

浙江省1998—2009年H3N2亚型流感流行株基因组全序列分析

赵斐斐 卢亦愚 冯燕 徐昌平 茅海燕 周敏 莫世华

【摘要】 目的 从基因组全序列分析探讨浙江省1998—2009年H3N2亚型流感病毒的基因变异与流感流行的关系。**方法** 选择浙江省1998—2009年流感流行期间分离到的H3N2亚型流感病毒流行代表株19株,采用RT-PCR方法扩增其8个基因片段后进行序列测定,并与近十余年间使用的疫苗株序列进行比较。**结果** H3N2亚型流感流行株HA和NA基因的氨基酸变异率最高,分别为13.98%和10.00%;其他6个内部基因所表达的蛋白中,除NP、M2和NS1(氨基酸变异率分别为6.43%、6.19%和3.48%)外,其他蛋白的氨基酸变异均<3.00%;在H3N2亚型流感存在较大范围流行的年份,除HA和NA基因外,流感病毒其他6个内部基因也会发生不同程度的变异。此外,在以往一些年份中,WHO推荐的H3N2流感病毒疫苗株与浙江省同期流行株之间,在许多基因上存在着滞后现象。**结论** 在加强对H3N2亚型流感病毒株表面HA与NA基因监测的同时,也应注意到其他内部基因的变异,为新一轮流感流行株的出现提供重要的预警信息。

【关键词】 流感病毒; H3N2亚型; 全序列

Study on the genome sequence of influenza virus subtype A/H3N2 strains circulated in Zhejiang province during 1998 to 2009 ZHAO Fei-fei¹, LU Yi-yu², FENG Yan², XU Chang-ping², MAO Hai-yan², ZHOU Min², MO Shi-hua². 1 Medical School of Ningbo University, Ningbo 315211, China; 2 Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention

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

This work was supported by a grant from the Key Items of Zhejiang Science and Technology Department (No. 2004C23001).

【Abstract】 Objective To analyze the relationship between influenza epidemic and genetic characteristic on the whole genome of influenza virus subtype A/H3N2 strains isolated in Zhejiang province during 1998 to 2009. **Methods** All of the eight genes from the 19 Zhejiang influenza virus isolates, circulated during 1998 to 2009, were amplified by RT-PCR and sequenced. The obtained sequences were aligned and analyzed with the vaccine strains being used in the last 10 years. **Results** The highest mutation happened within HA and NA genes and the amino acid divergent ratios were 13.98% and 10.00%. Amongst the six internal proteins, the amino acid divergent ratios of NP, M2 and NS1 were 6.43%, 6.19% and 3.48% respectively, and the others were lower than 3%. Other than the HA and NA genes, mutations were also observed on six internal genes of the strains isolated in those years when the influenza virus subtype A/H3N2 was widely circulating. Additionally, there had been an obvious genetic lag between vaccine strains recommended by WHO and the contemporary Zhejiang epidemic strains for many years. **Conclusion** Besides on HA and NA genes, surveillance programs should also be covered mutations regarding the internal genes of influenza virus subtype A/H3N2 strains, in order to provide important information for forecasting and warning of a new round of influenza epidemic.

【Key words】 Influenza virus; Subtype A/H3N2; Complete sequence

甲型H3N2亚型流感病毒(A/H3N2)自1968年首次出现后,在人群中一直处于活跃态势^[1],并通过

抗原漂移和抗原转换逃避宿主的免疫识别,不断引起新的流行。A/H3N2全基因组共有8个片段,编码10种以上不同的蛋白,包括表面抗原蛋白血凝素(HA)、神经氨酸酶(NA)、RNA聚合酶(PB2、PB1、PA)、核蛋白(NP)、膜蛋白(M1、M2)以及非结构蛋白(NS1、NS2)^[2]。其中HA和NA位于流感病毒球形结构的表面,在病毒的感染、增殖以及变异中起着

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.12.010

基金项目:浙江省科技厅重点项目(2004C23001)

作者单位:315211 宁波大学医学院(赵斐斐);浙江省疾病预防控制中心(卢亦愚、冯燕、徐昌平、茅海燕、周敏、莫世华)

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

重要的作用,因而对其报道的最多。现有的研究认为,除 HA 和 NA 之外,流感病毒其他 6 个内部基因与病毒的酶系统、毒力、感染宿主、抗药性等因素有关^[3],但对其变异、进化等方面却少见报道。为全面了解近十余年来浙江省 A/H3N2 各基因的变异情况,本研究对 1998—2009 年间不同年份的 19 株 A/H3N2 流行代表株进行全基因组 8 个片段的序列测定分析,结果报道如下。

材料与方 法

1. 样本来源:选取由本实验室保存的 1998—2009 年浙江省流感流行期间分离的 A/H3N2 流行株,每年 1~2 株(缺 2000、2001 年);WHO 北半球 A/H3N2 流感疫苗推荐株 A/Wuhan/359/95、A/Sydney/5/97、A/Moscow/10/99、A/Fujian/411/2002、A/Wellington/1/2004、A/California/7/2004、A/Wisconsin/67/2005、A/Brisbane/10/2007 和 A/Perth/16/2009 的各基因序列,从 NCBI 的 GenBank 下载。

2. 全基因组序列扩增:对浙江省 1998—2009 年的 19 株 A/H3N2 流感流行株,采用 Roche 公司试剂盒 High Pure Viral Nucleic Acid 提取病毒 RNA,按试剂盒说明书操作。反转录聚合酶链反应(RT-PCR)采用 TaKaRa 公司 one step RT-PCR kit,反应体系及条件见参考文献[4]。RT-PCR 扩增引物为本实验室自行设计,由上海英潍捷基科技有限公司合成,引物序列见表 1。

3. 序列测定与分析:RT-PCR 产物送南京金思特科技有限公司进行双向核苷酸序列测定后,采用 DNASTAR 软件进行序列的拼接、比对及同源性推导,并采用 MEGA3.1 软件,以邻位相临法(NJ)构建系统

进化树,序列分析中基因的抗原决定簇及功能区资料参照文献[5-7]。

结 果

1. 不同病毒株间的核苷酸同源性分析:与 A/H3N2 的原始株 A/Beijing/1/1968 相比,1998—2009 年浙江省 19 株流感流行株在 8 个基因序列上只发生了核苷酸和氨基酸的替换,而未见插入与丢失。1998 年的主要流行株 A/Zhejiang/11/1998 与 2009 年的流行株 A/Zhejiang/957/2009 在各基因上的氨基酸同源性分布于 91.2%~100.0%之间,其中以 HA1 的同源性最低为 91.2%,NA 次之为 93.8%,M2 和 NP 上的同源性也分别只有 96.9%和 97.8%。为了解 A/H3N2 最近的变异状况,还计算了 2007—2009 年浙江省流行株各基因间的同源性,以及 1998 年和 2002 年两次较大范围 A/H3N2 流感流行时分离株与 WHO 当时的疫苗推荐株各基因间的同源性,并将两者进行比较。A/Zhejiang/11/1998 与当年的疫苗株 A/Wuhan/359/95 相比,在 HA1、NA、M1、M2 上的同源性都较低,分别为 95.1%、98.1%、97.6%和 95.9%;2002 年的主要流行株 A/Zhejiang/13/2002 与当年的疫苗株 A/Moscow/10/99 相比,HA1、NA、M2 上的同源性虽较 1998 年的流行株和疫苗株间的差异小,但依然偏低,分别为 95.7%、98.1%和 97.9%;在 A/Zhejiang/917/2007 与 A/Zhejiang/957/2009 之间,3 年中病毒株间的总体变异比 1998 和 2002 年两次流感大范围流行时,流行株与当年疫苗株之间的差异要小,尤其在主要抗原 HA1 上则更是如此(表 2)。

2. 各基因系统进化树分析:将 A/H3N2 流感流行株的 8 个基因分别做纵向时间序列比较,则进化

表 1 流感病毒 A/H3N2 全序列 8 个基因的扩增引物

基因	正向引物(5'~3')	反向引物(5'~3')
HA1	GCAAAAGCAGGGGATAATTC	GCACCTAATGTTGCCTTTTT
NA	GCAGGAGTAAAGATGAATCC	GCGAAAGCTTATATAGGCAT
PB2	ACTACGGAMCCTRATGTCCG	ATATGGTCTCGTATTAGTAGAAACAAGGTCGTTT
PB1	GGATGTCAATCCGACTCTACT	CGTCTSAGTCTCTCAATGGTGGA
PA	CGACAATGYTTCAACCCGAT	TCAGGAAGGAGTTGAACCA
NP	CAAGGCACCAACGRTCT	GAYCGGGTTCGTYGCTTC
M	CTTCTRACMGAGGTCGAAACG	ATATCGTCTCGTATTAGTAGRAACAAGGTAGTTTTT
NS	TATTCGTCTCAGGGAGCAAAAGCAGGGTG	ATATCGTCTCGTATTAGTAGAAACAAGGGT

表 2 流感病毒 A/H3N2 氨基酸同源性比较(%)

病毒株	HA1	NA	PB2	PB1	PA	NP	M1	M2	NS1	NS2
A/Zhejiang/11/1998 ~ A/Zhejiang/957/2009	91.2	93.8	99.1	99.2	98.7	97.8	99.2	96.9	98.3	100.0
A/Zhejiang/917/2007 ~ A/Zhejiang/957/2009	97.6	99.6	99.7	99.9	99.7	99.6	99.6	99.0	99.1	100.0
A/Zhejiang/11/1998 ~ A/Wuhan/359/95	95.1	98.1	-	-	-	-	97.6	95.9	-	-
A/Zhejiang/13/2002 ~ A/Moscow/10/99	95.7	98.1	99.7	99.7	100.0	99.0	100.0	97.9	100.0	100.0

注:NCBI 上缺少 A/Wuhan/359/95 的 PB2、PB1、PA、NP、NS1 和 NS2 序列资料

树干上呈现出以年份为序,逐步进化的规律,但各基因间又具有不同的进化速度和特性。

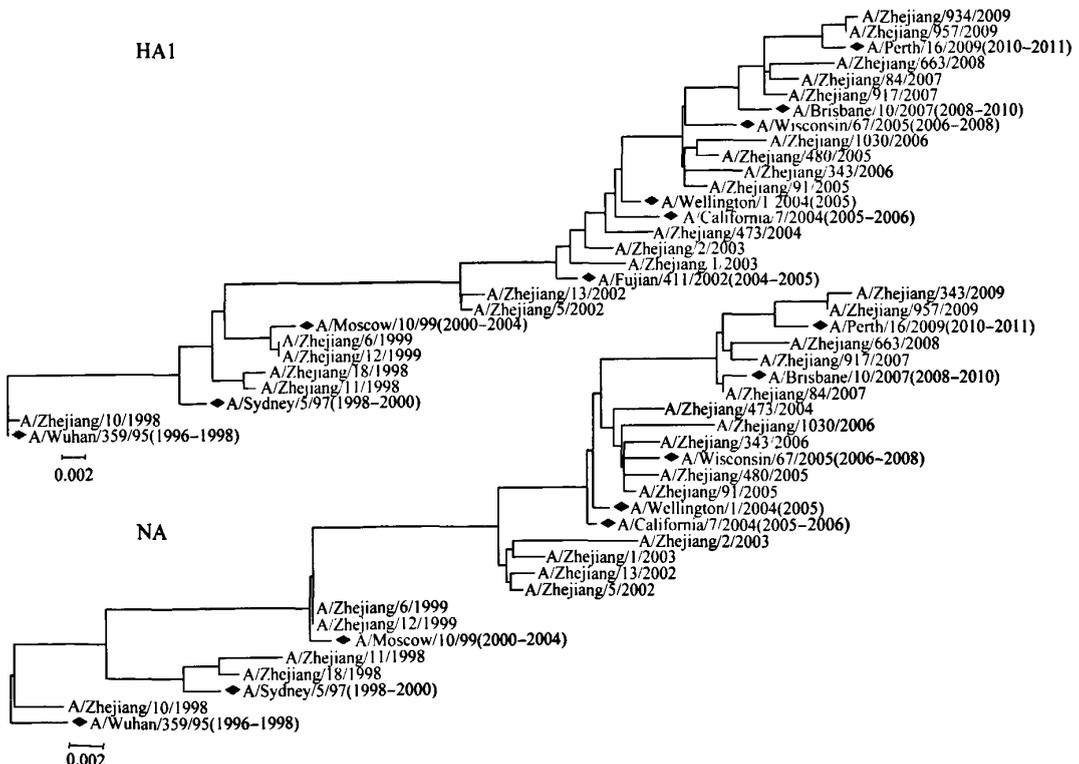
在 HA1 进化树上,1998 年的病毒株出现 2 个分支,一支以非流行株 A/Zhejiang/10/1998 为代表,另一支则是由 1998 和 1999 年浙江省的主要流行株组成(图 1)。1998 和 2002 年的流行株都与其前一年份的分离株距离较远,此后则以相对缓慢的速度进化,未出现明显的分支。NA 进化树在 1998 和 2002 年呈现出与 HA1 相同的趋势,除 1999 年的流行株自成一支外,其他年份的变异均显得较为平稳。而国外同时期的病毒株(此后几年的疫苗株)在 HA1 与 NA 基因进化树上也与浙江省流行株的进化情况较为一致。

流感病毒聚合酶 PB2、PB1 和 PA 及核蛋白 NP 的系统进化树也分别表现出不同的进化趋势。由图 2 可见, PB2、PB1 和 PA 在 1998 和 2002 年均均有较为明显的分支,并且除了 2004 年外,浙江省流行株与同期国外病毒株在各年份间的进化关系基本一致。值得注意的是,在 NP 上,浙江省 2003—2006 年与 2007—2009 年的流行株分布于两个相异的谱系,其中 2003—2006 年的流行株与 A/Wisconsin/67/2005 处于同一分支,而 2007—2009 年的流行株所形成的单独分支中还包括国外 2003、2004 和 2007 年的病毒株。

M 基因的系统进化树分为明显的 3 支,2002 年之后的病毒株进化速度缓慢,特别是 2004—2006 年间按时间进化的趋势不明显,直到 2009 年才出现较小分支,且 2004 年浙江省流行株和同期国外毒株分布于不同分支。NS 基因同样在 1998—2002 年变异较大,2002—2006 年非常稳定且无时间趋势,直到 2007—2009 年病毒株间才有小分支出现(图 3)。

3. 各基因核苷酸、氨基酸的变异:1998—2009 年浙江省 A/H3N2 流感流行株无论是核苷酸还是氨基酸,均以 HA1 的变异率最大,NA 次之(表 3),且 HA1、NA、M2 和 NS1 的氨基酸变异率大于其核苷酸变异率,其核苷酸非同义替代率也都较大;PB2、PB1、PA、NP、M1 和 NS2 的氨基酸变异率小于核苷酸变异率,其核苷酸非同义替代率也都较小。

1998—2009 年浙江省 A/H3N2 在 HA1 上共发生 46 个氨基酸的替换,抗原决定簇 A、B、C、D、E 上分别存在 9、13、3、4、4 个氨基酸变异^[5],对应的变异率分别为 47%、62%、11%、10%、18%;NA 上有 47 个氨基酸发生变异,位于抗原决定簇 A、B、C 的分别有 4、3、6 个,对应的变异率分别为 25%、50%、26%;PB2 上位于 RNA 帽子结构绑定区域^[6]的第 553、559 和 590 位氨基酸分别在 1998 年和 2002 年有所变异;在



注:◆为 1998—2009 年 WHO 公布的各时期北半球 A/H3N2 流感疫苗推荐株,括号内为疫苗株使用年份,下同

图 1 流感病毒 A/H3N2 的 HA1、NA 基因系统进化树

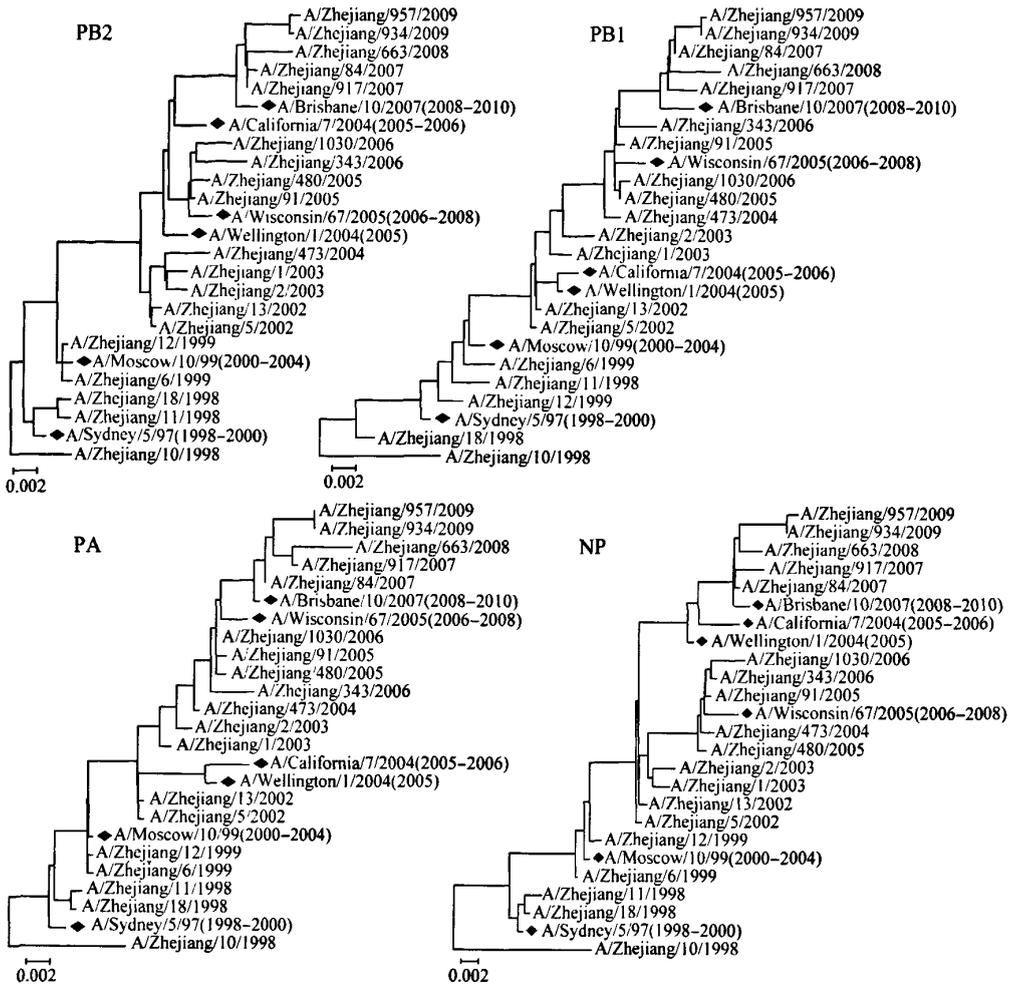


图2 流感病毒A/H3N2的PB2、PB1、PA、NP基因进化树

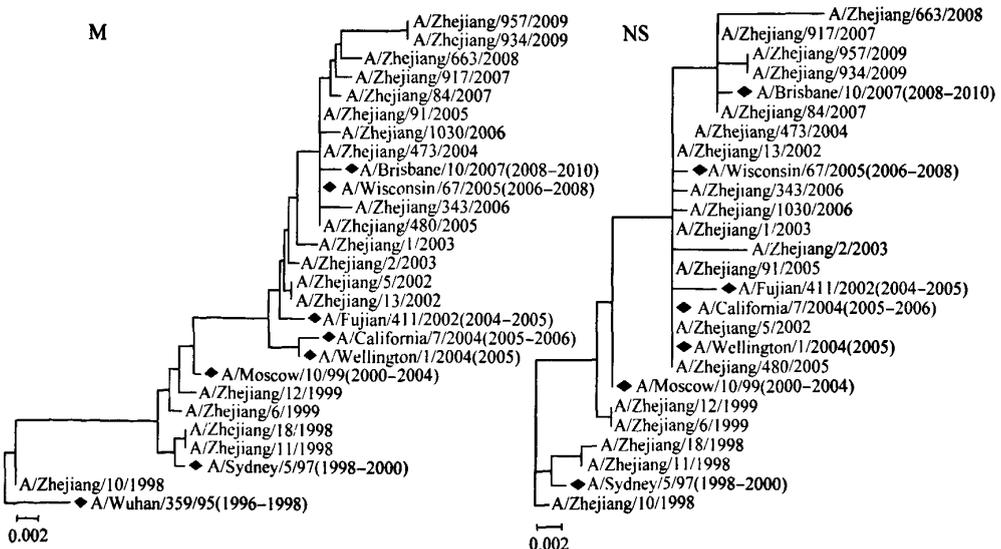


图3 流感病毒A/H3N2的M、NS基因进化树

表 3 1998—2009 年浙江省 A/H3N2 流行株核苷酸、氨基酸变异状况

基因	核苷酸		氨基酸		核苷酸非同义替代率(%)
	变异数	变异率(%)	变异数	变异率(%)	
HA1	113	11.44	46	13.98	58.41
NA	122	8.65	47	10.00	48.36
PB2	133	5.83	18	2.37	15.04
PB1	140	6.15	16	2.11	13.57
PA	114	5.30	20	2.79	18.42
NP	123	8.22	32	6.43	30.08
M1	37	4.87	5	1.98	16.22
M2	14	4.76	6	6.19	50.00
NS1	19	2.74	8	3.48	56.00
NS2	12	3.28	1	0.83	10.00

1998 年,位于 PB1 核酸转运区^[7]的第 216 位氨基酸、PA 上与宿主因子作用^[8]的第 557 位氨基酸、M1 参与构成核定位信号区或流感病毒型特异性表位^[6]的第 95、227 和 230 位氨基酸都发生了变异;NP 的 32 个氨基酸变异中,有 13 个发生于 1998 年并在此后年份中稳定遗传下来,而通常较为保守的尾部环形区^[9]第 406 和 425 位基因也在 2002 年分别发生了 I→T 和 V→I 的变异;M2 有 6 个氨基酸发生变异,其中包括跨膜区上涉及金刚烷胺耐药性的第 31 位氨基酸^[10]。

4. 各基因糖基化位点的变化:与 A/H3N2 流感的原始株 A/Beijing/1/1968 相比,1998—2009 年浙江省流行株在 HA1 区增加了第 63、122、126、133、144、246 位糖基化位点,在 NA 区增加了第 43、93、329 位糖基化位点。除 HA1 区的第 63 和 246 位之外,其他新增加的糖基化位点均不够稳定。而 PB1、PA、M2、NS1 的糖基化位点则相对稳定,除极个别病毒株外,均分别保持着 1968 年以来的 11、7、1、1 个糖基化位点(极个别病毒株如 A/Zhejiang/10/1998 株的 PB1 基因为 10 个糖基化位点,A/Zhejiang/343/2006 株的 PA 基因为 8 个糖基化位点)。A/Beijing/1/1968 的 PB2 上原有 4 个糖基化位点,但浙江省 1998—2009 年间所有的流行株都减少了第 567 位糖基化位点。此外,A/Beijing/1/1968 和浙江省 1998 年的流行株在 NP 上都有第 21 和 145 位 2 个糖基化位点,但第 145 位糖基化位点在 1999 年及以后的流行株中消失。而自从 1968 年 A/H3N2 流感流行以来,M1 和 NS2 上一一直未出现糖基化位点。

讨 论

我国在 1998、2002 年都曾发生 A/H3N2 流感较大范围流行。以北京市为例,1998 年 11—12 月的发病人数超过了 100 万人^[11],人群的总发病率高达

10%^[12],显著高于其他年份。上述相同时间段内浙江省也发生了两次 A/H3N2 流感流行,尤其是 1998—1999 年的流行涉及范围更广。本研究结果表明,在流感较大范围流行的年份,不仅 HA1 和 NA,其他 6 个内部基因在系统进化树上也会表现出明显的分支现象,也即与以往病毒株相比,在人群中引起流感较大流行的流行株在各个基因上均或多或少地呈现不同程度的变异。从某些内部基因中还可以发现一些在 HA1 和 NA 上没有出现的特征,如在 NP 上,浙江省 2007 年及以后的 A/H3N2 流行株与 2004 年国外病毒株的距离最为接近,其氨基酸间的同源性差异也远小于 2007 年与 2006 年浙江省流行株间的差异。然而其他 7 个基因的系统进化树主干基本按照病毒株出现的时间先后发展,未出现相异谱系的状况。这一现象提示 A/H3N2 在世界范围传播过程中,浙江省这类流行株的 NP 基因可能受到国外病毒株片段的重组。另一方面,与 H5N1 亚型流感病毒时常在 HA 和 NA 中发生碱基和氨基酸的插入或缺失^[13]相比,A/H3N2 各基因序列在十余年间均未见碱基的插入或缺失,说明人类 A/H3N2 的基因特性较为稳定,其变异程度要远远小于以禽类为主要宿主的 H5N1 型。

有研究指出,糖基化位点的增加或减少对流感病毒的抗原性及其他生物学特性均有一定影响^[14],而近十年浙江省 A/H3N2 流行株 8 个基因中,糖基化位点的增减与 A/H3N2 流感的流行态势并不相符,说明在不同基因之间,以及在相同基因的不同区域之间,糖基化位点的改变对 A/H3N2 抗原性的影响程度可能并不相同。

除 NS 外,1998—2009 年浙江省 A/H3N2 流感流行株的其他 7 个基因在系统进化树上都与同期国外某些病毒株处于同一分支,距离非常接近,即基因间的差异很小。而这些国外的病毒株是作为以后几年的 A/H3N2 流感疫苗株在我国及世界其他国家使用的,按照流感病毒抗原逐年变异的规律,对我国而言,这些疫苗株相当于几年前的流行株,必然会在许多基因上滞后于我国的 A/H3N2 流感流行株的变异。本研究对浙江省流行株与当年的疫苗株所进行的差异分析也证实这一滞后现象:1998 年和 2002 年该省流行株与其各自当年的疫苗株,在 HA1 上的氨基酸同源性差异远远超过了 2007—2009 年 3 年中流行株之间的差异,特别是在 1998 年,A/Zhejiang/11/1998 与其疫苗株 A/Wuhan/359/95,在 HA1、NA、M1、M2 上的同源性均不高。H3N2 亚型流感病毒活动增

强往往与流行毒株和当年疫苗株之间出现较为明显的氨基酸点突变有关^[15],我国在1998年和2002年都发生了A/H3N2流感的流行,尤其以1998年的流行规模最大,而其他未发生流行的年份中,浙江省流行株与其当年疫苗株的匹配程度同样不高,从全基因组差异的水平上,提示在不少年份WHO推荐的疫苗株对我国人群的保护效果可能不够理想。

从氨基酸变异率分析,1998—2009年A/H3N2各基因上氨基酸的变异程度从大到小依次为HA1>NA>NP>M2>NS1>PA>PB2>PB1>M1>NS2。由于同义替换率在诸多影响基因变异的因素中反映的是病毒复制速率,而非同义替换则反映的是免疫选择压力^[16],而HA1、NA、M2和NS1的氨基酸变异率均大于其核苷酸变异率,并且核苷酸非同义替代率较高,说明这4个基因所受到的选择压力较其他基因大。自2003年起,浙江省流行株M2上耐金刚烷胺的关键位点——第31位氨基酸由S→N,使其在2002年A/H3N2流感流行后产生了耐药性。PB2、PB1、PA、NP、M1和NS2这6个蛋白的氨基酸变异率小于其核苷酸变异率,可能是由于维持病毒结构和功能的需要,在这些基因上存在着负选择作用。1998年和2002年A/H3N2内部基因上某些具有重要功能的位点所发生的氨基酸替换表明,HA1和NA的变异能明显地反映出流感流行的态势,对抗原的变异起着主导作用,而一旦在某些内部基因上也发生相应的变异,则可能促进新病毒株的形成,从而引起较大范围流感的流行。

以上研究表明,在加强对HA1和NA基因变异监测的同时,也应兼顾其他内部基因,尤其是NP、M2、NS1等基因的变异动态,以便全面认识A/H3N2的变异和进化状况,从而为新一轮流感病毒株的出现,提供重要的预警信息。

(本研究中的流感流行株选择压力分析得到中国科学院昆明动物研究所孙艳波博士的协助,特此致谢)

参 考 文 献

[1] Guo YJ, Dong ZY, Zhang SL, et al. Activities overview of influenza among the Chinese population since 1968. *Chin J Exp Clin Virol*, 1993, 7(3): 15-18. (in Chinese)
郭元吉,董振英,张莎林,等. 1968年以来流行性感冒在我国人群中活动的概况. *中华实验和临床病毒学杂志*, 1993, 7(3): 15-18.

[2] Huang P, Deng F. *Influenza*. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Press, 2004: 50-53. (in Chinese)
黄平,邓峰. 流感. 广州: 广东科技出版社, 2004: 50-53.

[3] Guo YJ, Cheng XW. *Influenza virus and experimental techniques*. Beijing: China Three Gorges Press, 1997: 17-30. (in Chinese)
郭元吉,程小雯. 流行性感冒病毒及其实验技术. 北京: 中国三

峡出版社, 1997: 17-30.

[4] Lu YY, Yan JY, Mao HY, et al. Genetic analysis on HA1 and NA regions of influenza virus subtype A3 isolates of Zhejiang province during 1998-2005. *Chin J Epidemiol*, 2007, 28(11): 1092-1095. (in Chinese)
卢亦恩,严菊英,茅海燕,等. 浙江省1998—2005年甲3亚型流感病毒株HA1区和NA区基因特性分析. *中华流行病学杂志*, 2007, 28(11): 1092-1095.

[5] Munoz ET, Deem MW. Epitope analysis for influenza vaccine design. *Vaccine*, 2005, 23: 1144-1148.

[6] Guo CT. *Influenza*. Beijing: Science Press, 2010: 96-148. (in Chinese)
郭潮潭. 流行性感冒. 北京: 科学出版社, 2010: 96-148.

[7] Nath ST, Nayak DP. Function of two discrete regions is required for nuclear localization of polymerase basic protein 1 of A/WSN/33 influenza virus (H1N1). *Mol Cell Biol*, 1990, 10(8): 4139-4145.

[8] Huarte M, Sanz-Ezquerro JJ, Roncal F, et al. PA subunit from influenza virus polymerase complex interacts with a cellular protein with homology to a family of transcriptional activators. *J Virol*, 2001, 75(18): 8597-8604.

[9] Ng AK, Zhang H, Tan K, et al. Structure of the influenza virus A H5N1 nucleoprotein: implications for RNA binding, oligomerization, and vaccine design. *Faseb J*, 2008, 22(10): 3638-3647.

[10] Masuda H, Suzuki H, Oshitani H, et al. Incidence of amantadine-resistant influenza A viruses in sentinel surveillance sites and nursing homes in Niigata, Japan. *Microbiol Immunol*, 2000, 44(10): 833-839.

[11] Shi YR, Tang YW, He X, et al. Epidemiology investigation of influenza among natural population in Beijing. *Chin Public Health*, 2000, 16(2): 149-150. (in Chinese)
石玉茹,唐耀武,贺雄,等. 北京市自然人群流行性感冒的流行病学调查. *中国公共卫生*, 2000, 16(2): 149-150.

[12] Guo YJ. Influenza activity in China: 1998-1999. *Vacc*, 2002, 20(2): S28-35.

[13] Xu CP, Lu YY, Yan JY, et al. Molecular characteristics and its evolution of the complete genome of avian influenza H5N1 virus isolated in Zhejiang province from 2002 to 2006. *Chin J Epidemiol*, 2008, 29(11): 1114-1118. (in Chinese)
徐昌平,卢亦恩,严菊英,等. 浙江省2002—2006年禽流感H5N1病毒基因特性与进化重组分析. *中华流行病学杂志*, 2008, 29(11): 1114-1118.

[14] Xiu WQ, Weng YW, Shen XN, et al. Molecular evolution of influenza viruses (H3N2) isolates of Fujian province during 1996-2004. *Science in China (Series C: Life Sciences)*, 2008, 38(6): 513-520. (in Chinese)
修文琼,翁育伟,沈晓娜,等. 1996—2004年中国福建省甲3亚型流感病毒(H3N2)的分子进化. *中国科学C辑: 生命科学*, 2008, 38(6): 513-520.

[15] Zhu RN, Qian Y, Wang F, et al. Sequence analysis of the HA1 regions of hemagglutinin genes of influenza viruses (H3N2) isolated from children in Beijing from 1998-2004. *Chin J Epidemiol*, 2006, 27(3): 241-244. (in Chinese)
朱汝南,钱渊,王芳,等. 北京市1998—2004年婴幼儿A3型流感病毒分离株HA1基因序列分析. *中华流行病学杂志*, 2006, 27(3): 241-244.

[16] Mao Q. The affect of immune selection pressure to mutations of hepatitis C virus hypervariable region. Chongqing: Institute of Infectious Diseases of Chinese PLA, Southwest Hospital, Third Military Medical University, 2002. (in Chinese)
毛青. 免疫选择压力对丙型肝炎病毒高变区基因变异的影响. 重庆: 第三军医大学西南医院全军感染病研究所, 2002.

(收稿日期: 2010-08-17)

(本文编辑: 张林东)