

244-250

6847(9)

第11卷第3期  
1996年9月中国病毒学  
VIROLOGICA SINICAVol. 11 No. 3  
Sep. 1996

## 中国不同地区和人群 HDV cDNA 的筛选、克隆 及抗原编码区基因异质性的分析

谭文杰 詹美云 易炎杰 毕胜利 苗季

(中国预防医学科学院病毒学研究所, 北京 100052)

A

摘要 为研究我国不同地区不同人群中 HDV 毒株的感染分子特征, 从我国河南、内蒙、北京、四川、广西、西藏、新疆、辽宁、上海等地的 HDV 健康携带者、慢性丁肝病人与重症肝炎病人中筛选获得 10 余份 HDV-RNA 阳性血清。经逆转录-多聚酶链反应(RT-PCR)交叉扩增获得 HDV 抗原编码区的 cDNA 片段并克隆到 PGEM-3Zi(-) 或 PGEM-T 载体上, 经序列分析研究其基因结构特点, 结果表明: 中国的 HDV 毒株基因型均为 I 型, 但至少存在 IA、IB 两个亚型, HDV 毒株在不同地区间存在异质性, 其中河南-1、-2、-3 株及新疆株与台湾株同源性较高(核苷酸与氨基酸同源性分别大于 92.1% 与 86.9%), 当为 IA 型; 内蒙-1、四川、广西、西藏-1、辽宁、北京株与美国-1 株同源性较高(核苷酸与氨基酸同源性分别大于 94.3% 与 88.8%), 当为 IB 亚型; 上海株与意大利株的核苷酸同源性最高, 为 98.1%。研究证明我国新疆、内蒙、西藏等地区抗 HD 阳性率比其他省市高并不是由于存在其他基因型所致。

关键词 丁型肝炎病毒(HDV), 逆转录-多聚酶链反应(RT-PCR), DNA 序列分析, 基因型

丁型肝炎病毒(HDV)基因组的 cDNA 克隆是近年来各国学者竞相研究的课题之一, 其独特的基因结构(是动物病毒中唯一的环状单股负链共价闭合的 RNA 病毒)不仅与其特殊的复制机制(双滚环复制)与生物学功能(如 RNA 编辑、核酶功能、HDAg 对复制与毒粒装配的调控等)有关, 而且也将为阐明其致病机制与发病特点提供重要线索与依据<sup>[1-3]</sup>。迄今为止, 国际上已先后发表了从不同地区与人群来源的十余株 HDV cDNA 全序列<sup>[4]</sup>。我国于 1993 年发表了中国第一株(河南-1 株)cDNA 全序列, 它首次阐明了我国 HDV 基因组的一些特征<sup>[5]</sup>, 但尚未阐明在我国不同地区与人群中 HDV 感染率不同<sup>[6]</sup>是否由于存在不同基因型 HDV 株所致, 也没有解决相对于我国 HBV 的高感染率而 HDV 的感染明显偏低<sup>[6]</sup>是否由于 HDV 的基因结构存在一些独特的特征所致。为此, 我们筛选克隆我国不同地区不同人群 HDV 的抗原编码区基因(编码 HDV 的唯一功能蛋白 HDAg), 并进行序列测定与比较。

### 材 料 和 方 法

#### 1 材料与试剂来源

河南-3 为慢性丁肝病人血清, 北京株为重症肝炎病人血清, 其余皆为健康携带者血清。所有血清经 ELISA 检测均为 HBsAg 阳性, anti-HD 抗体或 HDAg 阳性。

本文于 1995 年 10 月 11 日收到, 1996 年 1 月 1 日修回

参加工作的还有同所的刘善德, 丛旭, 张文英, 田瑞光四同志

• 本课题属国家 863 高科技生物技术领域资助项目

逆转录酶为 BRL 的 Super II - MLV 产品; dNTP、Taq 酶、PGEM - T 或 PGEM - 3ZI(-) 载体均购自 Promega 公司; T<sub>7</sub> 聚合酶序列分析 Kit 购自 Pharmacia; a-<sup>35</sup>S dATP 购自 Amersham; 其余均为国产分析纯试剂。

## 2 标本 RNA 的提取及 RT-PCR 产物的获得

参见文献<sup>[5,7,8]</sup>。用异硫氰酸胍一步法提取 RNA 后,经 RT-PCR 交叉扩增得到 HDV - cDNA 片段,这些片段交叉覆盖了 HDV 的抗原编码区(960~1602 nt 区,按 Makino *et al* 定位)。

## 3 PCR 产物的克隆与序列分析

将 PCR 产物经低熔点胶回收纯化后克隆到 PGEM - 3ZI(-) 或 PGEM - T 载体上,以 Sanger 双脱氧末端终止法进行单链或双链测序,参见文献<sup>[5,7,8]</sup>,用计算机进行序列分析比较。

# 结 果

## 1 HDV RNA 阳性血清的筛选及 HDV cDNA 基因片段的获得

从不同地区、不同人群来源的 600 多份 HBsAg(+) 血清中(大多数为全国肝炎流调血清),筛选出了全国六大区十余份 HDV RNA 阳性血清(见表 1),并经 RT-PCR 后获得了其 cDNA 片段,这些片段包含了 HDV 抗原编码区基因。

表 1 HDV RNA(+) 血清筛选克隆一览表

Table 1 The background of HDV RNA positive samples for cloning and sequencing

代表株 Strain	民族 Nationality	指征 Characterization	HBsAg 亚型 Subtype of HBsAg
河南-1(Henan-1)	汉(Han)	HDAb(+)	ayr
河南-2(Henan-2)	汉(Han)	HDAb(+)	ayr
河南-3(Henan-3)	汉(han)	慢性丁肝病人, HDAb(+), (Chronic hepatitis)	ayr
广西(Guangxi)	壮(Zhuangzu)	HBsAg(+)	ND
四川(Sichuan)	汉(Han)	HDAg(+)	ayr
西藏-1(Xizang-1)	藏(Zangzu)	HDAb(+)	adr
西藏-2(Xizang-2)	藏(Zangzu)	HDAb(+)	adr
北京(Beijing)	汉(Han)	重症肝病人, HDAb(+) (Fulminant hepatitis)	ND
内蒙-1(Neimeng-1)	蒙(Mongol)	HDAb(+)	adr
内蒙-2(Neimeng-2)	蒙(Mongol)	HDAb(+)	adr
内蒙-3(Neimeng-3)	蒙(Mongol)	HDAb(+)	ND
辽宁(Liaoning)	汉(Han)	HDAb(+)	ND
上海(Shanghai)	汉(Han)	混合血清 HBsAg(+) (Mixture sample)	ND
新疆(Xinjiang)	维(Urgur)	HDAb(+), HDAb(+)	ND

ND: 未做(None done)

## 2 不同地区 HDV 毒株 cDNA 克隆、序列分析与同源性比较

在筛选后分别获得了河南、广西、西藏、内蒙、四川、北京、辽宁、新疆、上海等地的 HDV 抗原编码区的阳性克隆。对于每一个片段分别挑取 2~3 个独立的阳性菌落,经扩增后,直接提取双链模板用 T<sub>7</sub> Promotor 引物与 SP6 引物从两头测序;或亚克隆到 M13 噬菌体载体上,提取单链模板,采用通用引物进行测序,相继完成了四川株、河南-1 株、河南-2 株、河南-3 株新疆株、内蒙-1 株、西藏-1 株、辽宁株、北京株与广西株的抗原编码区的序列测定,并推导了其编码的 HDAg 的氨基酸序列,将其与已知型别各代表株的核苷酸与氨基酸的同源性比较结

果,见表2~4。

由表2可知,我国不同地区 HDV 存在异质性。其中,河南-1,2,3株与新疆株较相近,而内蒙-1、西藏-1、四川、广西、辽宁、北京6株较为相近。

由表3可知,中国大陆 HDV 毒株与台湾、美国-1、意大利、法国株同源性较高;与日本-1、秘鲁-1核苷酸及氨基酸的异质性皆在20%以上。

河南-1,2,3、新疆株与 HDV-I A 代表株(台湾株)同源性较高,当属 HDV-I A 亚型;而内蒙-1、西藏-1、四川、广西、辽宁、北京与 HDV-I B 代表株(美国-1株)同源性较高,当属 HDV-I B 亚型。

上海株的序列已另文报道<sup>[9]</sup>,它与台湾株和美国-1株同源性相近(分别为91.0%和92.0%),而与意大利株同源性最高,可视为 HDV-I A、I B 之间的中间亚型。

表4列出的3个毒株抗原编码区序列尚未完成,但因抗原编码区序列相对保守,尽管上述区段(1288~1663 nt)不包含在分型区内,但可以推测在内蒙、西藏可能还存在 I A 亚型。

中国10株 HDV 抗原编码区核苷酸序列见另文报道<sup>[7,8,10]</sup>。

10株中国人 HDV 基因编码的 HDAg 的氨基酸序列与世界其它地区来源的 HDV 毒株编码的 HDAg 的氨基酸序列相比较如图1所示,可以看出:中国大陆 HDV 毒株主要为 I 型,存在3个相对保守区,即100-132,159-184,195-214。大多数氨基酸改变为半保守性替换(R↔K, D↔E, I, L↔V)。在198位,除了北京株(来源于重症肝炎)由L→V外,其余9株中国大陆 HDV 在此位点均由L→I相对中国大陆 I A 亚型株在多个位点发生的核苷酸变异,其对应的氨基酸也发生了特异而保守的改变。而与美国株相比,我国 I B 亚型株氨基酸的变异较少而且分布随机。从重症肝炎来源的北京株在多个位点发生了氨基酸的散在变异,但多集中于 HDAg 羧基端<sup>[8]</sup>。

表2 我国不同地区 HDV 抗原编码区核苷酸序列及推导的氨基酸序列同源性的两两比较

Table 2 The nucleotide and amino acid homology comparison of HDV antigen-coding region sequences from different areas in China

株别 Strain	河南-1 HN-1	河南-2 HN-2	河南-3 HN-3	新疆 XJ	内蒙 NM-1	西藏 XZ-1	四川 SC	广西 GX	辽宁 LN	北京 BJ
HN-1		97.0	98.5	95.9	87.0	88.8	86.7	87.9	87.3	89.6
HN-2	96.7		96.1	93.4	86.1	88.5	87.5	87.9	86.1	85.1
HN-3	94.4	95.8		93.7	86.5	88.1	89.3	86.9	86.1	85.8
XJ	91.6	90.2	89.7		87.8	87.2	88.7	88.5	86.7	86.4
NM-1	82.2	81.8	80.4	80.4		93.2	94.4	94.2	92.6	95.7
XZ-1	84.6	84.1	82.7	80.8	91.1		98.7	98.4	95.5	92.7
SC	80.5	85.5	82.2	83.2	92.5	94.5		98.6	96.6	91.7
GX	84.1	84.8	84.6	82.7	91.1	96.7	95.9		96.3	93.7
LN	81.8	81.3	80.8	79.4	87.4	89.7	91.6	92.1		91.0
BJ	79.0	79.0	78.0	76.2	89.7	88.8	89.3	87.9	82.7	

注:左下角为氨基酸同源性;右上角为核苷酸同源性

Note: The homology of amino acid shows in lower left; The homology of nucleotide shows in upper right.

T	MSRSESKN RGGREEVLEQWVNGRKKLEZLERDLRKYKKEIKKLEDDNPVLGNIKGILGRDKDGE GAP	70
C <sub>1</sub>	-----K-D-DI-----D-EA-----E-----K-----	70
C <sub>2</sub>	-----K-D-DI-----D-KEA-----A-----K-----	70
C <sub>3</sub>	-----R-D-DI-----D-EA-F-----E-----K-----	70
C <sub>4</sub>	-----R-D-DI-----LI-----D-EA-----E-----H-----S-----	70
C <sub>5</sub>	-----RR-D-----DI-----S-----ITTL-E-----I-----	70
C <sub>6</sub>	-----RR-D-----DI-----S-----E-----I-K-----	70
C <sub>7</sub>	-----RR-D-----D-DI-----S-----L-----E-----I-K-----	70
C <sub>8</sub>	-----RR-D-----DI-----S-----LRR-S-----E-----I-K-----	70
C <sub>9</sub>	-----RG-D-----DI-----S-----P-----LI-R-V-----	70
C <sub>10</sub>	-----RR-D-----DI-----S-----I-----K-----TTV-E-----I-K-----	70
A	-----RR-D-----DI-----S-----L-----E-----I-K-----	70
J	--Q-TRRGR--T--T--K-ITA--A--K--TR-T--EE--V--INRKG--	70
P	--QTVARLTSKE--I-----EE--NRK--K--RAN-----E-----VV-L-RRK--ED--	70
T	PAKRARTDQHEVDAGPRKPLRGGFSDKERQDHRRRKALENKRKQLTAGGKSLSRREEEELKRLTEEDER	140
C <sub>1</sub>	-----N-----I-SE-----H-----A-----H-----K-E-----	140
C <sub>2</sub>	-----K-----I-SE-----H-----A-----R-----R-E-----	140
C <sub>3</sub>	-----N-----I-SE-----H-----A-----R-----K-E-----	140
C <sub>4</sub>	-----N-----D-SE-----H-----NK-----D-----H-----E-----	140
C <sub>5</sub>	-----KL-N-----I-----T-----SS-----H-----	140
C <sub>6</sub>	-----KL-N-----I-----T-----SS-----K-----	140
C <sub>7</sub>	-----KL-N-----I-----T-----SS-----K-----	140
C <sub>8</sub>	-----KL-N-----I-----IH-----SS-----G-----K-----	140
C <sub>9</sub>	-----KL-N-----I-----T-----K-----E-SS-----QK-----	140
C <sub>10</sub>	-----KL-N-----I-----T-----K-----SE-T-----V-----	140
A	-----KL-N-----I-----T-----SS-----K-----	140
J	-----P-----S-G--NKS--T--E-----K--S--I--K--R--D--E-----	140
P	-----P-QET-----S--GRK--KAR--T-Q-R-----K--AG--H-Q--R--ARD-DE-----	140
T	RERRVAGPSYGGVNPLEGGSRGAPGGGPPPSMQGIPESPFTRTGEGLDVRGTQGFPPVDLLFPADPP FSP	210
C <sub>1</sub>	-----A-----H-----*I-----	210
C <sub>2</sub>	-----A-S-----H-----I-----	210
C <sub>3</sub>	-----PSF-----S-----A-----R-----H-----I-----	210
C <sub>4</sub>	-----I--RD-----I-----H-----I-----	210
C <sub>5</sub>	-----R-----I-----P-----I-----H-----I-----E-----S-----	210
C <sub>6</sub>	-----I-----V-----D-----I-----S-----I-----	210
C <sub>7</sub>	-----I-----V-----A-----I-----S-----L-----I-----	210
C <sub>8</sub>	-----I-----V-----A-----I-----S-----L-----I-----	210
C <sub>9</sub>	-----KI--T-----A-----A-----I-----VH-----L-----I-----V-----	210
C <sub>10</sub>	-----R-----H-----SD-----P-----I-----S-----V-----SH-----	210
A	-----R-----V-----A-----S-----	210
J	-----K-----R--D--SR--P-----Q--A--V-----S-----I-----VSPS--PQQR--LPL-----	210
P	-----T--EP-----ND--PP-----L--V-----S-----I--I--Q--TGFT--PP--GYTW-----	210
T	QSCRPO	280
C <sub>1</sub>	-----	280
C <sub>2</sub>	-----	280
C <sub>3</sub>	-----	280
C <sub>4</sub>	-----	280
C <sub>5</sub>	-----	280
C <sub>6</sub>	-----	280
C <sub>7</sub>	-----	280
C <sub>8</sub>	-----	280
C <sub>9</sub>	-----	280
C <sub>10</sub>	-----H-----	280
A	LE-T-----	280
J	PG-TQ-----	280
P	-----	280

图 推导的 10 株中国人 HDV 抗原编码区氨基酸序列及与已知各型代表株序列的比较

"T, C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10, A, J, P" 分别为台湾株 (Chao *et al.*, 1991), 河南-1 株, 河南-2 株, 河南-3 株, 新疆株, 内蒙-1 株, 四川株, 广西株, 西藏-1 株, 辽宁株, 北京株, 美国-1 株 (Makino *et al.*, 1987), 日本-1 株 (Imzaki, 1990), 秘鲁-1 株 (Casey *et al.*, 1993).

Fig Comparison of the amino acid sequences of HDAg among the 10 Chinese HDV isolates and known genotype representatives.

"T, C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C9, C10, A, J, P" are the HDV sequences derived from Taiwanese (Chao. *et al.*, 1991), Henan-1, Henan-2, Henan-3, Xinjiang, Neimeng-1, Sichuan, Guangxi, Xizang-1, Liaoning, Beijing, US-1 (Makino. *et al.*, 1987) Japanese-1 (Imazeke. *et al.*, 1990) Peru-1 (Casey. *et al.*, 1993), respectively.

表 3 我国 HDV 抗原编码区核苷酸序列及推导的氨基酸序列与部分已知 HDV 代表株同源性比较

Table 3 Comparison of the nucleotide and amino acid homology of HDAg-coding region among Chinese HDV isolates and some known HDV representatives

株别 Strains	核苷酸/氨基酸同源性(%) Homology of nucleotide/ amino acid (%)					
	台湾 Taiwan (Chao, 1991)	美国-1 US-1 (Makino, 1987)	意大利 Italy (Wang, 1996)	法国 France (Saldanha, 1990)	日本-1 Japan-1 (Imazeki, 1990)	秘鲁 Peru-1 (Casey, 1993)
HN-1	94.3/89.7	86.8/85.1	89.3/86.4	88.1/84.6	75.4/71.9	66.3/64.6
HN-2	92.1/89.3	87.1/85.5	88.1/85.5	96.5/83.1	74.7/67.0	68.1/64.1
HN-3	92.8/87.4	89.5/84.6	88.9/85.0	87.2/82.1	76.2/66.5	68.7/58.6
XJ	92.9/86.9	89.5/82.2	88.4/85.0	87.4/82.6	76.6/66.5	68.2/58.9
NM-1	91.3/87.4	94.3/91.1	88.9/86.4	89.1/85.6	81.6/69.8	71.0/59.1
XZ-1	90.1/86.9	98.1/96.7	89.0/86.0	91.8/86.1	77.1/68.8	69.9/58.6
SC	90.4/89.3	99.3/99.5	91.5/87.9	94.1/88.2	75.6/69.1	66.1/63.0
GX	89.2/84.6	99.0/96.4	91.2/86.9	93.7/87.1	77.8/69.3	70.1/58.8
LN	88.7/85.8	96.4/92.1	89.4/82.7	91.8/82.0	76.0/65.6	68.1/63.2
BJ	91.2/83.6	94.5/88.8	90.8/80.8	91.7/81.5	80.7/66.5	71.0/55.1

表 4 3 株 HDV 基因组部分序列与已知序列代表株核苷酸同源性比较 (%)

Table 4 The nucleotide homology comparison of partial sequence among 3 Chinese HDV isolates and some known HDV representatives

株别 Strain	I A			I B			II	III
	台湾 Taiwan	河南-1 HN-1	河南-2 HN-2	美国 US-1	四川 SC	广西 GX	日本 Japan-1	秘鲁 Peru-1
内蒙-2(NM-2)	90.5	95.7	94.6	86.8	85.3	86.3	74.5	65.4
内蒙-3(NM-3)	92.7	97.1	95.8	86.8	84.9	86.3	74.1	64.6
西藏-2(XZ-2)	90.7	96.5	95.6	85.6	85.6	85.1	73.8	66.3

## 讨 论

我国丁型肝炎流调结果表明:HDV 感染普遍存在,但不同地区不同民族感染指标有一定差异,其中维吾尔族、蒙族、藏族 HDV 抗体阳性率(4.4%~8.9%)明显高于其他民族(1.32%)<sup>[6]</sup>。为阐明 HDV 毒株在我国不同地区不同民族的感染分布及与流调结果间的联系,从数百份 HBsAg(+)的血清中选获得了来自六大区(中南、华北、华东、西南、西北、东北)、不同人群(维吾尔族、蒙族、藏族、汉族,携带者与病人)的 HDVcDNA 片段并进行序列测定。

通过对河南、四川、广西、西藏、内蒙、辽宁、北京、新疆、上海等地的 HDV 抗原编码区基因的序列测定,并与已发表各型代表株相比较发现:我国 HDV 毒株与台湾株、美国株、意大利

株及法国株相近(核苷酸与氨基酸同源性分别在 85% 与 80% 以上);而与日本-1 株及秘鲁-1 株同源性较低(核苷酸低于 80%, 氨基酸同源性低于 72%)。其中河南-1、-2、-3 株及新疆株与台湾株同源性较高(核苷酸与氨基酸同源性分别大于 92.1% 与 86.9%);内蒙-1、四川、广西、西藏、辽宁、北京株与美国-1 株同源性较高(核苷酸与氨基酸同源性分别大于 94.3% 与 88.8%);上海株与意大利株的核苷酸同源性最高,为 98.1%。

十株中国人 HDV 抗原编码区核苷酸序列及推导的氨基酸序列同源性的两两比较结果表明:在我国不同地区 HDV 毒株的基因结构及 HDAg 结构存在差异,其中同一地区 HDV(如河南-1、-2、-3)的基因异质性(<3%)明显低于相同亚型的不同地区株(河南株与新疆株的基因异质性在 4.1%~6.3%之间)。说明 HDV 有一定地区分布特征,这与流行病学调查结果是符合的。四川、广西、西藏-1、辽宁株之间同源性较高(>95%);北京株(重症肝炎病人分离株)与其它株(携带者分离株)异质性较大(核苷酸异质性为 4.3%~14.9%,氨基酸异质性为 10.3%~15.8%)。

将河南-1、河南-2、河南-3、广西、四川、西藏-1、内蒙-1、新疆、辽宁、北京等十株 HDV 基因推导的 HDAg 氨基酸序列与已知的 HDV 各型代表株的氨基酸序列进行比较研究,发现其同源性、核苷酸同源性呈现出相对平行关系。与 HDAg 的反式调控相关的几个重要功能区域相对保守,其核苷酸变异所产生的氨基酸改变大多为半保守置换(即为同簇氨基酸的改变,如 R $\leftrightarrow$ K, D $\leftrightarrow$ E, I、L $\leftrightarrow$ V),其中最保守的区域为 100~132, 159~184, 195~214。此外,我们发现中国 HDV 毒株在多个位点上发生特异而保守的核苷酸突变,由此导致 HDAg 在多个位点上的氨基酸变异也是特异而保守的。如除北京株(重症肝炎病人)外中国其余九株皆在 HDAg 的 198 位发生了由 L $\rightarrow$ I 的变异,同时也发现中国 IA 株(河南株与新疆株)在几个位点(9, 90, 120, 134 位)发生了由酸性或中性氨基酸向碱性氨基酸的变异。这些特异性变异对 HDAg 生物学性质的影响尚待探讨。

一般认为一种病毒不同毒株之间核苷酸序列的异质性如果低于 20% 则属于同一基因型。根据 1993 年 Casay<sup>[4]</sup>等人报道的 HDV 基因分型原则,目前已发表的 HDV 毒株可分为三个型, I 型又可分为 IA、IB 两个亚型,可分别以台湾株与美国-1 株为代表株。我国 HDV 株均属于 I 型,但存在两个亚型。河南的 3 株(两株来源于 HBsAg 携带者,一株来源于慢肝病人)与新疆株属 IA 亚型;广西、四川、西藏-1、内蒙-1、辽宁、北京属 IB 亚型;上海株与 IA、IB 亚型代表株同源性相近(91~92%),可能属于 IA、IB 间的过渡亚型。

根据本研究结果我们在完成 IB 型(四川株)抗原编码区基因表达的基础上,又完成了 IA 型(河南-1 株)抗原编码区的基因表达工作,并经血清学检测证明:无论 IA 型抗原还是 IB 型抗原应用在抗 HDV 检测上均无显著差异<sup>[11]</sup>。表明我国虽然存在两个不同的 HDV 基因亚型,但均属同一血清型。

研究证明:我国新疆、内蒙、西藏等地区抗 HD 阳性率比其他省市高(如广西省等)不是由于存在其他基因型所致。最近,我们通过对内蒙 2、内蒙 3 和西藏 2 抗原编码区的部分核苷酸序列分析比较,推测在这些地区可能存在不同基因亚型的 HDV 株。

### 参 考 文 献

- 1 Wang K-S, Choo Q-L, Weimer A-J, et al. Structure, sequence and expression of hepatitis delta viral genome. *Nature*, 1986.

- 328;508-513
- 2 Makino S, Chang M-F, Shieh C-K, *et al.* Molecular cloning and sequencing of a human hepatitis delta virus RNA. *Nature*, 1987, 329: 343-346
  - 3 Chao Y-C, Lee C-M, Tang H-S, *et al.* Molecular Cloning and Characterization of an isolate of hepatitis delta virus from Taiwan. *Hepatology*, 1991, 13: 345-352
  - 4 Casey J-L, Brown T-L, Colan E-J, *et al.* A genotype of hepatitis D virus that occurs in northern South America. *PNAS*, 1993, 90: 9016-9020
  - 5 刘善忠, 詹美云, 谭文杰. 中国河南株丁型肝炎病毒全基因组的 cDNA 克隆和序列分析. *病毒学报*, 1994, 10(2): 35-45
  - 6 詹美云, 汤少华, 马虹, 等. 我国 25 省市自治区丁型肝炎病毒感染的流行病学调查研究. *病毒学报*, 1991, 7(增刊): 93-99
  - 7 谭文杰, 刘善忠, 丛旭等. 中国四株丁型肝炎病毒抗原编码区基因的 cDNA 克隆与序列分析比较. *中华实验与临床病毒学杂志*, 1995, 9(4): 293-298
  - 8 谭文杰, 苗季, 丛旭等. 中国不同临床型来源的丁型肝炎病毒(HDV)基因序列的分析比较. *病毒学报*, 1996, 12(1): 97-104
  - 9 谭文杰, 毕胜利, 詹美云. 中国上海丁型肝炎病毒部分基因的克隆与序列分析. *中华实验与临床病毒学杂志*, 1996, 10(1): 16-18
  - 10 谭文杰, 詹美云, 苗季, 等. 中国丁型肝炎病毒抗原编码区的基因特点. *病毒学报*, (付印中)
  - 11 詹美云, 谭文杰, 苗季等. 比较不同中国株重组抗原检测抗 HDV 抗体的差异. *病毒学报*, (付印中)

## Screening, Cloning and Genetic Heterogeneity of the Hepatitis Delta Virus Antigen - Coding Regions Isolated from Different Areas and Population in China

Tan Wenjie    Zhan Meiyun    Yi Yanjie    Bi shengli    Miao Ji *et al*

(*Institute of Virology, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing 100052*)

More than ten Chinese hepatitis delta virus isolates were compared by sequencing the antigen - coding regions after cloned to PGEM-3Zi(-) or PGEM-T vector. The viruses compared included the Henan-1, Henan-2, Henan-3, Xinjiang, Neimeng, Sichuan, Xizang, Liaoning, Beijing, Guangxi and Shanghai strains derived from asymptomatic carriers and chronic or fulminant hepatitis patients. It was found that all HDV isolates prevalent in China were genotype I but there were at least two subgroups. The genetic heterogeneity of HDAg - coding regions existed among the HDV isolates from different areas or population. These strains from Henan and Xinjiang areas shared over 92.1% nucleotide and 86.9% amino acid homology with Taiwan strain that represents genotype IA. But the strains from Sichuan, Xizang - 1, Neimeng - 1, Liaoning, Beijing and Guangxi are closely related to US - 1 strain representing genotype IB (over 94.3% and 88.8% identity in the nucleotide and amino acid sequences respectively). The Shanghai strain is closely related to Italy strain and over 98.1% identity in nucleotide sequences. The results indicated that the higher anti - HDV rates in Xinjiang, Neimeng and Xizang areas than in other provinces are not caused by another special HDV genotype.

**Key words** Hepatitis delta virus, Genetic heterogeneity, Sequence analysis, Genotype