

* 流感监测专题 *



2013 年宜春市甲型 H1N1 流感病毒分离鉴定及 HA 基因分子进化分析

陈玉红 李美蓉 陆红云 张红波 吴绍武 刘雪莲 谢海珍 钟玲

摘要: 目的 对 2013 年江西省宜春市甲型 H1N1 流感病毒 HA 基因序列及其编码的氨基酸序列进行分子进化分析,为防控甲型 H1N1 流感大流行和常规监测提供科学根据。方法 随机选择 11 株 2013 年宜春市疾病预防控制中心流感监测实验室分离到的甲型 H1N1 流感病毒毒株,提取病毒 RNA,One-step RT-PCR 扩增 HA 基因并双向测序。以世界卫生组织疫苗推荐株 A/California/07/2009(H1N1) (GenBank: CY121680) 和几株国内外近几年分离的流感甲型 H1N1 毒株的 HA 基因为参考序列,采用 DNASTar 7.0 和 Mega 5.0 软件对 HA 基因及其编码的氨基酸序列进行比对,绘制分子进化树,进行 HA 变异分析。结果 2013 年宜春市 11 株所测甲型 H1N1 流感病毒与疫苗推荐株亲缘性较近,进一步参考几株国内外近几年分离到的流感甲型 H1N1 毒株,HA 没有发生较大变异;其 HA 基因序列二硫键、糖基化位点未发生变异;尽管有 7 株毒株同时在抗原决定簇区 A 区和受体结合位点 130 环或其附近发生单个位点氨基酸替换变异,但未形成流行病学变异新种。结论 目前的甲型 H1N1 流感疫苗仍对人群有保护作用,而抗原决定簇和受体结合位点的变异提示仍需要密切关注甲型 H1N1 流感的再次流行。

关键词: 甲型 H1N1 流感病毒; HA 基因; 序列分析; 分子进化

中图分类号: R373.1⁺3

文献标志码: A

文章编号: 1003-9961(2016)02-0101-05

HA gene molecular evolution analysis of influenza A (H1N1) pdm09 virus in Yichun, 2013 CHEN Yu-hong, LI Mei-rong, LU Hong-yun, ZHANG Hong-bo, WU Shao-wu, LIU Xue-lian, XIE Hai-zhen, ZHONG Ling. Yichun Prefecture Center for Disease Control and Prevention, Yichun 336000, Jiangxi, China

Corresponding author: LI Mei-rong, Email: mediali19851119@163.com

Abstract: **Objective** To understand the molecular evolution of HA genes and encoding amino acid sequence of influenza A (H1N1) pdm09 virus in Yichun in 2013, and provide scientific evidence for the prevention and control of the infection with influenza A (H1N1) pdm9 virus. **Methods** Eleven strains of influenza A (H1N1) pdm09 virus isolated in Yichun CDC influenza laboratory were randomly selected, and the virus RNA were extracted. The fragments of HA genes were amplified by using one-step RT-PCR and then sequenced. The nucleotide sequences and amino acid sequences of HA genes were analyzed with software DNASTar 7.0 and Mega 5.0. **Results** There was a high homology of HA genes between the 11 virus strains isolated in Yichun in 2013 and the vaccine strain A/California/07/2009 (H1N1) (GenBank: CY121680) recommended by WHO, HA did not have a large variation. The disulfide bonds and glycosylation sites of HA gene sequences did not mutate. Although there were 7 strains with simultaneously single site amino acid substitution mutation in the antigen determinant region A and the receptor binding site ring 130 or its vicinity, the new species variation with epidemiological significance did not form. **Conclusion** The vaccine of pandemic influenza H1N1 recommended by WHO still had certain protective effect. However, the variations of epitope region A and receptor binding site suggested that it is still needed to pay a close attention to the epidemic caused by influenza A (H1N1) pdm09 virus.

Key words: Pandemic influenza H1N1 virus; HA gene; Sequence analysis; Molecular evolution

This study was supported by the fund for Social Development Research Project in Jiangxi (No. JXYC2014KSA020)

流感病毒属正粘病毒科、分节段、负链单股

RNA 病毒。据核衣壳蛋白(NP)和基质蛋白(MP)的差异性可分为甲、乙、丙或 A、B、C 三型^[1]。而甲型流感病毒根据血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA)的抗原差异性,HA 分为 16 个亚型,NA 分为 10 个亚型^[2]。甲型 H1N1 流感始于 2009 年 3 月美国和墨西哥暴发的流感大流行^[3],该病毒为猪流感、禽流感及人流感三重重组病毒^[4]。流感病毒极易发生变异,使病毒能逃逸宿主免疫识别和清除,导致新

基金项目:江西省社会发展类科技计划(No. JXYC2014KSA020)

作者单位:宜春市疾病预防控制中心,江西 宜春 336000

作者简介:陈玉红,女,江西省丰城市人,主管检验技师,大专,主要从事医学检验工作

通信作者:李美蓉, Tel: 0795-3203596, Email: mediali19851119@163.com

收稿日期:2015-01-20

的流感暴发^[5]。HA 基因的变异频率最高,是流感病毒抗原性变异的基础。HA 序列分析可研究关键抗原位点是否发生变异,评价毒株抗原性变异有无流行病学意义。本研究分析了江西省宜春市 2013 年甲型 H1N1 流感病毒 HA 基因序列分子变异及进化特征,为防控甲型 H1N1 流感大流行和常规监测提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 采集 2013 年宜春市监测医院流感咽拭子标本及流感重症咽拭子标本。

1.2 病毒分离和效价测定 按照世界卫生组织 (WHO) 推荐流感病毒分离方法^[6],采用犬肾传代细胞 (MDCK) 培养病毒,病毒收获后采用微量血凝实验方法 (HA) 进行效价鉴定;将滴度 ≥ 1:8 的毒株采用血凝抑制方法 (HI) 进行型别鉴定。所有毒株均经国家流感中心复核鉴定,具有统一编号。

1.3 毒株来源与 RNA 提取 随机挑选 11 株分离到的甲型 H1N1 流感病毒毒株,采用美国 Promega 公司的 Maxwell[®] 16 Instrument 核酸自动提取仪及配套 Maxwell[®] 16 Viral Total Nucleic Acid Purification Kit 试剂盒提取病毒基因组 RNA。

1.4 HA 扩增与序列测定 HA 基因引物序列设计及 RT-PCR 反应条件参考 WHO 资料^[6],采用 QIAGEN One Step RT-PCR Kit 试剂盒,以病毒基因组 RNA 为模板反转录扩增 HA 基因,收集 PCR 产物进行双向测序。HA 基因序列引物合成及序列测定均委托上海生工生物工程技术有限公司完成。

1.5 HA 序列分析 以 WHO 北半球甲型 H1N1 流感疫苗推荐株 A/California/07/2009 (H1N1) (GenBank: CY121680),并另外选取几株国内外近几年分离到的流感甲型 H1N1 毒株的 HA 基因为参考序列,采用 DNASTar 7.0 和 Mega 5.0 软件对 HA 基因核苷酸序列及其编码的氨基酸序列进行同源性比对以及分子进化分析。

2 结果

2.1 病毒分离结果 2013 年宜春市全年共分离流感毒株 82 株,其中甲型 H1N1 分离到 51 株,占全年毒株分离的 62.20%,是 2013 年流行优势株;其余甲型 H2N3、乙型分别分离到 23 株 (28.05%)、8 株 (9.75%)。同时流感病毒毒株分离大多数分布在 3 月 (19 株)、4 月 (20 株),少数分布在 2 月 (4 株)、5 月 (8 株),说明 2013 年宜春市甲型 H1N1 流感呈春

季集中暴发形势,其他季节未发现。

2.2 HA 基因核苷酸和氨基酸同源性及分子进化分析 甲型 H1N1 流感病毒参考株 A/California/07/2009 (H1N1) (GenBank: CY121680) 的 HA 基因编码区核苷酸长度为 1701 bp,编码 566 个氨基酸;序列分为信号肽 (1~51 bp,编码 1~17 位氨基酸),重链区 HA1 (52~1032 bp,编码 18~344 位氨基酸) 和轻链区 HA2 (1033~1701 bp,编码 345~566 位氨基酸)。

选取的 11 株甲型 H1N1 流感毒株 HA 基因序列经测定均为 1632 bp,对应参考序列为 69~1701 bp,编码 24~566 位氨基酸。经 DNASTar 7.0、Mega 5.0 软件分析,所测的 11 株毒株与参考株 A/California/07/2009 (H1N1) 进行 HA 基因比对,其核苷酸序列同源性在 98.30%~100.00% 之间,平均为 99.15%;氨基酸的同源性在 97.70%~100.00% 之间,平均为 98.85%。另外参考几株国内外近几年分离到的流感病毒毒株与所测 11 株毒株进行 HA 基因氨基酸序列比对,并绘制分子进化树 (图 1),可见除毒株 A/Jiangxi Yuanzhou/SWL1641/2013 (H1) 和 A/Jiangxi Yuanzhou/SWL11512/2013 (H1) 与国外毒株 A/California/07/2009 (H1N1)、A/Alaska/33/2009、A/Alaska/01/2010、A/Alaska/14/2011 在同一分支上,而剩余 A/Jiangxi Yuanzhou/SWL1178/2013 (H1) 等 9 株毒株与国内 A virus A/FuZhou/SWL159/2013、A/ZheJiang/TZ11/2013 和国外毒株 A/Alaska/3527/2013、A virus A/Alaska/01/2012 在另一分支上。但因为分支单位小,仅为 0.002,总体

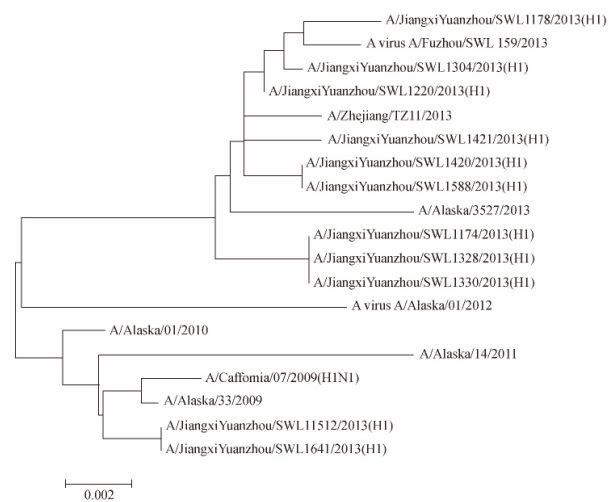


图 1 2013 年宜春市甲型 H1N1 流感病毒 HA 基因序列的种系进化树
Figure 1 Phylogenetic tree based on HA amino acid sequences of influenza A (H1N1) pdm09 virus isolated in Yichun, 2013

而言所测 11 株毒株与疫苗株亲缘关系较近,且近几年国内外甲型 H1N1 流感病毒 HA 序列没有发生较大变异。

列比对,所测 11 株 HA 基因编码 24 ~ 566 位氨基酸,共 543 个氨基酸,其中 24 ~ 344 位氨基酸为重链区 HA1,345 ~ 566 位氨基酸为轻链区 HA2。如图 2 所示,所测 HA 以第 24 位氨基酸为起始位点,与参

2.3 HA 氨基酸序列变异分析 与参考氨基酸序

RefSeq	MKAILVLLVY TFATANADTL CIGYHANNSTDIIVDTVLEKN VYVTHSVNLL EDCHNGKLC L R VAPLIHLG K CNIAGW LG W P L CESI STA SSWSYIVETP 100
SWL1174S
SWL1178S
SWL1220S
SWL1304S
SWL1328S
SWL1330S
SWL1420S
SWL1421N.....S
SWL1588S
SWL1641S
RefSeq	SSDNGT YPG DFIDVEELRE QLSVSSFFER FEIPPKTSSV PNHDSVRGVT AACPHAGAKS FYKNLTWLVK RGN SYPKLSK SYINDK GKEV LVLWGTHPS 200
SWL1174N.....D.....
SWL1178N.....S.....E.....
SWL1220N.....
SWL1304N.....
SWL1328N.....D.....
SWL1330N.....D.....
SWL1420N.....N.....
SWL1421N.....Y.....
SWL1588N.....N.....
SWL1641N.....
SWL11512N.....
RefSeq	TSADQQSLYQ NADAYFVGS SRYSKFRPKE IATRPKVRDQ EGRMNYWTL VEPGDKITFE ATGNLVYPRY AFAMERNAGS GIIISDTPVH DCNTT QTPK 300
SWL1174	.T.....T.....L.....E
SWL1178	.T.....T.....L.....E
SWL1220	.T.....T.....L.....E
SWL1304	.T.....T.....L.....E
SWL1328	.T.....T.....L.....E
SWL1330	.T.....T.....L.....E
SWL1420	.T.....T.....L.....I.....E
SWL1421	.T.....T.....L.....L.....E
SWL1588	.T.....T.....L.....L.....E
SWL1641	.T.....T.....L.....E
SWL11512	.T.....T.....
RefSeq	GAINTSLPEQ NIHPITIGK C PKYVKSTKLR LATGLRNIPS IQSRGLFGAI AGFIEGGWTG MVDGWYGYHH QNEQSGYAA DLKSTQNAID EITNKVNSVI 400
SWL1174V.....K.....
SWL1178V.....K.....
SWL1220V.....K.....
SWL1304V.....K.....
SWL1328V.....K.....
SWL1330V.....K.....
SWL1420V.....K.....
SWL1421V.....K.....
SWL1588V.....K.....
SWL1641V.....
SWL11512V.....
RefSeq	EKMNTQFTAV GKEFNHLEKR IENLNKKVDD GFLDIWTYNA ELLVLENER TLDYHDSNVK NLYEKVRSQL KNNAKEIGNG CFEFYHKCDN ICMESVNGT 500
SWL1174N.....
SWL1178N.....
SWL1220N.....
SWL1304L.....N.....
SWL1328N.....
SWL1330N.....
SWL1420N.....
SWL1421N.....
SWL1588N.....
SWL1641
SWL11512
RefSeq	YDYPKYSEEK KLNREEIDGV KLESTRYIQI LAIYSTVASS LVLVYSLGAI SFWMCSNGSL QCRICTI 566
SWL1174K.....
SWL1178K.....
SWL1220K.....
SWL1304K.....
SWL1328K.....
SWL1330K.....
SWL1420K.....
SWL1421K.....
SWL1588K.....
SWL1641
SWL11512

注:1:“加粗”代表潜在糖基化位点,“C”为半胱氨酸表示二硫键,“加粗”代表抗原决定簇区; 2:“RefSeq”为参考序列氨基酸第 1-566 位氨基酸,“下划线”代表信号肽,“下划线”代表 HA1 区,“下划线”代表 HA2 区;其余为各编号对应毒株所测 HA 氨基酸序列,起始对应参考序列第 24 位氨基酸。

图 2 2013 年宜春市甲型 H1N1 流感病毒 HA 氨基酸序列比对分析
Figure 2 comparative analysis based on HA amino acid sequences of influenza A (H1N1) pdm09 virus isolated in Yichun, 2013

考氨基酸序列 24 ~ 566 位氨基酸进行比对,对 HA 编码的氨基酸序列进行氨基酸变异和蛋白结构变异分析。所测 11 株 HA 氨基酸均发生 P100S、S220T、I338V 替换,9 株均发生 D114N、S202T、V251I、K300E、E391K、S468N、E516K 替换,3 株均发生 N142D 替换,2 株均发生 K136N、K180N、V289I 替换,其余各有 1 株分别发生 D34N、N142S、H143Y、G172E、I284L、V444I 替换。

2.3.1 HA 二硫键的变异分析 二硫键通常指在肽和蛋白质分子中的半胱氨酸残基中的化学键。与参考氨基酸序列比对,所测 HA 编码的氨基酸序列中,第 58、72、84、107、153、292、296、320、481、488、555、562、565 位的半胱氨酸未出现变异,其他位点也均未出现新的半胱氨酸,HA 氨基酸序列二硫键保持稳定。

2.3.2 HA 糖基化位点的变异分析 氨基酸潜在糖基化位点由糖苷键通过 N 糖苷键结合在 Asn-X-Thr(N-X-T) 或 Asn-X-Ser(N-X-S) 的 Asn 残基上形成^[7]。与参考氨基酸序列比对,所测 HA 编码的氨基酸序列中,均在第 27 ~ 29、28 ~ 30、40 ~ 42、104 ~ 106、293 ~ 295、304 ~ 306、498 ~ 500、557 ~ 559 位的氨基酸发现 8 个潜在糖基化位点,且均未出现变异,其他位点也均未出现新的也未出现新的糖基化位点,HA 氨基酸序列糖基化位点保持稳定。

2.3.3 HA 受体结合位点(RBS)的变异分析 HA 受体结合位点(RBS)包括 130 环(135 ~ 138)、190 螺旋(190 ~ 198)、220 环(221 ~ 228)以及这些结构域附近的保守氨基酸^[8]。与参考氨基酸序列比对,在所测 HA 氨基酸中,除有 2 株毒株在 130 环发生 K136N 替换,在 130 环附近分别有 3 株发生 N142D 替换、1 株发生 N142S 替换、1 株发生 H143Y 替换外,其余 HA 在 190 螺旋和 220 环结构域均未出现变异。

2.3.4 HA 抗原决定簇的变异分析 过去研究认为甲型流感病毒 HA 蛋白可分为 A、B、C、D、E 共 5 个抗原决定簇区,其中 A 区:133 ~ 137、140 ~ 146; B 区:156 ~ 160、187 ~ 198; C 区:52 ~ 54、275、277、278; D 区:207、174; E 区:63、78、81、83^[9]。上述抗原决定簇氨基酸发生替换,一般均会引起 HA 蛋白抗原性漂移。本研究中通过抗原位点统计分析,与参考氨基酸序列比对,所测 11 株毒株 HA 氨基酸序列的 HA1 区,在 A 区第 133 ~ 137 位,有 2 株发生 K136N 替换;在 A 区第 140 ~ 146 位,分别有 1 株发生 N142S 替换、1 株发生 H143Y 替换、3 株发生

N142D 替换;其他抗原决定簇区未出现变异。

而 2010 年 Xu 等^[10]分析表明甲型 H1N1 流感病毒 HA 蛋白共含有 4 个抗原决定簇(Sa、Sb、Ca 和 Cb),其中 Sa、Sb 与 RBS 接近,Ca 位于亚基交界处,Cb 位于痕迹酶作用区域。2014 年 Matsuzaki 等^[11]研究使用抗 A/Narita/1/2009 的 16 种类型抗 HA 单克隆抗体来检测 599 个甲型 H1N1 流感病毒逃逸突变体,以此来定位 HA 的抗原表位。结果表明 Sa 的突变位点为 141 ~ 143、171 ~ 172、177 和 180; Sb 的突变位点为 170、173、202、206、210 ~ 212; Ca 的突变位点为 151、154、156 ~ 159、200 和 238; 还有一个不确定的突变位点为 147。本研究所测 11 株毒株 HA 氨基酸序列在 Sa 区有 3 株发生 N142D 替换,1 株发生 H143Y 替换,1 株发生 G172E 替换;在 Sb 区有 9 株发生 S202T 替换;其他抗原决定簇区未出现变异。

3 讨论

流感病毒感染初期由表面膜蛋白 HA 与宿主细胞表面的 HA 受体结合并附着于细胞表面^[12],再由病毒表面膜蛋白 NA 水解 HA 受体末端 N-乙酰神经氨酸破坏受体,帮助病毒在宿主体内扩散^[13]。HA 是流感病毒的主要抗原,HA 变异是流感变异的分子基础。因而对甲型 H1N1 病毒 HA 抗原性进行分析,对于流感疫情的预测和预警具有重要意义^[14]。

本研究中,宜春市 11 株甲型 H1N1 流感病毒与疫苗推荐株 A/California/07/2009(H1N1)相比亲缘性近,HA 序列没有发生较大变异;但 HA 氨基酸序列均发生 P100S、S220T、I338V 替换,这可能与地域差异性有关;HA 氨基酸变异分析表明,HA 氨基酸序列二硫键、糖基化位点无变异,与疫苗推荐株一致,这与 2010 年林毅雄等^[15]的研究结果相一致;但有 7 株毒株在 HA 抗原决定簇区 A 区发生氨基酸替换变异,同时这些变异为毒株在 130 环或其附近发生的氨基酸替换变异。以上表明同地区同期分离的毒株变异率虽低,但仍一定程度上存在变异。

虽然流感病毒变异不断发生,但并非所有变异毒株均能成为代表性变异株从而具有流行病学意义。一般认为具有流行病学意义的新变种 HA1 蛋白分子,至少有 4 个以上氨基酸发生替换,且替换必须涉及 2 ~ 3 个抗原决定簇位点;同时不是 HA 蛋白分子上所有的氨基酸替换具有等同的意义,一般 RBS 周围如 226 和 228 位氨基酸发生替换比其他位点发生氨基酸替换要重要的多^[9]。本研究中 HA 变

异仅是分布在抗原决定簇的单个位点的变异, RBS 周围 226 和 228 位点也没发生氨基酸替换, 所以选取的 11 株甲型 H1N1 流感病毒没有产生具有流行病学意义新的变种。

但一般 HA 抗原决定簇氨基酸发生替换, 会引起蛋白抗原性漂移。例如 Klein 等^[16]的研究参照疫苗株 A/California/07/2009(H1N1), 发现甲型 H1N1 流感病毒 HA 蛋白抗原性漂变加权平均距离从 2009 年的 3.6 上升为 2013 年的 11.7, 而其相对应的编码区抗原性漂变加权平均距离从 2009 年的 7.4 上升为 2013 年的 28.3; 且同一时期的甲型 H1N1 流感病毒与 H3N2 流感病毒抗原性漂变速率大致相同。另外有资料表明 HA 受体结合位点的变异会影响病毒 HA 与其受体的结合, 从而导致病毒对 NA 的依赖性降低, 使抗 NA 流感药物失效^[17]。

仅从 HA 基因特性分析, 2013 年宜春市甲型 H1N1 流感病毒不是流行病学新变种, 目前的甲型 H1N1 流感疫苗虽仍对人群有保护作用; 然而 HA 抗原决定簇和受体结合位点的变异表明有可能加速抗原性漂变, 仍需要密切关注甲型 H1N1 流感的再次流行。

参考文献

- [1] Neumann G, Noda T, Kawaoka Y. Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus [J]. *Nature*, 2009, 459(7249): 931-939.
- [2] Ron Fouchier AM, Munster V, Wallensten A, et al. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls [J]. *J Virol*, 2005, 79(5): 2814-2822.
- [3] Smith GJD, Vijaykrishna D, Bahl J, et al. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic [J]. *Nature*, 2009, 459(7250): 1122-1125.
- [4] Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team, Dawood FS, Jain S, et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(25): 2605-2615.
- [5] Wang TT, Palese P. Universal epitopes of influenza virus hemagglutinins? [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16(3): 233-234.
- [6] WHO. WHO information for molecular diagnosis of influenza virus in humans-update [R]. Geneva: WHO, 2011.
- [7] Basak S, Pritchard DG, Bhowan AS, et al. Glycosylation sites of influenza viral glycoproteins: Characterization of tryptic glycopeptides from the A/USSR (H1N1) hemagglutinin glycoprotein [J]. *J Virol*, 1981, 37(2): 549-558.
- [8] Camblin SJ, Haire LF, Russell RJ, et al. The structure and receptor binding properties of the 1918 influenza hemagglutinin [J]. *Science*, 2004, 303(5665): 1838-1842.
- [9] Guo YJ, Cheng XW. Influenza virus and experimental techniques [M]. Beijing: China Three Gorges Publishing Press, 1997: 16-43. (in Chinese)
郭元吉 程小雯. 流行性感冒病毒及其实验技术 [M]. 北京: 中国三峡出版社, 1997: 16-43.
- [10] Xu R, Ekiert DC, Krause JC, et al. Structural basis of preexisting immunity to the 2009 H1N1 pandemic influenza virus [J]. *Science*, 2010, 328(5976): 357-360.
- [11] Matsuzaki Y, Sugawara K, Nakauchi M, et al. Epitope mapping of the hemagglutinin molecule of A/(H1N1) pdm09 influenza virus by using monoclonal antibody escape mutants [J]. *J Virol*, 2014, 88(21): 12364-12373.
- [12] Weis W, Brown JH, Cusack S, et al. Structure of the influenza virus haemagglutinin complexed with its receptor, sialic acid [J]. *Nature*, 1988, 333(6172): 426-431.
- [13] Wagner R, Matrosovich M, Klenk HD. Functional balance between haemagglutinin and neuraminidase in influenza virus infections [J]. *Rev Med Virol*, 2002, 12(3): 159-166.
- [14] Shinde V, Bridges CB, Uyeki TM, et al. Triple-reassortant swine influenza A (H1) in humans in the United States 2005-2009 [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(25): 2616-2625.
- [15] Lin YX, Zhang LR, Wei QD, et al. Analysis on genetic characteristics of hemagglutinin of group A influenza H1N1 in Zhuhai in 2008 [J]. *Practical Preventive Medicine*, 2010, 17(2): 230-232. (in Chinese)
林毅雄 张丽荣 魏泉德, 等. 珠海市 2008 年 H1N1 亚型流感病毒血凝素 HA1 基因特征分析 [J]. 实用预防医学, 2010, 17(2): 230-232.
- [16] Klein EY, Serohijos AW, Chol JM, et al. Influenza a H1N1 pandemic strain evolution-divergence and the potential for antigenic drift variants [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e93632.
- [17] Mishin VP, Novikov D, Hayden FG, et al. Effect of hemagglutinin glycosylation on influenza virus susceptibility to neuraminidase inhibitors [J]. *J Virol*, 2005, 79(19): 12416-12424.



陈玉红

作者贡献:

陈玉红: 负责课题项目的申报、参与人员的组织、实验进展的跟进及项目结题报告

李美蓉: 负责课题项目实验的具体实施、实验数据的整理分析、论文的撰写与修改

其他作者: 协助课题项目实验的具体实施、实验数据的收集保存