

· 临床论著 ·

柯萨奇病毒 A16 型 VP1 基因

和病毒生物物理学分析

刘杨¹ 郭春艳¹ 张西嫔² 郑利茹¹ 赵向绒¹ 郭华¹ 胡军¹

【摘要】目的 分析柯萨奇病毒 A 组 16 型 (CoxA16) 西安分离株 VP1 基因序列, 探讨西安分离株基因亚型以及病毒颗粒的生物学特性。 **方法** 采集临床诊断为手足口病患儿的粪便标本, RT-PCR 方法检测粪便标本, CoxA16 核酸检测阳性的粪便标本经处理后接种于 RD 细胞分离病毒。扩增 CoxA16 分离株 VP1 基因序列并测序。利用 DNA Man、ClustalX 1.83 和 MEGA 4.0 软件分析 VP1 基因和氨基酸序列。纯化 CoxA16 病毒颗粒, 福尔马林灭活后电镜观察病毒颗粒的形状。 **结果** 成功从粪便标本中分离 CoxA16 病毒株, 并获得 CoxA16 分离株 VP1 基因序列, 该核苷酸编码区序列长度为 891 bp, 编码 297 个氨基酸序列; VP1 基因比对显示, 该分离株与其他不同地区的代表株核苷酸和氨基酸同源性分别为 76.76% ~ 97.57% 和 92.16% ~ 100.0%; 种系进化分析显示分离株属于 B1a 基因亚型的一个分支, 与 BJ10-03 同属一个分支。透射电镜下病毒颗粒为 20 面体立体对称, 病毒颗粒大小均匀, 直径为 20 ~ 30 nm。 **结论** 西安 CoxA16 分离株属于 B1a 基因亚型, 分离株在形态上与其他肠道病毒相似。

【关键词】 手足口病; 柯萨奇 A 组 16 型; 种系发生树

Characterization of the VP1 region and biophysics of Coxsackievirus A16 Liu Yang¹, Guo Chunyan¹, Zhang Xipin², Zheng Liru², Zhao Xiangrong¹, Guo Hua¹, Hu Jun¹. ¹The Central Laboratory, ²Department of Paediatrics, The People's Hospital of Shanxi Province, Xi'an 710068, China
Corresponding author: Hu Jun, Email: hjj6562@163.com

【Abstract】Objective To analyze the characteristics of VP1 gene sequences of Coxsackievirus A16 (CoxA16) isolated from Xi'an in Shanxi Province People's Hospital in 2011, and to identify the genotypes and investigate the virus biophysics of the CoxA16. **Methods** The stool samples were collected from children with hand, foot and mouth diseases (HFMD) in our hospital, and all of the stool samples were tested by RT-PCR. In order to obtain CoxA16 strains, CoxA16 positive samples were isolated by RD cell line. The nucleotide sequences of CoxA16 strain's VP1 were amplified and sequenced, then the nucleotide and amino acid sequences of CoxA16 strain's VP1 were analyzed by DNA Man, ClustalX 1.83 and MEGA 4.0. The CoxA16 virus particles were purified by ultracentrifugation, and the virus particles inactivated with formalin were analyzed by transmission electron microscopy (TEM). **Results** CoxA16 strain was isolated from stool samples successfully, and the genome of VP1 region had 891 nucleotides in length and encoded for 297 amino acids. VP1 gene comparison showed that the rates of homology of nucleotides and amino acids were 76.76%-97.57% and 92.16%-100.0%, respectively, when compared with other reference strains from different regions. Phylogenetic analysis showed that CoxA16 isolates strain of Xi'an was subgenotype B1a, which was closely related to BJ10-03 strain. TEM analysis showed that CoxA16 strain were the icosahedral structure, and the diameters of CoxA16 strain were approximately 20-30 nm. **Conclusions** CoxA16 in Xi'an isolates strain was subgenotype B1a, and the biophysical characterization of CoxA16 virus particles were very similar to enterovirus of the piconaviridae family.

【Key words】 Hand, foot and mouth disease; Coxsackievirus A16; Phylogeny

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2015.02.007

基金项目: “传染病监测技术平台”项目 (No. 2013ZX10004202-001-002)

作者单位: 710068 西安市, 陕西省人民医院中心实验室¹、儿科²

通讯作者: 胡军, Email: hjj6562@163.com

手足口病是由肠道病毒引起的感染性疾病, 1957年首次在新西兰报道, 5岁以下儿童普遍易感。柯萨奇病毒A组16型(CoxA16)和肠道病毒71型(EV71)是导致手足口病的主要肠道病毒, 该肠道病毒属于小RNA病毒, 基因组是7.4 kb单股正链RNA, 基因组包含一个开放的编码框架(open reading frame), ORF分别编码4个结构蛋白(VP1、VP2、VP3和VP4)和7个非结构蛋白(2A、2B、2C、3A、3B、3C和RNA依赖的RNA聚合酶3D)。其中VP1是病毒表面的衣壳蛋白, 具有中和表位, 也是用于病毒分型的主要依据。本研究基于CoxA16分离株VP1序列进行分析, 现报道如下。

资料与方法

一、粪便标本采集和RT-PCR检测

采集2011年6月~10月本院儿科手足口病患儿的粪便标本。对粪便标本进行病毒核酸RNA提取(采用QIAamp Virus RNA Mini Kit)。病毒核酸RNA逆转录反应(Fermentas公司试剂盒), 逆转录步骤均按照试剂盒说明书实行。用引物CoxA16-S(上游): 5'-ATTGGTGCTCCCACTACAGC-3'和CoxA16-A(下游): 5'-TCAGTGTGTCAGCTGTAGG-3'。PCR检测CoxA16(PCR试剂购于Promega, USA)。条件为95℃预变性5 min、95℃变性30 s、52℃退火30 s、72℃延伸45 s循环35次, 72℃延伸10 min。取产物8 μl, 用2.0%的琼脂糖凝胶电泳鉴定。

二、CoxA16病毒分离和大量培养

在生物安全柜中, 取约2 g粪便标本加入10 ml含双抗的PBS中, 使用机械振荡器剧烈震荡30 min, 制成标本悬液。然后10 000 r/min, 离心20 min(离心半径 $r = 10$ cm)。在生物安全柜中收获上清并用0.22 μm无菌滤器过滤至3个冻存管中, 一份用于核酸检测, 一份用于接种, 另一份保存。取经RT-PCR鉴定为CoxA16病毒阳性的粪便标本预处理液0.2 ml接种于RD细胞(陕西省疾病预防控制中心惠赠), 置35℃、5% CO₂的细胞培养箱中培养。每天观察细胞病变, 当病变达4(+)时收取病毒培养上清继续接种二代细胞。一代培养7 d后仍无CPE的则继续盲传二代。若两代均无CPE时判为病毒分离培养阴性。在细胞培养瓶(75 cm²)中用生长液培养RD细胞, 生长液为DMEM/F12(1:1)(购于Hyclone)、包含5%胎牛血清。当RD细胞长至致密单层时弃掉生长液, 换成维持液(DMEM/F12

1:1、1%胎牛血清)。接种CoxA16病毒阳性分离上清0.5 ml, 置于35℃、5% CO₂的细胞培养箱中培养, 每天用倒置显微镜观察细胞形态, 当CPE达到75%~95%时收获病毒培养上清, 将收获的病毒上清3 000 r/min、离心20 min, 取上清分装成3份, 一份冻存为病毒种子, 一份用于CoxA16病毒核酸提取, 一份再次接种RD细胞大量培养。

三、CoxA16分离株VP1基因扩增和测序

提取CoxA16分离株的RNA, 用CoxA16-VP1-S: 5'-ATTGGTGCTCCCACTACAGC-3'和CoxA16-VP1-A: 5'-GCTGTCCTCCACACAAGAT-3'(引物序列由中国疾病预防控制中心病毒病研究所提供)引物RT-PCR扩增VP1基因全序列, 条件为95℃预变性5 min, 95℃变性45 s, 55℃退火45 s, 72℃延伸90 s循环35次, 72℃延伸10 min, 用琼脂糖凝胶回收试剂盒(QIAEX II Gel Extraction Kit)纯化RT-PCR产物, 纯化步骤按照试剂盒手册进行操作。链接pMD18-T载体(TaKaRa), 转化入感受态DH5α, 将转化后的DH5α菌均匀涂入LB琼脂培养板中, 置于37℃的生化培养箱中培养8 h, 挑取白色单克隆菌斑, 摇床培养6 h, 收获菌液, 提取质粒并将质粒送往生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

四、氯化铯密度梯度离心纯化病毒抗原

收获CoxA16病毒细胞培养上清, 反复冻融3次, 3 000 r/min离心、20 min, 收获上清, 并将上清用0.45 μm的滤膜过滤, 用100 K的离心管10倍浓缩病毒上清。依次向超速离心管CP40(Hitachi)中加入重氯化铯(密度为1.45 g/ml)、轻氯化铯(密度为1.19 g/ml)和病毒上清浓缩液。20 000 r/min、7℃离心3 h(Hitachi超速离心机)。离心完成后, 收获白色病毒层, 并将病毒纯化产物溶解于pH 7.4 PBS溶液中。

五、透射电镜观察CoxA16病毒颗粒的形状

福尔马林与病毒纯化产物以1/4 000(V/V)的比例混合, 在37℃、3 d的条件下灭活病毒。灭活后的CoxA16病毒颗粒滴入铜网上, 静置15 min, 用滤纸吸取多余的病毒液, 向铜网上滴加2%磷钨酸溶液, 负染15 min后烤干铜网, 置于电镜上观察病毒颗粒的形态(Hitachi H-600)。

六、统计学处理

使用DNA Man软件进行多重基因序列比对, ClustalX 1.83和MEGA 4.0软件构建种系发生树(Bootstrap = 1 000)。

结 果

一、采集标本 RT-PCR 检测和病毒分离培养

采集的30份粪便标本中,经RT-PCR检测,20份为EV71阳性,5份CoxA16阳性。5份CoxA16粪便标本分离出1株病毒,命名为SX/EV-1/CA16/2011,收获病毒培养上清,保存于-70℃。

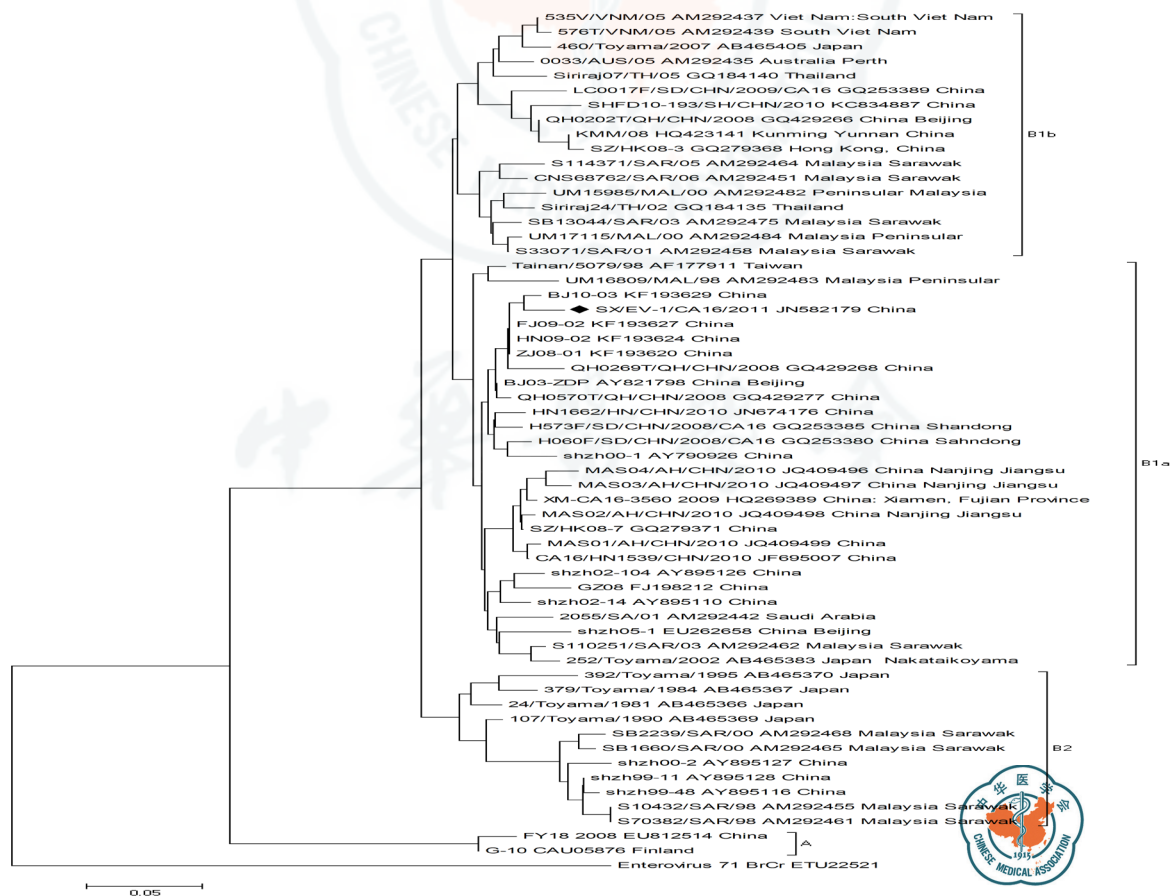
二、CoxA16 分离株 VP1 编码区核苷酸和氨基酸序列同源性分析

pMD18-T-VP1 测序结果显示, CoxA16 分离株 VP1 扩增片段为 1 110 bp, 其中 VP1 编码区为 891 bp, 编码 297 个氨基酸。与 GenBank 下载 CoxA16 各型代表株 VP1 序列进行核苷酸和氨基酸序列同源性分析, 见表 1。结果显示, 该分离株与其他不同地区的代表株核苷酸和氨基酸同源性分别为 76.76% ~ 97.57% 和 92.16% ~ 100.0%。CoxA16 分离株与 B1b 基因亚型相比, 核苷酸和氨基酸同源性分别为 90.57% ~ 93.6% 和 98.65% ~ 100.0%, 与 B1a 基因亚型相比同源性最高, 核苷酸和氨基酸

同源性为 92.93% ~ 97.57% 和 98.65% ~ 100.0%, 提示 CoxA16 分离株与 B1a 基因亚型亲缘关系较近。与 B2 基因亚型相比, 核苷酸和氨基酸同源性为 88.33% ~ 91.02% 和 98.92% ~ 99.66%。与 CoxA16 原型株 G-10 相比同源性较低, 核苷酸和氨基酸同源性为 77.30% 和 93.24%, 提示与 G-10 亲缘关系较远。

三、种系进化树分析

利用 CoxA16 的 VP1 编码区核苷酸序列, 将 CoxA16 分离株与各基因型以及基因亚型的 CoxA16 代表株共同构建种系进化树(见图 1)。进化树分析显示, CoxA16 病毒株主要分为 A 和 B 两大基因型。FY18(中国, 2008 年)和 G-10(芬兰, 1951 年)属于 A 基因型, B 基因型又分为 B1 和 B2 基因亚型, 从进化树上可见, B2 基因型由 1981 至 2000 年的中国、马来西亚和日本 CoxA16 病毒株组成, 而在 2000 至 2011 年, B1 基因亚型逐渐衍化为主要流行株, 与其他地区的研究报道结果相同^[1]。B1 基因亚型又进化出 B1a 和 B1b 两个分支, 西安 CoxA16



注: ◆表示西安 CoxA16 分离株

图 1 CoxA16 分离株和其他 CoxA16 基因型代表株 VP1 区的进化树分析

分离株属于 B1 基因亚型的 B1a 分支, 与 BJ10-03 株为同一小分支。B1a 大部分由中国 CoxA16 病毒株构成, B1b 由马来西亚、日本、越南南部、泰国、中国和澳大利亚等 CoxA16 病毒株组成。

四、透射电镜观察 CoxA16 分离株病毒颗粒

不连续氯化铯密度梯度离心纯化的 CoxA16 分离株用甲醛灭活 (1/4 000), 在透射电子显微镜放大倍数在 250 000 ~ 300 000 时可见到病毒颗粒。CoxA16 分离株在电镜下呈现二十面体立体对称的球形结构, 直径为 20 ~ 30 nm, 与其他典型的肠道病毒形态相似。电镜下也见到空心病毒颗粒, 这与

以前报道的 EV71 和 CoxA16 病毒培养产物纯化结果一致^[2-3]。

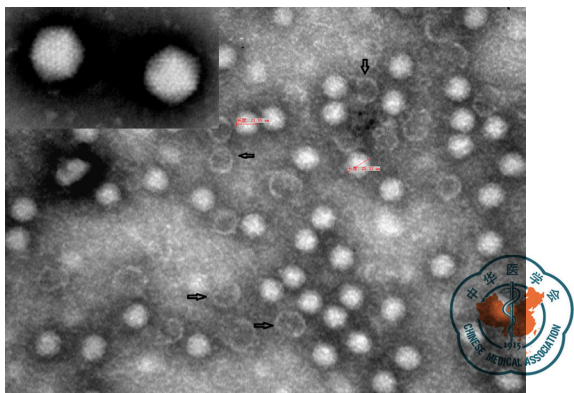
讨 论

柯萨奇病毒分为 A、B 两组, 其中 A 组有 23 个亚型, B 组有 6 个亚型, A 组中 4、5、9、10、16 型及 B 组 5 型均可引起手足口病, 其中主要引起手足口病的是 A 组 16 型 (CoxA16)。

据报道, CoxA16 和 EV71 的不同基因型或亚型轮流或共同循环于亚太地区, 导致近年来手足

表 1 西安 CoxA16 分离株与参考株的 VP1 区核苷酸和氨基酸序列同源性比较

基因亚型	分离株	基因注册编号	国家/地区	分离时间 (年)	同源性比较 (%)	
					核苷酸序列	氨基酸序列
B1b	LC0017F/SD/CHN/2009/CoxA16	GQ253389	山东	2009	91.36	100.00
	576T/VNM/05	AM292439	越南南部	2005	92.37	99.66
	0033/AUS/05	AM292435	澳大利亚	2005	92.14	99.66
	UM15985/MAL/00	AM292482	马来西亚	2000	93.15	99.66
	S33071/SAR/01	AM292458	马来西亚	2001	93.60	99.66
	SB13044/SAR/03	AM292475	马来西亚	2003	92.14	99.66
	CNS68762/SAR/06	AM292451	马来西亚	2006	91.69	99.66
	S114371/SAR/05	AM292464	马来西亚	2005	92.59	99.66
	SHFD10-193/SH/CHN/2010	KC834887	上海	2010	90.57	99.39
	Siriraj24/TH/02	GQ184135	泰国	2002	92.48	99.66
	UM17115/MAL/00	AM292484	马来西亚	2000	93.49	99.66
	Siriraj07/TH/05	GQ184140	泰国	2005	92.48	99.66
	460/Toyama/2007	AB465405	日本	2007	91.36	99.33
	535V/VNM/05	AM292437	越南南部	2005	92.03	99.66
	QH0202T/QH/CHN/2008	GQ429266	北京	2008	91.69	99.66
	KMM/08	HQ423141	云南 昆明	2008	91.69	99.66
	SZ/HK08-3	GQ279368	中国 香港	2008	91.25	99.33
B1a	FJ09-02	KF193627	北京	2009	96.67	99.73
	QH0269T/QH/CHN/2008	GQ429268	北京	2008	95.51	99.33
	HN09-02	KF193624	北京	2009	97.57	99.19
	BJ10-03	KF193629	北京	2010	97.48	100.00
	2055/SA/01	AM292442	沙特阿拉伯	2001	93.83	98.65
	shzh00-1	AY790926	北京	2000	93.78	99.46
	SZ/HK08-7	GQ279371	香港	2008	94.59	99.73
	Tainan/5079/98	AF177911	台湾	1998	93.42	99.46
	GZ08	FJ198212	广州	2008	93.42	99.73
	shzh02-104	AY895126	深圳	2002	93.65	99.28
	shzh02-14	AY895110	深圳	2002	94.52	99.41
	CoxA16/HN1539/CHN/2010	JF695007	河南 郑州	2010	94.61	99.66
	MAS01/AH/CHN/2010	JQ409499	南京	2010	94.28	99.33
	XM-CA16-356	HQ269389	福建 厦门	2009	94.50	99.33
	MAS03/AH/CHN/2010	JQ409497	江苏 南京	2010	94.05	99.66
	MAS02/AH/CHN/2010	JQ409498	江苏 南京	2010	94.28	99.33
	MAS04/AH/CHN/2010	JQ409496	江苏 南京	2010	93.83	99.66
	BJ03-ZDP	AY821798	广州 深圳	2003	95.74	98.99
	QH0570T/QH/CHN/2008	GQ429277	北京	2008	95.29	99.66
	H060F/SD/CHN/2008/CoxA16	GQ253380	山东	2008	95.74	99.66
	H573F/SD/CHN/2008/CoxA16	GQ253385	山东	2008	96.63	98.65
	shzh05-1	EU262658	广东	2005	93.49	99.66
	ZJ08-01	KF193620	北京	2008	96.67	99.49
	HN1662/HN/CHN/2010	JN674176	河南 郑州	2010	94.68	99.46
	252/Toyama/2002	AB465383	日本	2002	92.93	99.33
	S110251/SAR/03	AM292462	马来西亚	2003	93.15	99.66
	UM16809/MAL/98	AM292483	马来西亚	1998	93.27	99.33
B1a B2	SB2239/SAR/0	AM292468	马来西亚	2000	89.11	98.99
	SB1660/SAR/00	AM292465	马来西亚	2000	89.11	98.99
	24/Toyama/1981	AB465366	日本	1981	91.02	99.66
	S10432/SAR/98	AM292455	马来西亚	1998	88.33	99.66
	shzh99-11	AY895128	深圳	1999	89.57	98.92
	S70382/SAR/98	AM292461	马来西亚	1998	88.44	99.66
	shzh99-48	AY895116	深圳	1999	89.45	99.64
	shzh00-2	AY895127	深圳	2000	88.85	99.64
	107/Toyama/1990	AB465369	日本	1990	89.34	98.99
	392/Toyama/1995	AB465370	日本	1995	89.67	99.33
	379/Toyama/1984	AB465367	日本	1984	89.90	99.33
	FY18	EU812514	中国 阜阳	2008	76.76	92.16
	G-10	CAU05876	芬兰	1951	77.30	93.24
	A					
	EV71	Enterovirus 71 BrCr	美国	1970	67.84	74.32



注：黑色箭头所指为空心病毒颗粒

图2 透射电子显微镜观察 CoxA16 分离株病毒颗粒

口病反复暴发^[4]。2009年北京手足口病的主要病原是 CoxA16 和 EV71，其中 CoxA16 的检出数是 EV71 的 1.4 倍^[5]。2008 至 2010 年，湖南省哨点医院收集手足口病患者各类样本共 2 448 例，其中 EV71 核酸检测阳性率为 49.37%，CoxA16 阳性率为 6.79%，EV71 和 CoxA16 同时阳性为 0.48%，其他肠道病毒为 20.82%，从 2008 至 2010 年湖南省手足口病主要以 EV71 型为流行株^[6]。2008 年西安地区手足口病原调查结果显示，CoxA16 占 49.45%，EV71 占 30.76%，其他肠道病毒占 19.78%^[7]。2010 年西安地区共报告手足口病例 23 439 例，病原分析显示，EV71 占 24.81%，CoxA16 占 55.04%，其他肠道病毒占 20.16%，其中 EV71 占重症病例病原的 75.71%^[8]。西安地区 CoxA16 对手足口病的发病起到至关重要的作用，但是由于对 CoxA16 的基础研究较少，故此次研究主要针对西安地区 CoxA16 分离株开展进一步分析。

CA16 的基因组全长约 7 410 bp，是单股正链 RNA，且具感染性。基因组只有一个开放编码框架（ORF），编码 1 个多聚前体蛋白，该多聚前体蛋白由病毒编码的蛋白酶切割产生成熟蛋白。ORF 分为 P1、P2 和 P3 区，其中 P1 区编码病毒的结构蛋白分别为 VP1、VP2、VP3 和 VP4，共同组成病毒衣壳蛋白；P2 和 P3 区编码非结构蛋白。VP1 区长 891 bp，编码 297 个氨基酸序列，VP1 蛋白是病毒主要的中和抗原决定簇的所在部位，因此，作为肠道病毒血清型分型依据，另外 VP1 区核苷酸序列也是肠道病毒基因分型的主要依据^[9]。此次研究也是依据 CoxA16 分离株的 VP1 编码区基因特征进行分析。

西安 CoxA16 分离株与 GenBank 下载的 CoxA16 代表株核苷酸和氨基酸序列比对，显示西安

CoxA16 分离株为 B 基因型 B1a 基因亚型，与我国 1998 至 2010 年的大部分流行株基因型相同。CoxA16 分离株与 B1b 基因亚型相比，核苷酸和氨基酸同源性分别为 90.57%~93.6% 和 98.65%~100.0%；与 B1a 基因亚型相比，核苷酸和氨基酸同源性分别为 92.93%~97.57% 和 98.65%~100.0%，同源性最高；与 B2 基因亚型相比，核苷酸和氨基酸同源性分别为 88.33%~91.02% 和 98.92%~99.66%；与 A 基因型相比，核苷酸和氨基酸同源性分别为 76.76%~77.30% 和 92.16%~93.24%，同源性较远。

与王东艳等^[10]研究报道一致，在 B1 型两大分支上，我国病毒株与部分邻国的 CoxA16 亲缘关系很接近，B1a 分支上的 CoxA16 在我国江苏、山东、深圳、北京、福建、陕西以及日本、马来西亚、沙特阿拉伯均有流行。B1b 分支的 CoxA16 在中国大陆、中国香港以及越南、泰国、马来西亚和日本等亚太地区国家都有发现。表明 B1 亚型在亚太地区广泛流行，西安 CoxA16 分离株与其他 B1 亚型一样共同进化。

西安 CoxA16 分离株病毒颗粒直径为 20~30 nm，呈 20 面立体对称球形结构，无包膜和突起，与其他肠道病毒典型形态相似。在细胞培养的病毒产物中纯化出空心样病毒颗粒，直径比完整病毒颗粒稍大，据以往报道 EV71 空心病毒颗粒直径也大于完整病毒颗粒^[11]，推测病毒在宿主细胞中包装时，部分病毒衣壳蛋白未装载病毒基因组。

综上所述，此次获得的西安 CoxA16 分离株属于 B1a 基因亚型，与我国和其他亚太地区国家的 CoxA16 关系密切，存在共同进化。该 CoxA16 分离株病毒颗粒与其他肠道病毒形态相似，细胞培养产物中存在空心病毒颗粒。但本研究尚存在不足之处，如病毒代表株覆盖面不够广泛，可能存在误差，下一步将扩增 CoxA16 分离株全基因组，弥补数据的不足。提高病毒分离率，解决病毒分离株单一，代表性差等问题。

参考文献

- 1 Xu MH, Su LY, Cao LF, et al. Enterovirus genotypes causing hand foot and mouth disease in Shanghai, China: a molecular epidemiological analysis[J]. BMC Infectious Diseases, 2013, 13(1): 1-20.
- 2 Liu CC, Guo MS, Lin FHY, et al. Purification and characterization of enterovirus 71 viral particles produced from vero cells grown in a serum-free microcarrier bioreactor system[J]. PLoS One, 2011, 6(5): 1-9.
- 3 Chong P, Guo MS, Lin FHY, et al. Immunological and

- biochemical characterization of Coxsackievirus A16 viral particles[J]. PLoS One, 2012, 7(11):1-10.
- 4 Zhang Y, Tan XJ, Wang HY, et al. An outbreak of hand foot and mouth disease associated with subgenotype C4 of human enterovirus 71 in Shandong China[J]. J Clin Virol, 2009, 44(4):262-267.
- 5 曲梅, 李洁, 贾蕾, 等. 北京市2009年手足口病的病原构成及柯萨奇A组16型病毒基因特征分析[J]. 病毒学报, 2010, 26(6):432-436.
- 6 黄威, 周帅锋, 张帆, 等. 2008-2010年湖南省哨点医院手足口病病原学检测结果及基因特征分析[J]. 实用预防医学, 2011, 18(5):779-784.
- 7 马超峰, 李恒新, 吴晓康, 等. 2008年西安地区手足口病病原血清分型[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2008, 22(6):封2.
- 8 邓慧玲, 马超峰, 王小燕, 等. 西安地区2010年手足口病病原血清型及流行特征分析[J]. 医学临床研究, 2011, 28(5):857-859.
- 9 杨朝辉, 尹少甫, 张宗久, 等. 柯萨奇病毒A组16型[J]. 中国疫苗和免疫, 2009, 15(1):72-77.
- 10 王东艳, 陈慧, 严冬梅, 等. 宁夏地区2008年柯萨奇病毒A组16型VP1区基因特征分析[J]. 中华流行病学杂志, 2010, 31(8):904-908.
- 11 Wang XX, Peng W, Ren JH, et al. Asensor-adaptor mechanism for enterovirus uncoating from structures of EV71[J]. Nat Struct Mol Biol, 2012, 19(4):424-429.

(收稿日期: 2014-06-26)

(本文编辑: 孙荣华)

刘杨, 郭春艳, 张西嫔, 等. 柯萨奇病毒A16型VP1基因和病毒生物物理学分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2015, 9(2): 180-185.

