

乙型肝炎病毒中国流行株B、C、D/C及A基因型的全基因克隆与序列分析

黄维金, 周 诚, 王佑春, 张华远, 吴 星, 梁争论, 李河民

背景资料
乙型肝炎病毒的基因型与乙型肝炎的抗病毒治疗效果和预后相关, 基因型相关的流行病学研究已被临床医生和基础研究者所重视, 而且我国已有多家单位正在研发乙型肝炎基因型检测试剂, 了解我国不同基因型的序列特点对基因型研究和试剂开发具有重要意义。

黄维金, 周诚, 王佑春, 张华远, 吴星, 梁争论, 李河民, 中国药品生物制品检定所 北京市 100050
黄维金, 在读博士, 助理研究员, 主要从事HBV、HEV及HIV的研究。

国家科技支撑计划基金资助项目, No. 2008BA154B08

作者贡献分布: 黄维金与周诚贡献均等; 此课题由王佑春、张华远及李河民设计; 研究过程由黄维金、周诚及吴星操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由梁争论与周诚提供; 数据分析由黄维金完成; 论文写作由黄维金与周诚完成。

通讯作者: 周诚, 研究员, 100050, 北京市天坛西里2号, 中国药品生物制品检定所. zhouch@nicpbp.org.cn

电话: 010-67095448

收稿日期: 2009-09-08 修回日期: 2009-09-28

接受日期: 2009-09-28 在线出版日期: 2009-10-18

Cloning and sequence analysis of complete genome of hepatitis B virus isolates of genotypes B, C, D/C and A from Chinese patients with chronic hepatitis B

Wei-Jin Huang, Cheng Zhou, You-Chun Wang,
Hua-Yuan Zhang, Xing Wu, Zheng-Lun Liang,
He-Min Li

Wei-Jin Huang, Cheng Zhou, You-Chun Wang, Hua-Yuan Zhang, Xing Wu, Zheng-Lun Liang, He-Min Li, National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050, China

Supported by: the National Key Technology R&D Program, No. 2008BA154B08

Correspondence to: Cheng Zhou, National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, 2 Tiantanxili, Beijing 100050, China. zhouch@nicpbp.org.cn

Received: 2009-09-08 Revised: 2009-09-28

Accepted: 2009-09-28 Published online: 2009-10-18

Abstract

AIM: To clone and sequence the complete genome of hepatitis sequence of hepatitis B virus (HBV) isolates of genotypes B, C, D/C and A from the sera of Chinese patients with chronic hepatitis B (CHB).

METHODS: Long-distant polymerase chain reaction (L-PCR) technique was used to amplify the complete genome of HBV isolates from Chinese patients with CHB. After the resulting amplicons were cloned into the TA vector

and sequenced, the complete sequences of HBV isolates of genotypes B, C, D/C and A were analyzed using the DNASTar and Simplot software.

RESULTS: The complete genome sequences of HBV isolates of genotypes B, C, D/C and A, which had been deposited into GenBank, were composed of 3215, 3215, 3215 and 3182 bp, respectively. A 33-bp deletion mutation at position 2853-2885 and two point mutations at positions 1762A-T and 1764G-A were observed in one of four clones of sample H3. The coexistence of wild-type and mutant HBV strains in a patient with chronic hepatitis B may provide a molecular basis for the development of drug resistance during antiviral therapy.

CONCLUSION: The complete genome sequences of HBV isolates of genotypes B, C, D/C and A are successfully cloned and can be used as reference sequences for the study of HBV in Chinese patients with chronic hepatitis B.

Key Words: Hepatitis B Virus; Genotype; Serotype; Genome

Huang WJ, Zhou C, Wang YC, Zhang HY, Wu X, Liang ZL, Li HM. Cloning and sequence analysis of complete genome of hepatitis B virus isolates of genotypes B, C, D/C and A from Chinese patients with chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(29): 2978-2983

摘要

目的: 扩增克隆乙型肝炎病毒(HBV)B, C, D/C及A基因型的全基因组, 构建不同基因型的全基因序列克隆。

方法: 从中国慢性乙型肝炎患者血清提取DNA以L-PCR技术对3.2 kb的HBV DNA进行扩增, 纯化后克隆到TA载体。对于HBV不同基因型的全基因序列利用Simplot、DNASTar(Clustal W方法的MegAlign和Phylogenetic tree)等生物软件进行分析。

结果: 克隆出我国主要存在的几种HBV DNA

同行评议者
陈建杰, 主任医师, 上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病科

全基因序列: B、C、D/C和A基因型, 包括: adr、adw、ayw血清型. B基因型(adw血清型)全基因序列长度为3215 bp, C基因型(adrq⁺血清型)为3215 bp, D/C基因型(ayw2血清型)为3215 bp, A基因型(adw血清型)为3182 bp, 均递交GenBank. 在H3样品中的4个全基因克隆中存在一个同时含有2853-2885 nt缺失突变和核心区1762A-T、1764G-A双位点突变的变异株, 表明同一个体中同时存在突变株和野生株, 可能是耐抗病毒药物的分子基础.

结论: 本研究克隆了我国有报道存在的主要基因型、血清型的HBV全基因序列, 为全面了解我国HBV基因型和血清型提供了序列资料.

关键词: 乙型肝炎病毒; 基因型; 血清型; 基因组

黄维金, 周诚, 王佑春, 张华远, 吴星, 梁争论, 李河民. 乙型肝炎病毒中国流行株B、C、D/C及A基因型的全基因克隆与序列分析. 世界华人消化杂志 2009; 17(29): 2978-2983
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2978.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)为DNA病毒, 基因组长约3.2 kb^[1], 目前报道的基因型(genotype)有A-H 8种^[2-6], 血清型(serotype)有9种. 全基因序列差异在8%以上作为基因型的划分依据, 目前研究表明乙型肝炎感染的临床表现、预后以及对药物的敏感性与HBV的基因型有关^[7-12], 血清型的划分主要是根据S区抗原决定簇(a决定簇)的序列和性质不同划分, 决定了HBV表面抗原的抗原性差异, 在临床血清学诊断试剂的评价中要求对不同的血清型试剂均能达到一定的灵敏度^[13], 因此HBV血清型和基因型的研究对流行病学、临床医学研究深入开展具有一定的意义. 本研究得到了我国主要流行的几种基因型与血清型的全基因克隆和序列, 作为我国基因型与血清型研究的参考序列.

1 材料和方法

1.1 材料 血清为未经抗病毒治疗的慢性乙型肝炎患者的血清, 经过进口试剂(Ortho, Abbott)检测, HBsAg均为阳性, 科华HBV核酸PCR定量检测试剂检测HBV DNA阳性, 使用前-20℃保存.

1.2 方法

1.2.1 引物设计: 扩增HBV全基因引物参考Gunther^[14]的引物: P1: CCGGAAAGCTTGA GCTCTTCTTTTTCACCTCTGCCTAATCA (1821-1841); P2: CCGGAAAGCTTGAGCTCTT

CAAAAAGTTGCATGGTGCTGG(1823-1806). 全基因测序引物由宝生物公司根据通用引物首次测序结果设计合成.

1.2.2 乙型肝炎全基因组的扩增: 50 μL PCR反应体系为: 10×PCR Buffer 5 μL, 25 mmol/L MgCl₂ 4 μL, 2.5 mmol/L dNTP 5 μL, Ex-Taq DNA polymerase 1 μL(5 U), H₂O 29.4 μL, Template 5 μL. PCR条件为: 预变性94℃ 1 min, 循环: 94℃ 1 min变性, 52℃ 1 min退火, 72℃ 3 min延伸, 每10个循环后延伸时间增加2 min, 共30循环, 最后延长72℃ 10 min.

1.2.3 乙型肝炎全基因组的克隆、鉴定: 原平皓公司的玻璃奶法胶回收试剂盒回收PCR扩增产物, 按照说明书操作, 将纯化产物连接到pGEM-Teasy载体(Promega公司), 酶切鉴定阳性克隆.

1.2.4 核苷酸序列测定与比较分析: 阳性克隆送大连宝生物公司测序, 测序结果用DNASTar、Simplot软件分析, 本研究所用的HBV全序列数据为: 基因型A: X70185、AJ309370、AB064314、M57663; 基因型B: AF121244、AF121249、AF282917、D23678、D23679、X98077、AB010289、AB073850; 基因型C: AB014378、AB014393、AF068756、AF223960、AF458664、D23683、AF241411、AY040627; 基因型D: AF121239、AF121242、AJ344116、X97848、Y07587、M32138、X85254; 基因型E: AB032431、X75657、X75664; 基因型F: AF223962、AF223964、AF223965; 基因型G: AB056513、AF405706; 基因型H: AY090454、AY090460; D/C重组: AY057948-Tibet. 测序结果递交美国生物信息学中心的核苷酸序列数据库GenBank.

2 结果

2.1 HBV全基因克隆的构建 本项研究从6例慢性HBV感染者血清内共获得13株HBV DNA全基因组基因序列, 均在GenBank中注册. 其GenBank登录号以及全基因组的核苷酸序列长度以及基因型血清型情况见表1.

2.2 全基因克隆的序列分析 将获得的全基因序列与GenBank数据库中的序列利用DNASTar软件进行比较, 不同克隆与已知基因型序列间的同源性见表2, 以8%为标准划分基因型, H1、H2、H3与C基因型(3.2%-5.9%)、H4与A基因型(0.7%-4.8%)、H5与B基因型(1.0%-4.2%)、H6/H8与C基因型的差异最小(1.6%-5.4%), 分别

研发前沿
HBV不同基因型与临床预后、抗病毒治疗效果和耐药性等相关性的流行病学研究以及基因型诊断试剂为当前乙型肝炎研究中的两个热点.

相关报道

目前INNO-LiPA HBV Genotyping 试剂已经通过了CE认证,正逐步为临床和实验室医生用于临床样品的检测工作.我国自行研制的HBV分型试剂目前正在某些临床实验室中进行评价和初步应用.

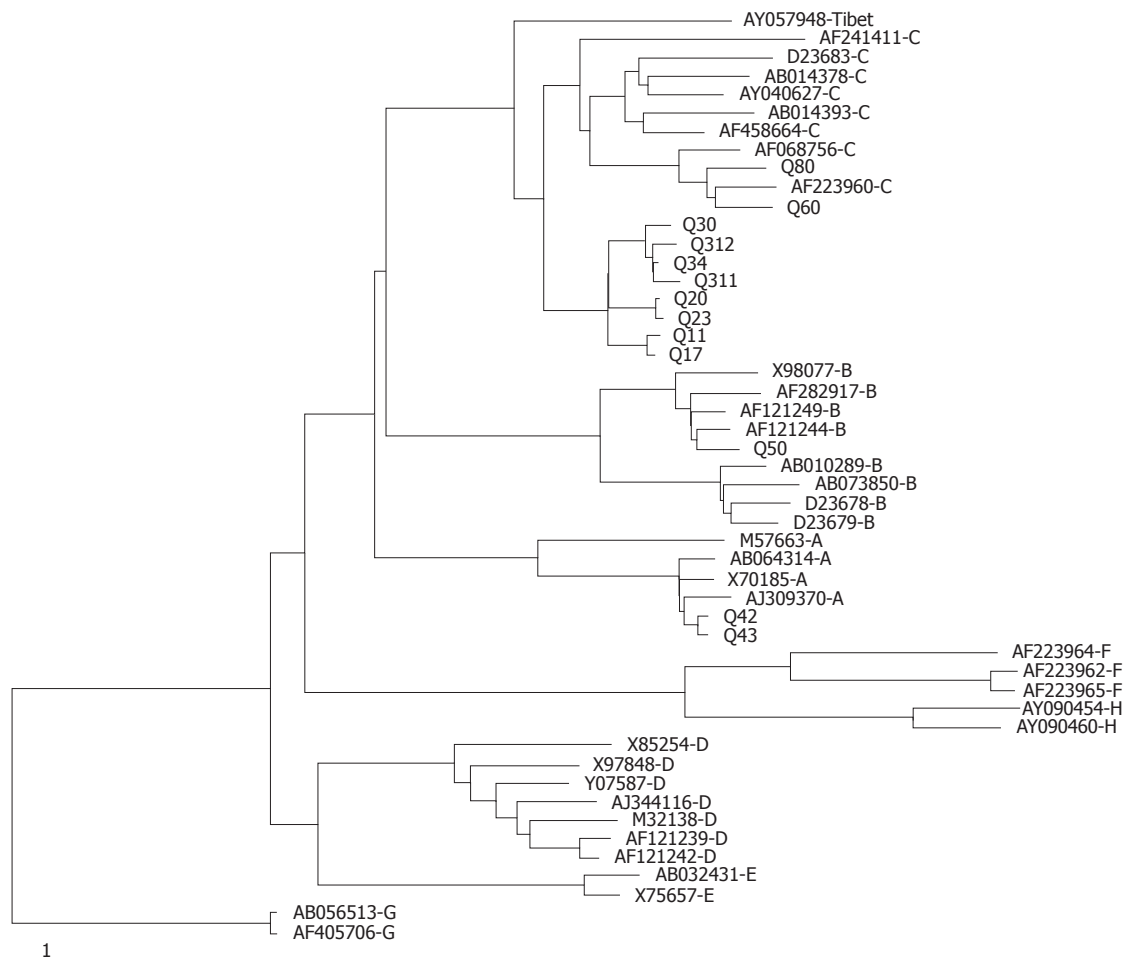


图1 以全基因核苷酸序列为基础构建的进化树图.

归为相应的基因型,与其他基因型的差异均大于8%.全基因序列的进化树分析结果见图1.来自H1、H2、H3的克隆在C基因型簇,但是位于C的分支外,经过分析为D/C重组基因型^[15],与AY057948的进化关系最近,AY057948为我国西藏地区的一株D/C基因重组株^[16];H4样品的Q42和Q43均划入A基因型簇,为A基因型;H5的Q50划入B基因型簇,为B基因型;利用Simplot软件分析^[17](图2),结果显示该B基因型序列符合我国流行株的特点,为Ba亚型,在preC和C区与C基因型相似性最高,其他区均与B基因型的相似性最高,即B/C基因型重组. H6的Q60和H8的Q80克隆划入C基因型簇,为C基因型.

2.3 全基因克隆的S区氨基酸序列分析 将获得的全基因克隆序列的S区翻译为氨基酸,氨基酸序列经比较分析,根据122Lys/Arg决定d/y特异性,160Lys/Arg决定w/r特异性,根据a127为Pro、Thr、Leu时分别为w1/w2、w3、w4; ayw1和ayw2的区别在五个位置: 134为Phe或Tyr, 143为Thr或Ser, 159为Ala或Gly, 161为Tyr或Phe, 168

表1 构建的3株全基因克隆的血清型、基因型和GenBank号

样品编号	全基因克隆编号	血清型	基因型	GenBank号
H1	Q11	ayw2	D/C	AY862860(3215 bp)
	Q17			AY862861(3215 bp)
H2	Q20	ayw2	D/C	AY862862(3215 bp)
	Q23			AY862863(3215 bp)
H3	Q30	ayw2	D/C	AF461043(3215 bp)
	Q34			AY862864(3182 bp)
	Q311			AY862865(3215 bp)
	Q312			AY862866(3215 bp)
H4	Q42	adw	A	AY862867(3221 bp)
	Q43			AY862868(3221 bp)
H5	Q50	adw	B(Ba)	AF479684(3215 bp)
H6	Q60	adrq ⁺	C	AF473543(3215 bp)
H8	Q80	adrq ⁺	C	AY862869(3215 bp)

为Val或Ala; q⁺/q⁻以159位置为Ala或Val来区别,推测出各个克隆的血清型^[2](表1).

2.4 H3样品准种的分析 在进行序列比较过程中发现, H3样品的2个克隆(Q30、Q34)中有1个存

表 2 不同标本的全基因序列与A-H基因型的异源性 (%)

Genotype	A	B	C	D	E	F	G	H
H1	8.8-9.2	8.6-10.2	3.2-5.5	9.1-10.1	10.3-10.8	14.5-14.8	12.9-13.0	14.5-15.0
H2	8.9-9.3	8.5-9.8	3.3-5.0	9.2-10.0	10.3-10.8	14.6-14.7	13.1-13.2	14.7-15.0
H3	8.8-9.4	8.7-10.4	3.3-5.9	9.1-10.2	9.9-11.0	14.3-15.3	12.3-13.2	14.3-15.5
H4	0.7-4.8	8.5-10.2	8.6-10.2	10.1-10.8	10.2-10.6	14.8-15.6	11.8	15.0-15.1
H5	9.8-10.1	1.0-4.2	8.9-10.0	11.2-12.1	11.7-11.9	15.4-15.5	13.6-13.7	15.8
H6/H8	9.3-9.9	8.7-10.4	1.6-5.4	10.6-11.4	11.0-11.6	15.1-15.5	13.3-13.4	14.7-15.4

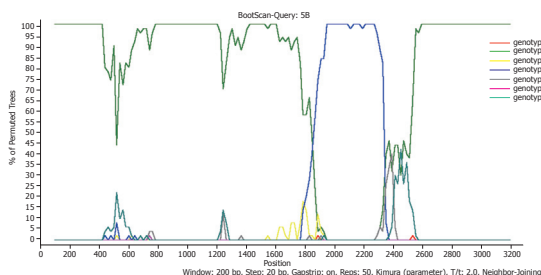


图 2 Simplot 软件对Q50重组位点分析.

在缺失(Q34), 对缺失部位再次测序, 表明测序无错误; 对H3样品再次PCR克隆, 挑选2个阳性克隆(Q311、Q312)测序, 结果无缺失. Q34的缺失类似D基因型, 位置在2853-2885 nt, 另外, 对一些常见的突变位点1762、1764、1896及YMDD部位进行分析, 发现Q34存在核心区的1762A-T和1764G-A双位点突变, 未见其他克隆存在变异情况. 4个克隆之间也有0.5%-0.8%的差异, 在同一血清中存在不同序列特征的HBV病毒株显示了HBV以种群存在的特点, 即HBV的准种. 对该缺失株序列分析, 显示在缺失部位前后有长度为7个核苷酸的重复序列(GCATGGG), 该缺失特征类似于HBV D基因型的缺失部位(2855-2887 nt). 图3为Q34缺失部位的序列比较, 方框部分为重复序列.

3 讨论

HBV的基因型分布具有一定的地域性差异, 在同一地区流行的某一基因型具有相同的特点, 如缺失或其他突变, 显示了HBV的遗传稳定性. 我国HBV基因型以B和C基因型为主, 另有少量D和A基因型. 在西藏自治区和新疆维吾尔自治区的研究^[18-19]表明该地区以D基因型为主. 上海的研究^[20]则是: A基因占1.4%, B基因占17.2%, C基因型占81.4%. 地域分布性还表现在同一基因型亚型间, B基因型分为Ba(有重组)和Bj(无重组)2个亚型^[21], Ba主要分布在中国、印尼等. 本研究得到的B基因型序列符合我国的流行特征, 为Ba亚型;

我国D基因型中以 D/C基因重组为主^[15-16], 本研究得到的D基因型即为D/C重组株; 本研究得到的C基因型也符合我国流行特征, 与我国的序列同源性最高; 目前我国有A基因型的流行病学报道^[20], 但A基因型的全基因序列报道, 本研究尚属首次, 序列分析发现其不具有特异性, 与国外的A基因型序列的异源性仅为0.7%-4.8%, 可能是由国外输入的一种基因型. 本研究构建的全基因克隆涵盖了我国流行的主要基因型和血清型, 具有一定的代表意义, 是对我国HBV基因型、血清型等资料的补充.

Morozov *et al*^[22]指出, 使用重叠PCR扩增进行HBV全基因组分析, 发现的重组有可能是标本为不同基因型混合感染造成的假象, 拼接的序列可能来自2个病毒株, 本研究采用的全基因组的扩增, 确保来自一个病毒株, 比分段扩增的方法得到的全基因序列更准确, 更能反映HBV的遗传学特征. HBV的基因型研究具有重要的流行病学意义, 与临床表现、预后和药物的敏感性等都有关系, 有必要建立中国不同基因型的序列资料库, 进而研究我国不同基因型HBV在致病性上的差异, 以及不同基因型HBV与预后的相关性等问题, 故建立各基因型HBV全基因组克隆和序列分析具有重要意义. 由于基因重组的存在, 在选择和设计分型方法的时候一定要考虑重组的问题, 将分型针对的靶位点设计在重组区段外或选择多个区段, 这样对B和D基因型的流行病学研究才能更加准确. 本研究构建的全基因序列可作为分型试剂的参考序列, 检测其划分不同基因型准确与否, 以及能否如实反映重组情况等.

成军 *et al*对HBV准种的研究表明来源于同一个患者不同病毒株的HBV 基因序列存在一定变异率, 不仅仅是个别核苷酸或氨基酸残基序列的差别而且还有大段的缺失、插入和无义突变等几乎所有的基因突变形式^[23-25]. 本研究在同一标本中分离的不同HBV克隆即存在一定的变

应用要点

本研究证实, 目前我国的D基因型多为DC重组, B基因型为BC基因重组, 在基因型的流行病学研究和分型方法的研发过程中应特别注意分型目的序列的选择, 如选择在重组区段, 将产生不准确的分型结果.

同行评价
本研究具有一定
科学性, 且有较强
的科研、临床实
用性。

		*	2900	*	2920	*	2940	*	2960
X70185-A	:		A	A	C			C	
AB064314-A	:		A	A	C			C	
Q42	:		A	A	C			C	
Q43	:		A	A	C			C	
AB073850-B	: T		-	-		A	C		C
AF121249-B	: T		-	-		A	C		C
Q50	: T		-	-		A	C		C
AB014378-C	:		-	-	C				
AB014393-C	:		-	-	C				
D23683-C	:		-	-	C				
AY057948-T	:		-	-	C				
Q60	:		-	-	C				
Q11	:		-	-	C				
Q17	:		-	-	C				
Q20	:		-	-	C				
Q23	:		-	-	C				
Q30	:		-	-	C				
Q34	:		-	-	C				
Y07587-D	:	-	C	-	-	A	CACCAG		
X97848-D	:	-	C	-	-	A	CACCAG		
X85254-D	: T	-	C	-	-	A	CACCAG		
AB032431-E	:	T	-	C	-	A	CACCA		
X75657-E	:	T	-	C	-	A	CACCA		
AF223962-F	:		CACCTCTC	A	G - AA	GG	ACA	C	G
AF223964-F	:		CACCTCTA	A	G -	GG	ACA	C	A
AF223965-F	:		CACCTCTC	A	G - AA	GG	ACA	C	G
AB056513-G	: T		-	C	-	GG	GGT	C	TCTCGA
AF405706-G	: T		-	C	-	GG	GGT	C	TCTCGA
AY090454-H	: A		CACCTCTC	A	GG-	GA	GG	ACA	C
AY090460-H	:		CACCTCTC	A	GG-	GA	GG	ACA	C

AGCTACAGCATGGGAGGTTGGTCTTCCACAACCTCGAAAAGCATGGGACGAATCTTTCTGTCCCAATCCTCTGGGAT

图3 Q34株缺失突变部位的序列比较。

异, 但变异不大, 保持了一定的种群稳定性, 我们也注意到在血清H3中发现了一个变异较大, 而且具有一定临床意义的变异与野生株共存的情况, 即同时存在基本C区启动子(BCP)的野生株与BCP区1762A-T和1764G-A双位点突变株, 该变异导致C区启动子(CP)活性下降, 在转录水平上可使e抗原表达下调, 有利该变异株逃避宿主免疫清除, 可能为乙型肝炎患者接受干扰素和拉米夫定等核苷类似物治疗后选择出现的一种变异^[26-27], 这不仅说明HBV的种群存在特点, 而且表明在同一个体感染的病毒种群中, 可能存在具有临床意义的个别变异克隆, 在临床用药后即会出现该变异克隆的选择性增加。同时Q34在前S区存在一个比较大的缺失, 该克隆为D/C基因重组序列, S区为D基因型, 其他区段更多地表现为C基因型的序列特点, 但其前S区存在的这一缺失突变类似于D基因型的序列特点, 这些具有一定同源性基础上的变异亦表明了HBV的准种特性。

4 参考文献

- Sninsky JJ, Siddiqui A, Robinson WS, Cohen SN. Cloning and endonuclease mapping of the hepatitis B viral genome. *Nature* 1979; 279: 346-348
- Norder H, Hammas B, Löfdahl S, Couroucé AM, Magnius LO. Comparison of the amino acid sequences of nine different serotypes of hepatitis B surface antigen and genomic classification of the corresponding hepatitis B virus strains. *J Gen Virol*

1992; 73 (Pt 5): 1201-1208

- Okamoto H, Tsuda F, Sakugawa H, Sastrosoewignjo RI, Imai M, Miyakawa Y, Mayumi M. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J Gen Virol* 1988; 69 (Pt 10): 2575-2583
- Stuyver L, De Gendt S, Van Geyt C, Zoulim F, Fried M, Schinazi RF, Rossau R. A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness. *J Gen Virol* 2000; 81: 67-74
- Vieth S, Manegold C, Drosten C, Nippraschk T, Günther S. Sequence and phylogenetic analysis of hepatitis B virus genotype G isolated in Germany. *Virus Genes* 2002; 24: 153-156
- Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnius LO. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol* 2002; 83: 2059-2073
- Sugauchi F, Chutaputti A, Orito E, Kato H, Suzuki S, Ueda R, Mizokami M. Hepatitis B virus genotypes and clinical manifestation among hepatitis B carriers in Thailand. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 671-676
- Kobayashi M, Arase Y, Ikeda K, Tsubota A, Suzuki Y, Saitoh S, Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N, Someya T, Matsuda M, Sato J, Kumada H. Clinical characteristics of patients infected with hepatitis B virus genotypes A, B, and C. *J Gastroenterol* 2002; 37: 35-39
- Kao JH. Hepatitis B viral genotypes: clinical relevance and molecular characteristics. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 643-650
- Sánchez-Tapias JM, Costa J, Mas A, Bruguera M, Rodés J. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology* 2002; 123: 1848-1856
- Akuta N, Suzuki F, Kobayashi M, Tsubota A, Suzuki Y, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M,

- Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. The influence of hepatitis B virus genotype on the development of lamivudine resistance during long-term treatment. *J Hepatol* 2003; 38: 315-321
- 12 Tsubota A, Arase Y, Ren F, Tanaka H, Ikeda K, Kumada H. Genotype may correlate with liver carcinogenesis and tumor characteristics in cirrhotic patients infected with hepatitis B virus subtype adw. *J Med Virol* 2001; 65: 257-265
- 13 中国生物制品标准化委员会. 中国生物制品规程. 北京: 化学工业出版社, 2000: 572-574
- 14 Günther S, Li BC, Miska S, Krüger DH, Meisel H, Will H. A novel method for efficient amplification of whole hepatitis B virus genomes permits rapid functional analysis and reveals deletion mutants in immunosuppressed patients. *J Virol* 1995; 69: 5437-5444
- 15 黄维金, 张华远, 王佑春, 林京香, 吴星, 周诚, 李河民. 乙型肝炎病毒全基因克隆及序列分析发现 - D/C 基因型重组株. 中华微生物学和免疫学杂志 2003; 23: 418-422
- 16 Cui C, Shi J, Hui L, Xi H, Zhuoma, Quni, Tsedan, Hu G. The dominant hepatitis B virus genotype identified in Tibet is a C/D hybrid. *J Gen Virol* 2002; 83: 2773-2777
- 17 Lole KS, Bollinger RC, Paranjape RS, Gadkari D, Kulkarni SS, Novak NG, Ingersoll R, Sheppard HW, Ray SC. Full-length human immunodeficiency virus type 1 genomes from subtype C-infected seroconverters in India, with evidence of intersubtype recombination. *J Virol* 1999; 73: 152-160
- 18 范金水, 庄辉, 李远贵, 朱晓洁, 徐德忠, 马为民, 王跃民, 陈雅洁, 娄国强, 马廷贤. 我国8城市HBsAg阳性和阴性乙型肝炎病毒患者的病毒血清型和基因型分析. 中华微生物学和免疫学杂志 1998; 18: 88-92
- 19 姚刚, 章廉, 包立华. 乙型肝炎病毒基因型测定. 西北国防医学杂志 2001; 22: 301-303
- 20 Ding X, Mizokami M, Yao G, Xu B, Orito E, Ueda R, Nakanishi M. Hepatitis B virus genotype distribution among chronic hepatitis B virus carriers in Shanghai, China. *Intervirology* 2001; 44: 43-47
- 21 Sugauchi F, Orito E, Ichida T, Kato H, Sakugawa H, Kakumu S, Ishida T, Chutaputti A, Lai CL, Gish RG, Ueda R, Miyakawa Y, Mizokami M. Epidemiologic and virologic characteristics of hepatitis B virus genotype B having the recombination with genotype C. *Gastroenterology* 2003; 124: 925-932
- 22 Morozov V, Pisareva M, Groudinin M. Homologous recombination between different genotypes of hepatitis B virus. *Gene* 2000; 260: 55-65
- 23 成军, 董菁, 刘妍, 李莉, 斯崇文, 王勤环, 张玲霞, 陈菊梅. 乙型肝炎病毒准种研究的临床意义. 世界华人消化杂志 2002; 10: 209-211
- 24 董菁, 成军, 王勤环. 慢性乙型肝炎患者体内乙型肝炎病毒准种特点的初步研究. 中华内科杂志 2000; 39: 838-839
- 25 董菁, 成军, 王勤环, 皇甫竞坤, 施双双, 张国庆, 洪源, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒DNA序列异质性及准种特点的研究. 中华医学杂志 2002; 82: 81-85
- 26 Wai CT, Chu CJ, Hussain M, Lok AS. HBV genotype B is associated with better response to interferon therapy in HBeAg(+) chronic hepatitis than genotype C. *Hepatology* 2002; 36: 1425-1430
- 27 Kao JH, Wu NH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotypes and the response to interferon therapy. *J Hepatol* 2000; 33: 998-1002

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》被收录情况

本刊讯 《世界华人消化杂志》被国际权威检索系统美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBase/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》收录. 国内为中国科技论文统计与分析(科技部遴选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》2008年版内科学类的核心期刊、中国学术期刊文摘、中国生物医学文献光盘数据库、中文科技资料目录医药卫生、解放军医学图书馆CMCC系统、中国医学文摘外科学分册(英文版)、中国医学文摘内科学分册(英文版)收录. (科学编辑: 李军亮 2009-10-18)