

## 汉坦病毒 K24 株 M 和 S 片段基因的结构特征

姚智慧,董关木,俞永新

(中国药品生物制品检定所,北京 100050)

## Structure Characteristics of M&amp;S Segment of Hantavirus, K24, strain

YAO Zhi-hui, DONG Guan-mu, YU Yong-xin

(National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Our previous study showed that K24 strain was an antigenicity broad Hantavirus SEO type strain. In this paper we studied the molecular characteristics of K24 strain. The total cellular RNA was extracted from infected cell culture and the M and S segment gene were amplified by RT-PCR and then cloned and sequenced. The results indicated that the K24 strain complete M genome segment was 3 652 nucleotide in length encoding 1 133 amino acid, and the complete S genome segment was 1 772 nucleotide encoding 429 amino acid. Comparing with other hantavirus strains, the homology of M genome segment with that of HTN virus is 70.7% ~ 71.2% in nucleotide level and 75.9% ~ 76.9% in amino acid level respectively, while with that of SEO virus strains it was 95.2% ~ 99.2% at nucleotide level and 95.9% ~ 99.4% at amino acid level. The homology of S genome segment with HTN 76-118 and SEO SR-11 showed 74.0% and 95.6% at nucleotide level, and 83.3% and 97.9% at amino acid level. The results are similar to that of M genome segment. When compared with 10 SEO virus strains, there were 4 amino acid differences in the M genome segment, which might be responsible for the antigenicity characteristics broad. Phylogenetic trees were constructed depending on the sequences of nucleotide and amino acids respectively.

**Key words:** Hantavirus; M&S segment; Sequence analysis; Phylogenetic tree

**摘要:**为研究汉坦病毒 K24 株 M 和 S 片段基因的结构特征,从病毒感染细胞提取细胞总 RNA,经 35 个循环的一次性 PCR 得到了与理论值相符合产物,将 RT-PCR 产物直接克隆 T 载体,经 K24 毒株 M 片段的全基因序列共 3 652 个核苷酸,四种核苷酸的酶切和 PCR 鉴定正确的克隆通过柱纯化后进行序列测定,结果比例分别为 A 30.44%, T 30.14%, G 20.72%, C 18.70%, GC 含量为 39.42%, AT 含量为 60.58%, 编码 1 133 个氨基酸。S 片段的全基因序列共 1 772 个核苷酸,四种核苷酸的比例分别为 A 31.30%, G 26.05%, T 22.79%, C 19.77%, GC 含量为 45.81%, AT 含量为 54.19%, 共编码 429 个氨基酸。K24 株 M 片段核苷酸全基因和氨基酸与 HTN 型毒株同源率分别为 70.7% ~ 71.2% 和 75.9% ~ 76.9%, 与 SEO 型为 95.2% ~ 99.2% 和 95.9% ~ 99.4%。S 片段与 HTN 76 ~ 118 和 SEO SR-11 病毒的比较,核苷酸同源率分别为 74.0% 和 95.6%, 氨基酸同源率为 83.3% 和 97.9%, 与 M 片段的结果相类似。M 片段氨基酸与 SEO 型 10 个毒株存在 4 个氨基酸替代。应用 DNASTAR 软件的系统发生分析方法分别绘出了基于 M 片段核苷酸及推导氨基酸的系统发生树。

**关键词:**汉坦病毒; M 和 S 片段; 序列分析; 系统发生树

中图分类号: Q78

文献标识码: A

文章编号: 1003-5125(2001)04-0309-06

收稿日期: 2000-11-29, 修回日期: 2001-04-23

作者简介: 姚智慧(1965-), 男, 山西省籍, 副研究员, 主要研究虫媒类病毒的生物学特性、分子生物学基础、预防用疫苗及其质量控制方法等。E-mail: zhyao@ht.rol.cn.net

GenBank 注册号: AF288652, AF288653

汉坦病毒属于布尼亚病毒科汉坦病毒属,在临床上引起肾综合征出血热和汉坦病毒肺综合征。肾综合征出血热临床上以发烧,出血和肾损害为主要特征,它包括朝鲜出血热,流行性出血热和流行性肾病,每年在欧洲和亚洲有近10万病例发生。自1978年李镐汪等从疫区的黑线姬鼠肺组织中分离到汉坦病毒76~118株以来,各国学者相继分离到不同型别的汉坦病毒,至少可将汉坦病毒按空斑减少中和试验(PRNT)分为9个血清型和按基因分析方法分为15个型别<sup>[1]</sup>。我国的肾综合征出血热病原(即汉坦病毒)主要为汉滩(Hantaan, HTN)型病毒和汉城(Seoul, SEO)型病毒两个型别<sup>[2]</sup>。应用PRNT进行抗原分析和血清学型别分析时发现<sup>[3,4]</sup>,分离自褐家鼠的K24株免疫血清对两型国际标准毒株的中和抗体滴度差异 $\leq 2$ 倍,无法定型,随后经已知的两型毒株的高价免疫血清对其进行PRNT中和抑制试验表明其为Seoul型,而其免疫血清对已定型的另5株Hantaan型病毒和3株Seoul型病毒均有几乎相同的中和效价或最多相差2倍,证实了K24株是一株抗原性广谱的流行性出血热病毒株<sup>[5]</sup>。汉坦病毒是单股负链RNA病毒含有L、M、S3个基因片段,长度分别约6.5kb,3.6kb,1.7kb。三个基因片段均由单一的长开放读码框架(ORF)组成,分别以病毒RNA为模板从3'~5'方向转录相对应的mRNA(5'~3'),然后翻译合成相对应的基因产物即病毒依赖于RNA的RNA聚合酶(L),包膜糖蛋白(G1和G2),病毒核壳蛋白(NP)。为研究K24株的结构特征,我们克隆了K24株M和S片段的全基因,并对其进行了序列分析比较。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞和毒株

Vero-E6细胞来自ATCC。K24毒株分离自褐家鼠,由浙江省卫生防疫站朱智勇教授提供,我室Vero-E6细胞传代保存。

### 1.2 克隆用试剂

T载体,连接酶和INV F'宿主菌株为Invitrogen产品,随机引物为Takara中国公司生产,逆转录酶和PCR相关试剂以及质粒DNA纯化试剂盒购于Promega公司。

### 1.3 引物的设计与合成

参考已知的HTN(76~118)病毒标准株,SEO(80~39,SR~11)的M片段和S片段核苷酸序列和

文献<sup>[6-8]</sup>,设计出M片段的两对引物(P1:5'-TAGTAGACTCCGCAA-3', P2:5'-AGATCTGTATGCATAGGAAC-3'; P3:5'-ATCCTCTGGGCTGCAAGTL-3', P4:5'-TAGTAGTAGACTCCGCAAGAT-3'),和用于扩增S片段的一对引物(S1:5'-TAGTAGTAGACTCCCTAAAGA-3', S2:5'-TAGTAGTAGTATGCTCCCTAA-3'),由GIBCO BRL公司合成。

### 1.4 病毒RNA的提取

病毒以0.01感染复数感染Vero-E6细胞10d左右,病毒滴度近 $10^7$ CCID<sub>50</sub>/mL,用GIBCO BRL公司的Trizol总RNA提取试剂盒,按说明书的步骤提取感染病毒的细胞总RNA,溶于无RNase的水中。

### 1.5 逆转录PCR和产物的克隆和筛选

用随机引物和Promega公司的逆转录酶合成第一链的cDNA,然后分别用P1P2和P3P4,S1S2进行35个循环的PCR,最后延伸10min。将PCR产物直接克隆Invitrogen公司的PCR 2.1载体,转化INV $\alpha$ F'宿主菌,用蓝白斑进行筛选鉴定。

### 1.6 DNA序列测定和分析

酶切和PCR鉴定正确的克隆经柱纯化后,用T7和M13公用引物和Perkin Elmer(PE)公司的BigDye™测序试剂盒反应后,在ABI PRISM™ 377DNA测序仪进行序列测定。测定的结果与GenBank中HTN型和SEO型病毒进行比较。

### 1.7 系统发生分析

应用DNATAR软件,基于核苷酸和氨基酸序列,应用J.Hein方法绘出系统发生树。

## 2 结果

### 2.1 逆转录PCR扩增和产物的克隆

经35个循环的一次性PCR我们分别得到了与理论值相符合的约2.1kb和1.7kb的产物,将未经纯化的产物直接克隆于T载体,结果转化后白斑数达70%~80%,阳性克隆率一般高达40%~60%。阳性克隆经PCR和酶切方法鉴定为正确的目的基因插入。

### 2.2 K24毒株M片段的全基因序列及其编码的氨基酸

序列测定表明K24毒株M片段的全基因序列共3652个核苷酸,四种核苷酸的比例分别为A 30.44%,T 30.14%,G 20.72%,C 18.70%,GC含量为39.42%,AT含量为60.58%。推导出其最大读码框架从47到3157,共编码将1133个氨基酸(图1)。Genbank注册号为AF288652。

```

TAGTAGTAGACTCCGCAAGAAACAGCAGTAAATAACAGCAGGATCATGTGGAGTTTGCTATTACTGGCCGCTTATAGTTGGCAAGGCTTTGCATTAAAA 100
                                     M W S L L L L L A A L V G Q G F A L K
AAATGTTTTGACATGAGAATTCACTGTCCCCTCACTCACTCACTTTGGGAAACAAGTGTGCAGGCTATACAGAAATGGCCCCACTCTCATTACAAGAGG 200
N V F D M R I Q C P H S V N F G E T S V S G Y T E L P P L S L Q E
CAGAACAGCTAGTCCAGAGAGCTCATGCAACATGGACAACCACTCACTCTCAACAATAAATAAATTAACCAAGTGTATGGCGGAAAAAAGCAAA 300
A E Q L V P E S S C N M D N H Q S L S T I N K L T K V V W R K K A N
TCAGGAATCAGCAAAACCAAAATTCATTGAAGTTGTGGAGAGTGAAGTCACTTAAAGGGTTATGTATGTTAAAGCATAGAAATGGTTGAAGAAATCATAT 400
Q E S A N Q N S F E V V E S E V S F K G L C M L K H R M V E E S Y
AGAAACAGAAGATCTGTAATCTGTTATGATCTAGCCTGTAAATAGTACATCTGTAAAGCAACTGTTACATGATTGTTCTATACATGCTTGCAACATGA 500
R N R R S V I C Y D L A C N S T F C K P T V Y M I V P I N A C N M
TGAAAGTTGTTGATTTGGCTTGTCCCTACAGAAATCAGGTTGTCTATGAAAGGACATACCTGCACTACGGGTATATTGACAGAAAGGAAATGTTTTGT 600
M K S C L I G L G P Y R I Q V V Y E R T Y C T T G I L T E G K C F V
CCCCGGCAGGCTGTGTGTCAGTGCATTGAAGAGAGGCAATGTGCATAGCAAGCATAGAGACAATCTGCTCTTTATTATCAGAAAGGGAATACATAT 700
P G K A V V S A L K R G M Y A I A S I E T I C F F I H Q K G N T Y
AAATAGTGAAGTGCATCACTCAGCAATGGGCTCCAAGTGCAATAATACAGATACTAAGGTCACAGGATATTATCTGTATTATTGGTGGAACTCTG 800
K I V T A I T S A M G S K C N N T D T K V Q G Y Y I C I I G G N S
CTCCTGTATGCCCCGCTGTGAGAGACTTATAGGCAATGGAGGTTTTTCTGGGATTATTAGCTCACCGCATGGAGAAGACCATGACCTCCTGGCGA 900
A P V Y A P A G E D F R A M E V F S G I I T S P H G E D H D L P G E
AGAAATCCGCAACATACAGATTCAAGGGCAGATAGAGGCAAAAATCCCTCATACAGTGAAGTCTAAAACCTGAAATGATTGCCTTTGACAGGATTTCCA 1000
E I A T Y Q I S G Q I E A K I P H T V S S K N L K L I A F A G I P
TCATACTCATCAACTAGTATATTGGCTGCTCAGAAGCAGGCTGTTTATATAGTCTGGTATTTCTCTAAATTAATCAAGTCACTGTGCAACA 1100
S Y S S T S I L A A S E D G R F I F S P G L F P N L N Q S V C D N
ATGCACCTCCTTTGATCTGGAGGGGCTAATGACTTAAACGGGATACTATGAGGCACTCCACCTGCAATGTTATCCGCTGTATCAGGAACAGGTC 1200
N A L P L I W R G L I D L T G Y E A V H P C N V F R V L S G P G A
TTCATGTGAAGCCTTTTCAGAGGGAGGTATTTCAACATTACTTCCAAATGTGTCTGGTGTCAAGCAAAATAGGTTAGAGCAGCTGAGCAGCAATC 1300
S C E A F S E G G I F N I T S P M C L V S K Q N R F R A A E Q Q I
AGCTTTATTTGGCAAGGGTGTATATGGATATTATAGTGTACTGTAATGGTCAAAAAGACAATAATTAACAAAACATTAGTTATAGGOCAGTGCATT 1400
S F I C Q R V D N D I I V Y C N G Q K K T I L T K T L V I G Q C I
ATACTATTACAAGTCTCTTTCACTGTACCAGGGTGGCCATTCTATTGCTAATTGAGTGTGTGTTCCAGGTTTTCAATGGCTGGCCAGCCTGCACT 1500
Y T I T S L F S L L P G V A H S I A I E L C V P G F H G W A T A A L
TTTGATCAGATTTGCTTGGATGGATGATTCTCTGATGACATGGCTATCTTTAGTCTCAAGTTTGTGGCAAAATTCCTTCAACAAGCAAT 1600
L I T F C F G W V L I P A C T L A I L L V L K F F A N I L H T S N
CAAGAGAACCGAATCAAGCCATTCTACGGAAATCAAGGAGGAGTTGAAAACCAAGGGTCCATGGTTTGTGAGATCTGTAAGTACGAGTGTGAAA 1700
Q E N R F K A I L R K I K E E F E K T K G S M V C E I C K Y E C E
CATTAAAGAAATTAAGGCACATAATTTATCATGTGTGCAAGGGAGTGCATATTTAGTCTTAAGCACTGTGAACCCAGAGAACTGCAATTCAGGCACA 1800
T L K E L K A H N L S C V Q G E C P Y C F T H C E P T E T A I Q A H
TTACAAGATTTGTCAAGCCACCCAGATTCAGAGAAGATTTAAAAGACTGTAACCTCCTCAAAATATTGGCCAGGCTGTTACCGAACATTAAATCTT 1900
Y K V C Q A T H R F R E D L L K K T V T P Q N I G P G C K T L N L
TTTAGGTATAAAGTAGGTGTTATATTCTAACAAATGGACTCTTCTCTCATTATTGAATCCATCTCTGGGGCCAGTGCAGCAAGAAATCCCTCTTG 2000
F R Y K S R C Y I L T M W T L L L I I E S I L W A A S A A E I P L
TCCCTCTCTGGACAGATAATGCTCATGGCTGGGAGTGTCTATGCATACGGATCTTGAATTAGACTTTTCTTGGCCATAGCTCTAAGTACACATA 2100
V L L D T N A H G V G S V P M H T D L E L D F S L P S S S K Y T Y
TAAAGGCATCTCAACAACCCAGTCAATGACCACAGAGTGTCTCATTCATATAGAAATGAAAGTCAAGGCATTGGTGTGATGTCACCATCTTTGGA 2200
K R H L T N P Y N D Q Q S V S L H I E I E S Q G I G A D V H H L G
CATTGGTATGATGCAAGGTTAAATCTGAAAACCTCAITCCATTTGTTATGGTGCCTGCACAAAATATCAATATCCATGGCACATGCAAAATGGCATT 2300
H W Y D A R L N L K T S F H C Y G A C T K Y Q Y P W H T A K C H F
AGAAAGATTTAGATATGAAATAGCTGGGCATGCAACCCAGGATGTCACAGGTTGGTACAGGTTGATGCTGCTGTTGATATATCTAGATCAATT 2400
E K D Y E Y E N S W A C N P D C P G V G T G C T A C G L D Q L
GAAGCCGGTAGGAAACAGCCTTAAAAATATAAGTGTAAAGATAGTAGAAAAGTGTGATGCAAGTGGTGGTGAAGAAATACCTTTGCAAAAATTTGATATG 2500
K P V G T A F K I I S V R Y S R K V C M Q F G E E Y L C K T I D M
AATGATGCTTTGTGACTAGGCATGCAAAAATATGATAATTGGGACTGTATCTAAGTTTCTCAAGGTGACACTCTACTATTTCTTGGACCCATGGAAG 2600
N D C F V T R H A K I C I I G T V S K F S Q G D T L L L F L G P N E
GAGTGGTATAATCTTAAACACTGGTGTACATCTACCTGTCACTTTGGAGACCTGGTGTGATGCTGGTCCAAAAGATAAACCATTTATTGTCTCTGA 2700
G G G I I F K H W C T S T C H F G D P G D V M G P K D K P F I C P E
AITCCAGGGCAATTCAGGAAAAATGTAACCTTTGCAACACTCCAATTTGTGAATATGATGGGAACATTATCTCAGGTTATAAGAAAGCTCTGCAACA 2800
F P G Q F R X K K C N F A T T P I C E Y D G N I I S G Y K K V L A T
ATTGATCTTTCCAATCATTAAACACAAGCAATATACACTTCACTGATGAGAGAAATGAATGGAGAGACCTGATGGTATGCTTCGGGATCATATTAATA 2900
I D S F Q S F N T S N I H F T D E R I E W R D P D G M L R D I M
TCGTTATTTCTAAAGATATTGATTTTGAAAATTTGGCTGAGAATCCTTGTAAAGTAGGGCTCCAGGCAGCAACATAGAAAGTGTCTGGGTTCAAGTGT 3000
I V I S K D I D F E N L A E N P C K V G L Q A A N I E G A W G S G V
CGGTTTACACTCAGTGCAGGCTGTCTCACAGAAATGCCCACATTTCTACGTCAATAAAGGCTGTGACATGGCAATTTGTTATGTTGGCAGAAAGT 3100
G F T L T C Q V S L T E C P T F L T S I K A C D M A I C Y G A E S
GTGACACTTTCAGAGGACAAAATACTGTGAGGATTAAGGAGTGGCCATAGTGGTCTTCAATTAATGCTGTGATGGAAAGAAATGTTTCATCAA 3200
V T L S R G Q N T V R I T G R G G H S G S S F K C C H G K E C S S
CTGGCCTCAAGCCAGTGCACACATTTGATAAAGTAAATGGTATCTCTGAGTTAGAAAACGAGAAAGTTTATGATGATGGTGCACCTGAATGTGGCT 3300
T G L Q A S A P H I S V N G I S E L E N E K V Y D D G A P E C G V
TACTTGTGGTTAAAAAATCAGGTGAATGGTATATGGTATAATCAACGGCAACTGGGTTGTCTAAATTTGTTGTTGCTGTACTCTTTCTCTT 3400
T C W F K K S G E W V M G I N G N W V V L I V L C V L L L F S L
ATCCTGTTAAGCAATTTGTCTGCTGTAGAAAGCATAAAAATCATAAATCTACCCGATTAATCTTCAACACATGTATCGAAATTTTAAAGCTTTACCAT 3500
I L L S I L C P V R K H K K S
TAAACAACCTTAACTGGCTCAATATCTAATAACTAACCTTCTTTTATTATTATTATTTGGAATAACTACTAAAATAACTCTCTCTATCTCTCAATC 3600
TTTTATTGATCAACGGGCTGTCTGTGACATCTTGGGAGTCTACT-ITA 3652
    
```

图1 K24株M片段的全基因序列及其推导的氨基酸序列

Fig.1 Complete nucleotide and deduced amino acid sequences of M segment of K24 strain



表 1 K24 株 M 片段核苷酸和氨基酸与 HTN 和 SEO 病毒的同源性比较  
Table 1 Homology of complete M segment sequences of K24 strain with HTN&SEO virus

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1 K24-e7-M	***	71.2	70.7	70.9	71.1	71.1	70.7	70.8	71.0	70.7	95.4	95.4	93.6	99.2	99.2	98.7	95.3	95.2	95.2	95.3
2 76118-M	76.9	***	84.7	84.1	99.8	99.8	84.7	95.0	99.6	94.7	71.3	71.7	71.1	71.2	71.1	70.6	71.6	71.7	71.7	71.5
3 A9-M	76.0	95.4	***	87.3	84.6	84.6	99.5	84.1	84.6	83.0	70.9	71.1	71.2	70.7	70.7	70.2	71.1	71.0	70.9	71.0
4 Z10-M	76.4	95.1	96.0	***	84.0	84.0	87.4	83.9	83.9	83.6	70.9	70.7	71.1	70.9	70.9	70.6	70.8	70.7	70.6	70.9
5 c1-1-M	76.8	99.5	95.4	94.9	***	99.9	84.7	95.1	99.7	94.7	71.3	71.7	71.1	71.1	71.1	70.5	71.6	71.7	71.7	71.5
6 c1-2-M	76.7	99.4	95.3	94.8	99.9	***	84.7	95.1	99.7	94.7	71.3	71.7	71.0	71.1	71.1	70.5	71.6	71.7	71.7	71.5
7 HV114-M	76.0	95.4	98.7	96.0	95.4	95.3	***	84.1	84.6	83.6	70.9	71.0	71.2	70.7	70.7	70.3	71.0	71.0	70.9	71.0
8 Lee-M	76.3	98.2	95.1	94.7	98.2	98.2	95.1	***	94.9	98.4	71.1	71.1	70.7	70.9	70.9	70.4	71.4	71.4	71.4	71.0
9 LR1-M	76.4	99.0	95.0	94.5	99.6	99.5	95.0	97.8	***	94.5	71.2	71.6	70.9	71.0	70.9	70.4	71.5	71.6	71.6	71.4
10 Hojo-M	75.9	97.5	94.4	94.2	97.5	97.4	94.4	98.6	97.1	***	70.9	71.0	70.7	70.7	70.8	70.3	71.3	71.3	71.4	70.9
11 Seoul8039-M	98.4	77.2	76.5	76.5	77.2	77.1	76.5	76.6	76.7	76.3	***	96.1	96.0	95.8	95.5	94.9	96.4	96.2	96.2	96.7
12 SR-11-M	98.7	77.1	76.3	76.5	77.0	76.9	76.5	76.5	76.5	76.1	98.9	***	96.0	95.5	95.4	94.9	98.1	98.0	98.0	96.5
13 Z37-M	98.9	77.0	76.4	76.4	76.9	76.8	76.4	76.4	76.5	76.0	98.9	99.2	***	93.9	95.7	95.2	95.8	95.8	95.7	96.1
14 HB55-M	99.3	76.9	76.0	76.4	76.8	76.7	76.0	76.3	76.4	75.9	98.4	98.7	99.1	***	99.5	98.9	95.3	95.4	95.4	95.5
15 L99-M	99.4	77.2	76.3	76.6	77.1	77.0	76.3	76.5	76.6	76.2	98.5	98.8	99.0	99.4	***	99.2	95.4	95.3	95.2	95.4
16 R22-M	95.9	73.8	72.9	73.3	73.7	73.6	72.9	73.3	73.3	72.9	95.0	95.2	95.5	95.9	96.1	***	94.8	94.7	94.7	94.8
17 KI-83-262-M	99.0	77.2	76.6	76.6	77.2	77.1	76.6	76.6	76.7	76.3	99.2	99.5	99.6	99.0	99.1	95.6	***	99.8	99.8	96.5
18 KI-85-1-M	98.9	77.2	76.5	76.5	77.1	77.0	76.5	76.5	76.6	76.2	99.1	99.4	99.5	98.9	99.0	95.5	99.7	***	99.8	96.4
19 KI-88-15-M	98.9	77.2	76.5	76.5	77.1	77.0	76.5	76.5	76.6	76.2	99.1	99.3	99.4	98.9	98.9	95.4	99.6	99.7	***	96.3
20 B-1-M	98.4	76.7	76.0	76.3	76.7	76.6	76.0	76.1	76.3	75.7	98.3	98.8	98.9	98.6	98.5	95.0	98.9	98.9	98.8	***

Notes: Homology of nucleotide sequences in upper triangle, homology of amino acids sequences in lower triangle.

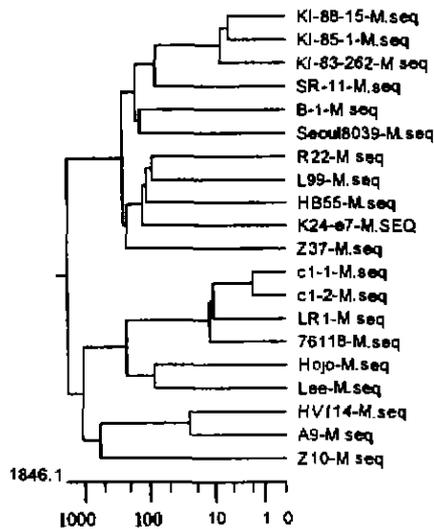


图 4 K24 株病毒 M 片段全基因的系统发生树  
Fig.4 Phylogenetic tree depend on the complete M segment nucleotide acids

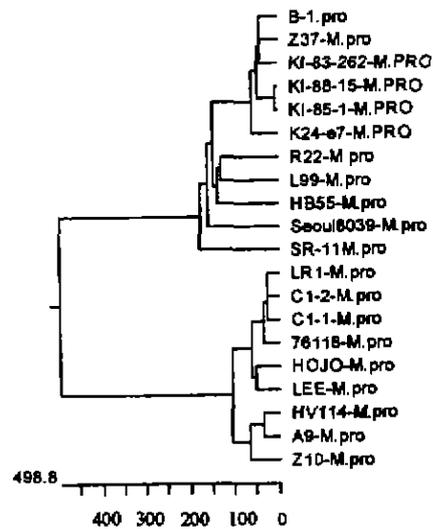


图 5 K24 株病毒 M 片段全基因的系统发生树  
Fig.5 Phylogenetic tree depend on M segment encoded amino acids

### 3 讨论

K24 株病毒序列分析结果 K24 毒株 M 片段的全基因序列共 3 652 个核苷酸, 编码 1 133 个氨基酸, S 片段的全基因序列共 1 772 个核苷酸, 编码 429 个氨基酸, 为研究 K24 株抗原特性提供了分子依据。K24 株 M 全基因片断核苷酸和氨基酸与 HTN 型毒株同源率分别为 70.7% ~ 71.2% 和 75.9% ~ 76.9%, 与 SEO 型分别为 95.2% ~ 99.2% 和 95.9% ~ 99.4%, S 片段与 HTN 76 ~ 118 和 SEO SR - 11 病毒的比较, 核苷酸同源率分别为 74.0%, 95.6%, 氨基酸同源率为 83.3%, 97.9%。与 M 片段的结果相类似。从遗传学分析可将 K24 株病毒确定为 SEO 型病毒, 与 PRNT 分型结果一致<sup>[5]</sup>。M 片段氨基酸与 SEO 型 10 个毒株存在 4 个氨基酸的替代, 这可能是 K24 毒株与其它 SEO 型毒株抗原性差异的分子基础, 对研究病毒的变异规律, 疫苗研制有实际意义。SEO 病毒株 M 片段氨基酸比较分析还发现国内 5 个毒株和国外的 6 个毒株有 5 处存在着差异, 312 位和 901 位国内毒株的 I 而国外毒株为 T 和 V, 421 位的 I → V。日本毒株 B-1 却与国内毒株相同, 1029 位的 R → K 我国的 Z37 反倒与国外毒株一致, 而 1085 位 V → I 的替代 Z37 和 B-1 株病毒又再次相

交叉替代, 这为研究 SEO 型病毒的进化提供了依据。

### 参考文献

- [1] Schnaljohn C, Hjelle B. Hantaviruses: a global disease problem. [J] *Emerging Infectious Disease*, 1997, 3(2): 95.
- [2] 宋干. 流行性出血热防治手册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998, 14.
- [3] 俞永新, 安祺, 姚智慧, 等. 用空斑减少中和试验比较流行性出血热不同毒株的抗原性 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 1991, 11(3): 162 - 164.
- [4] 俞永新, 姚智慧, 安祺, 等. 应用空斑减少中和试验对我国流行性出血热病毒进行血清学分型 [J]. *病毒学报*, 1991, 7(1): 18 - 22.
- [5] 俞永新, 姚智慧, 安祺, 等. 出血热病毒株分型和抗原性比较的进一步研究 [J]. *中国病毒学*, 1992, 7(2): 156 - 159.
- [6] Antic D, Lim B U, Kang C Y. Molecular characterization of the M genomic segment of the Seoul80-39 virus; nucleotide and amino acid sequence comparisons with other hantaviruses reveal the evolutionary pathway [J]. *Virus Res*, 1991, 19(1): 47 - 58.
- [7] Anikawa J, Lapenotiere H F, Isaacs-Connors L, et al. Coding properties of the S and the M genome segments of Sapporo rat virus: Comparison to other causative agents of hemorrhagic fever with renal syndrome [J]. *Virology*, 1990, 176: 114 - 125.
- [8] Schnaljohn C S, Jennings C B, Hay J, et al. Coding strategy of the S genome segment of Hantaan virus [J]. *J. Virol*, 1986, 155: 633 - 643.