT CCT TCC -3'; NA 引物序列为: B_{NA}+3: 5'-GAA CAA TGC TAC CTT CAA C-3'和 B_{NA}-1422: 5'-CAA CCA TTC CTC CAT TAC AG-3'。RT-PCR 反应体系参照试剂盒说明书进行设置,反应条件 50 ℃ 30 min, 94 ℃ 2 min 反转录后, 94 ℃ 30 s, 52 ℃ 30 s, 68 ℃ 2 min, 共 35 个循环,然后再 68 ℃ 10 min。RT-PCR 反应在德国 Eppendorf PCR 仪上进行。PCR 阳性产物进行基因测序,测序反应委托上海 Invitrogen 公司测序部完成。

5. HA 与 NA 进化分析:测序结果用 DNASTar 软件 seqman 模块进行序列拼接后,用 Bioedit 软件分析核酸和氨基酸序列联配,并用 Mega 软件 NJ 法构建基因进化树,以 B/Lee/40 病毒株的 HA 和 NA 为基因进化树树根。除本实验测序数据以外的其他基因序列以及历年流感疫苗株序列均从美国 GenBank 流感数据库中下载。

结 果

1. HA₁基因变异和进化树分析:1999—2010 年浙江省乙型流感分离株 HA₁基因进化树见图 1。34

表 1 1999—2010 年浙江省 34 株乙型流感分离株

序号	病毒株	分离地区	HA 型别	NA 型别	序号	病毒株	分离地区	HA 型别	NA 型别
1	B/Zhejiang/31/1999	杭州	Y	Y	18	B/Zhejiang/316/2007	宁波	V	Y
2	B/Zhejiang/12/2001	杭州	V	V	19	B/Zhejiang/599/2007	杭州	Y	Y
3	B/Zhejiang/602/2004	宁波	V	Y	20	B/Zhejiang/752/2007	温州	Y	Y
4	B/Zhejiang/1163/2004	湖州	Y	Y	21	B/Zhejiang/1078/2007	宁波	Y	Y
5	B/Zhejiang/5/2005	温州	Y	Y	22	B/Zhejiang/54/2008	衢州	Y	Y
6	B/Zhejiang/35/2005	杭州	Y	Y	23	B/Zhejiang/93/2008	宁波	Y	Y
7	B/Zhejiang/55/2005	杭州	Y	Y	24	B/Zhejiang/223/2008	舟山	V	Y
8	B/Zhejiang/65/2005	金华	Y	Y	25	B/Zhejiang/75/2009	金华	V	Y
9	B/Zhejiang/166/2005	温州	V	Y	26	B/Zhejiang/131/2009	台州	V	Y
10	B/Zhejiang/1568/2005	丽水	V	Y	27	B/Zhejiang/148/2009	嘉兴	V	Y
11	B/Zhejiang/1/2006	嘉兴	V	Y	28	B/Zhejiang/151/2009	金华	V	Y
12	B/Zhejiang/498/2006	台州	V	Y	29	B/Zhejiang/292/2009	湖州	Y	Y
13	B/Zhejiang/541/2006	丽水	V	Y	30	B/Zhejiang/322/2010	绍兴	Y	Y
14	B/Zhejiang/700/2006	丽水	V	Y	31	B/Zhejiang/1194/2010	衢州	V	Y
15	B/Zhejiang/713/2006	温州	V	Y	32	B/Zhejiang/570/2010	绍兴	Y	Y
16	B/Zhejiang/815/2006	绍兴	V	Y	33	B/Zhejiang/1205/2010	湖州	V	Y
17	B/Zhejiang/820/2006	温州	V	Y	34	B/Zhejiang/890/2010	温州	V	Y

注:Y 代表乙型流感 Yamagata 系, V 代表 Victoria 系

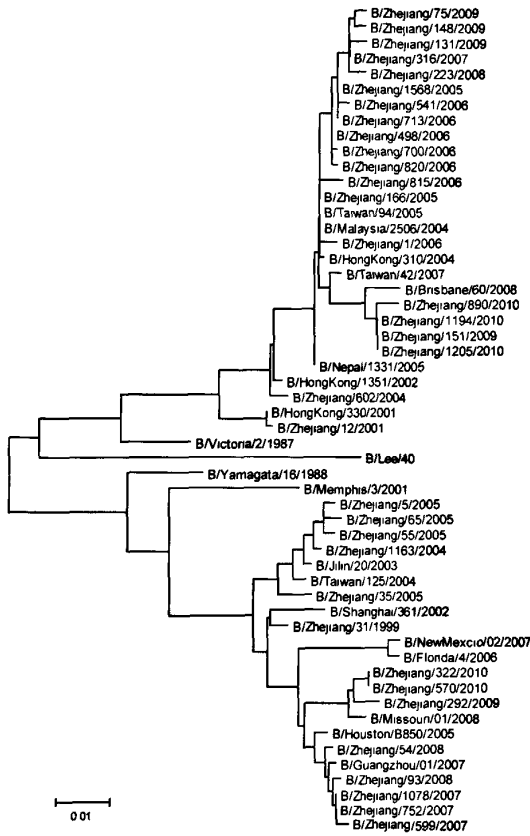


图 1 1999—2010 年浙江省乙型流感病毒分离株 HA₁ 进化树
株分离株中, 20 株属于 Victoria 系分支, 14 株属于 Yamagata 分支, 与 HI 鉴定结果完全一致。1999—2010 年 Victoria 系毒株间的 HA₁ 基因最大变异率达

4.5%, Yamagata 系毒株为 3.4%。Victoria 系分离株随时间推移逐年发生变异, 同时相同年份病毒株也存在一定变异, 其中 B/Zhejiang/1/2006 与同年其他分离株存在一定差异, 在进化分支上更接近于往年的病毒株。2009 年同一年份的分离株也呈现较大变异, 分处于 2 个距离较远的进化分支上, 大多数分离株与前几年接近, 而 B/Zhejiang/151/2009 却与 2010 年分离株接近, 处于另一独立分支, 与 2010 年 WHO 疫苗株接近。在 Yamagata 系分支中, 1999 年分离株由于年代较远, 位于一独立的小分支上, 2004—2010 年分离株聚集成 2 个明显分支, 2004—2005 年分离株位于同一分支, 与 2007—2010 年病毒株所属进化支存在明显差异。

2. HA₁ 氨基酸变异分析: 1999—2010 年 Victoria 系和 Yamagata 系乙型流感分离株 HA₁ 氨基酸最大变异率分别为 3.8% 和 4.3%, Victoria 系和 Yamagata 系乙型流感 HA₁ 发生变异的主要氨基酸位点分别见表 2、3 (氨基酸位点分别参照 B/Victoria/2/1987 和 B/Yamagata/16/1988)。Victoria 系病毒株 HA₁ 与早期分离株相比, 发生重要变异的氨基酸位点有 7 个 (48、75、80、129、172、197 和 202), 分别位于 HA 抗原决定簇 B、C 和 E 区, 其中 S197N 变异引起 HA 受体结合位点附近形成一个新的糖基化位点。2009 年分离株在氨基酸水平也存在明显差异。部分 2009 年病毒株由于抗原决定簇区 58、75、165、172 位发生变异, 而更接近于 2010 年分离株。这些病毒株与

表 2 2001—2010 年浙江省 Victoria 系乙型流感病毒 HA₁ 区氨基酸的主要变异位点

病毒株	48	58	75	80	116	121	129	146	164	165	172	197	202	279	289
B/Victoria/2/1987	K	L	T	K	H	T	T	V	D	N	P	S	V	R	L
B/HongKong/330/2001			N		R	N	K		E		S		A		
B/Zhejiang/12/2001			N		R	N	K		E		S		A		
B/HongKong/1351/2002			N				K				S	K	A		
B/Malaysia/2506/2004	E		N	R			N				S	N	A		
B/Zhejiang/602/2004			N				K				S	N	A		
B/Zhejiang/166/2005	E		N	R			N				S	N	A		
B/Zhejiang/498/2006	E		N	R			N				S	N	A		
B/Zhejiang/541/2006	E		N	R			N				S	N	A		
B/Zhejiang/815/2006	E		N	R			N				S	N	A		
B/Zhejiang/1/2006	E		N	R		A	N				S	N	A		
B/Zhejiang/316/2007	E		N	R			N				S	N	A		
B/Brisbane/60/2008	E		K	R			N	I		K		N	A		
B/Zhejiang/223/2008	E		N				N				S	N	A		
B/Zhejiang/131/2009	E		N	R			N				S	N	A	K	
B/Zhejiang/148/2009	E		N	R			N				S	N	A		
B/Zhejiang/151/2009	E	P	K	R			N			K		N	A		
B/Zhejiang/1194/2010	E	P	K	R			N			K		N	A		

注: 各病毒株空白处的氨基酸与 B/Victoria/2/1987 株相同

表 3 1999—2010 年浙江省 Yamagata 系乙型流感病毒 HA₁ 区氨基酸的主要变异位点

病毒株	40	48	108	125	126	129	146	150	166	180	197	203	233	252	256
B/Yamagata/16/1988	H	K	P	I	N	R	V	N	N	I	N	N	N	V	G
B/Zhejiang/31/1999		R				K	A	S		V	D	N	D		
B/Sichuan/379/1999						K	A	S			D	N	D		
B/Shanghai/361/2002		R			D	K	A	S			D	N	D		
B/Zhejiang/1163/2004	Y	R		V	D	N	A	S		V	N	N	A		R
B/Zhejiang/5/2005	Y	R		V	D	N	A	S		V	N	N	A		R
B/Zhejiang/55/2005	Y	R		V	D	N	A	S		V	N	N	A		R
B/Zhejiang/65/2005	Y	R		V	D	N	A	S		V	N	N	A		R
B/Florida/4/2006	Y	R			D	K	A	S			D	N	D	M	
B/Guangzhou/01/2007	Y		A		D	K	A	S			N	N	D	M	
B/Zhejiang/752/2007	Y		A		D	K	A	S			N	N	D	M	
B/Zhejiang/93/2008	Y		A		D	K	A	S			N	N	D	M	
B/Zhejiang/292/2009	Y	R			D	K	S	I	Y		N	S	D	M	
B/Zhejiang/322/2010	Y	R			D	K	A	I	Y		N	S	D	M	

注:各病毒株空白处的氨基酸与 B/Yamagata/16/1988 株相同

2009—2010 年疫苗株 B/Brisbane/60/2008 相比 HA₁ 区的只存在 1 个氨基酸位点的差异。

与早期分离株相比,近 10 年来 Yamagata 系 HA₁ 发生氨基酸变异的主要位点有 8 个(40、48、126、129、146、150、233、252),均位于 HA 的 4 个主要抗原表位上。2004—2005 年病毒株与 2007—2010 年相比存在 6 个显著氨基酸位点变异,即 V125I、N129K、V180I、A233D、V252M 和 R256G。另外 2009—2010 年 Yamagata 系病毒株与往年分离株及 2009 年疫苗株 B/Florida/4/2006 相比还在 150、166 和 203 位发生特征性变异。

3. NA 基因变异和进化树分析:1999—2010 年浙江省乙型流感分离株 NA 基因进化树见图 2。NA 进化树可分为 Victoria 系和 Yamagata 系 2 个主干,本研究包括的 34 株乙型流感分离株,除 B/Zhejiang/12/2001 的 NA 基因属于 Victoria 系以外,其他分离株的 NA 基因均属于 Yamagata 系分支,2004 年浙江省已出现 HA 和 NA 基因重配株(B/Zhejiang/602/2004),其 HA 来源于 Victoria 系,NA 则来源于 Yamagata 系,此后浙江省流行的 Victoria 系乙型流感病毒均为该类型的基因重配株。尽管同属于 Yamagata 系,重配株和经典 Yamagata 系的 NA 基因仍具有明显差异,分别位于 2 个不同的进化支上。2009 年分离的重配株 NA 基因由于存在较大变异,分属于 2 个分支,部分分离株与往年的病毒株接近,另一部分则与 2010 年相近。这与 HA₁ 分析结果一致。

4. NA 氨基酸变异分析:NA 基因编码框全长 1401 个核苷酸,编码 466 个氨基酸,近 10 年乙型流感分离株 NA 氨基酸变异率为 6.6%,发生变异的主要氨基酸位点见表 4。经典 Yamagata 系和重配株的

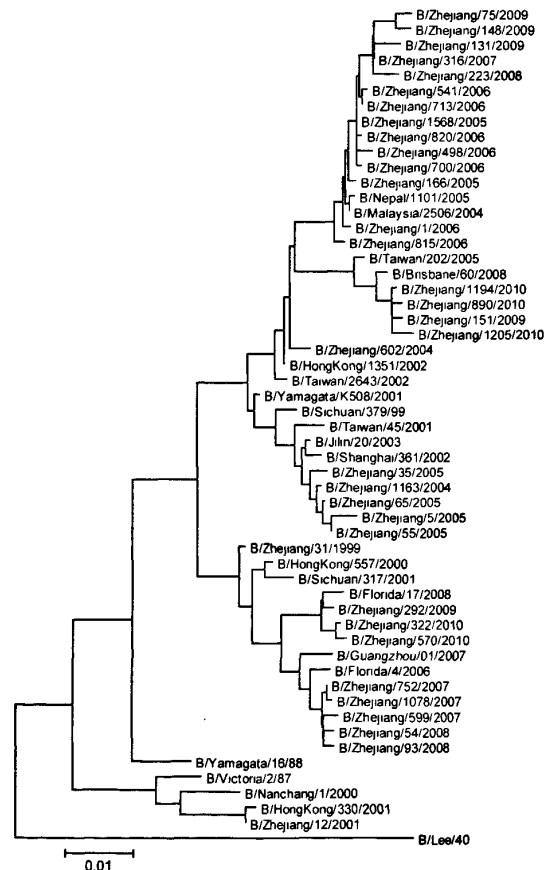


图 2 1999—2010 年浙江省乙型流感病毒分离株 NA 进化树 NA 氨基酸序列差异明显,这与核苷酸序列分析结果一致,此两类病毒株在 NA 蛋白的头部结构区存在 3 个特征性的氨基酸位点差异,分别为 E148G、S198N 和 T389A,这些位点均位于 NA 的抗原决定簇区,特别是 389 位点位于 NA 的高变区,与 NA 抗原性的改变密切相关。2004 年以后浙江省分离到的 Victoria

表4 1999—2010年浙江省乙型流感病毒NA氨基酸的主要变异位点

病毒株	41	42	51	125	148	198	204	220	235	244	271	320	342	358	375	389	404
B/Yamagata/16/1988	S	P	P	K	E	S	I	N	D	S	V	E	D	A	M	T	K
B/Shanghai/361/2002		T							N				N			I	E
B/Zhejiang/1163/2004		T							N				N				E
B/Zhejiang/5/2005		T							N				N				E
B/Zhejiang/31/1999		Q															E
B/Florida/4/2006		Q		T						P							E
B/Zhejiang/752/2007		Q		T						P							E
B/Zhejiang/93/2008		Q		T						P							E
B/Zhejiang/292/2009		R								P							E
B/Zhejiang/322/2010		R								P							E
B/Malaysia/2506/2004	P	S			G	N			N		I					A	E
B/Zhejiang/602/2004					G	N			N			K				A	E
B/Zhejiang/166/2005	P	S			G	N			N		I		G			A	E
B/Zhejiang/498/2006	P	S			G	N			N		I		G		K	A	E
B/Zhejiang/316/2007	P	S			G	N			N		I		G		K	A	E
B/Zhejiang/223/2008	P	S			G	N			N		I		G		K	A	E
B/Zhejiang/75/2009	P	S			G	N			N		I	K	G		K	A	E
B/Zhejiang/131/2009	P	S			G	N			N		I		G		K	A	E
B/Brisbane/60/2008				N	G	N	V	K	N			D		E		A	
B/Zhejiang/151/2009			S	N	G	N	V	K	N			D		E		A	
B/Zhejiang/1194/2010			S	N	G	N	V	K	N			D		E		A	
B/Zhejiang/1205/2010			S	N	G	N	V	K	N			D		E		A	

注：各病毒株空白处的氨基酸与B/Yamagata/16/1988株相同

系乙型流感毒株均为此类型,2009年该类型病毒株发生明显变异,部分与2009年之前分离株序列及疫苗株B/Malaysia/2506/2004序列相似;而另部分病毒株发生多个氨基酸位点的变异,且变异位点多位于NA头部结构区,而与2010年分离株和2009—2010年疫苗株B/Brisbane/60/2008相近。经典Yamagata系乙型流感毒株近10年来分离比例较低,无聚集性疫情发生,各年分离株与相应年份的疫苗株接近。

讨论

乙型流感病毒发生基因片段重配是病毒变异进化的主要机制之一,重配不仅发生在Victoria系和Yamagata系之间,也可发生在同一系别的不同亚系之间;不仅表面抗原HA和NA可发生重配,内部基因片段也可发生,从而导致乙型流感病毒抗原转变^[7,8]。2006年发生于浙江省的大规模乙型流感流行正是由该病毒的HA和NA基因重配株引起^[3]。此类病毒株最早报道是2002年在香港地区分离到,其在乙型流感分离株中的比例逐年提高^[9]。2004年浙江省已分离到该类病毒,但流行规模不大,到2006年上半年出现明显的流行高峰。当年浙江省分离的乙型流感重配株与2001年浙江省分离株B/Zhejiang/12/2001(Victoria系)和2002年香港分离的

重配参考株B/HongKong/1351/2002相比已发生明显的抗原漂移。由于基因重配导致的抗原转变,疫苗株与流行株不匹配,人群缺乏相应的免疫保护屏障,是2006年引起乙型流感高发的主要原因。2006年后此乙型流感重配株仍在乙型流感分离株中占主要比例,至今分离到的Victoria系病毒株均为此类型,此重配株取代了原先的Victoria系病毒株,是否意味着该重配株具有更强的选择优势,还需进一步对其毒力、复制能力和传播力研究分析^[10]。

2010年新型甲型(H1N1)流行高峰回落后,此乙型流感重配株又在浙江省乃至全国范围内成为流感主要流行株。与2006年分离株相比,2009—2010年分离株HA蛋白已发生4个位点的显著变异,L58P、N75K、N165K和S172P分别位于流感HA抗原决定簇C、E、A和B区,而与2009—2010年疫苗株B/Brisbane/60/2008接近。其中N165K变异位于HA抗原头部保守的中和表位区,对HA抗原变异具有重要影响^[11]。

与Victoria系病毒株相比,Yamagata系乙型流感近10年均处于散发状态,未引起大的流行,分离比例低于Victoria系病毒株。变异形式主要是点突变引起的抗原漂移,未发现插入和缺失。虽然Victoria系重配株的NA也来自Yamagata系,但从NA基因进

化树可见,此两类病毒株的 NA 基因明显处在 2 个不同的进化分支上,抗原性差异明显,在 NA 蛋白结构的颈部和头部发生差异的氨基酸位点多达 31 个,包括 4 个抗原决定簇区的特征性氨基酸差异,如 E148G、S198N 和 T389A 对决定这两类病毒株的抗原性具有重要意义。

虽然乙型流感 Victoria 系和 Yamagata 系进化特点各不相同,但它们具有在人群中共存、共同进化的特征,这明显增加了两者发生基因重配的机会^[12]。本研究分析了 1999—2010 年浙江省乙型流感分离株表面抗原 HA 和 NA 的分子变异,今后还应深入研究其内部基因片段的变异和重配情况,以全面掌握乙型流感病毒的分子变异机制。

参 考 文 献

- [1] Rota PA, Wallis TR, Harmon MW, et al. Cocirculation of two distinct evolutionary lineages of influenza type B virus since 1983. *Virology*, 1990, 175(1):59-68.
- [2] Zhao FF, Lu YY, Feng Y, et al. Study on the genome sequence of influenza virus subtype A/H3N2 strains circulated in Zhejiang province during 1998 to 2009. *Chin J Epidemiol*, 2010, 31(12):1368-1373. (in Chinese)
赵斐斐, 卢亦愚, 冯燕, 等. 浙江省 1998—2009 年 H3N2 亚型流感流行株基因组全序列分析. *中华流行病学杂志*, 2010, 31(12):1368-1373.
- [3] Mao HY, Lu YY, Yan JY, et al. Molecular and antigenic characteristics of influenza B virus isolated in Zhejiang province in 2006. *Chin J Epidemiol*, 2008, 29(4):413-414. (in Chinese)
茅海燕, 卢亦愚, 严菊英, 等. 2006 年浙江省乙型流感病毒的分子变异和抗原特性研究. *中华流行病学杂志*, 2008, 29(4):413-414.
- [4] Yan JY, Lu YY, Feng Y, et al. Rapid detection of influenza A₁ virus by TaqMan-based real-time RT-PCR assay. *Chin J Zoonoses*, 2005, 21(2):169-172. (in Chinese)
严菊英, 卢亦愚, 冯燕, 等. TaqMan-MGB 荧光定量 RT-PCR 快速检测甲 3 流感病毒. *中国人兽共患病杂志*, 2005, 21(2):169-172.
- [5] Shi W, Lu YY, Yan JY, et al. TaqMan-based real-time RT-PCR assay for quick detection of influenza A1 virus RNA. *Chin J Vaccines Immunizat*, 2005, 11(5):356-359. (in Chinese)
史雯, 卢亦愚, 严菊英, 等. 荧光定量逆转录-聚合酶链反应方法快速检测甲 1 型流行性感冒病毒核酸. *中国计划免疫*, 2005, 11(5):356-359.
- [6] Lu YY, Yan JY, Feng Y, et al. TaqMan-based Real-time PCR assay for quick detection of influenza B virus. *Zhejiang J Prev Med*, 2005, 17(3):1-3. (in Chinese)
卢亦愚, 严菊英, 冯燕, 等. 荧光定量 RT-PCR 快速检测乙型流感病毒核酸. *浙江预防医学*, 2005, 17(3):1-3.
- [7] McCullers JA, Wang GC, Webster RG, et al. Reassortment and insertion-deletion are strategies for the evolution of influenza B viruses in nature. *J Virol*, 1999, 73(9):7343-7348.
- [8] Lin YP, Gregory V, Bennett M, et al. Recent changes among human influenza viruses. *Virus Res*, 2004, 103:47-52.
- [9] Chen GW, Shih SR, Hsiao MR, et al. Multiple genotypes of influenza B viruses cocirculated in Taiwan in 2004 and 2005. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(5):1515-1522.
- [10] Puzelli S, Frezza F, Fabiani C, et al. Changes in the hemagglutinins and neuraminidases of human influenza B viruses isolated in Italy during the 2001-02, 2002-03, and 2003-04 seasons. *J Med Virol*, 2004, 74(4):629-640.
- [11] Nakagawa N, Kubota R, Okuno Y. Variation of the conserved neutralizing epitope in influenza B virus victoria group isolates in Japan. *J Clin Microbiol*, 2005, 43(8):4212-4214.
- [12] Chen R, Holmes EC. The evolutionary dynamics of human influenza B virus. *J Mol Evol*, 2008, 66(6):655-663.

(收稿日期:2010-11-29)

(本文编辑:张林东)

· 消息 ·

吴阶平-保罗·杨森医学药学奖报名通知

为促进我国医药卫生事业的发展,激励广大医药卫生工作者发扬严谨治学、求实创新精神,1994 年经科技部奖励办注册成立吴阶平-保罗·杨森医学药学奖(简称吴杨奖)。吴杨奖旨在表彰、奖励在医药卫生领域努力钻研并做出突出贡献的 55 岁及以下优秀医药卫生工作者。作为中国医药卫生领域权威的非官方奖项之一,吴杨奖以其科学、严格的评选程序和严肃、认真的评审态度确立了在医药卫生领域的声誉和地位,成为我国医药卫生工作者努力争取的一项殊荣。

2011 年第 12 届吴杨奖的报名工作已正式启动。本届吴杨奖报名范围为临床医学、药学和公共卫生三个领域的 55 岁及以下医药卫生工作者,报名人具体专业不限。获奖名额为临床医学领域获奖人 6 名以内;药学领域获奖人 2 名以内;公共卫生领域获奖人 2 名以内。本届吴杨奖获奖名额不超过 10 名,另设提名奖不超过 10 名。

报名人可通过吴杨奖官方网站在线报名或原始书面材料报名。具体报名方法和报名条件等信息请登录吴杨奖官方网站(www.wuyangjiang.com)查询。报名截止日期:2011 年 4 月 30 日。吴杨奖秘书处联系人:曹颖洁,地址:100044 北京市西城区车公庄大街 9 号五栋大楼 B3 座 802, 电话:010-88393866, 传真:010-88393864, Email: wuyangjiang@china.com。

吴阶平-保罗·杨森医学药学奖秘书处