

# 福建省首例狂犬病街毒分离株基因组序列测定及分析

张建明<sup>1</sup>,王宇平<sup>1</sup>,邓艳琴<sup>2</sup>,王灵岚<sup>2</sup>,严延生<sup>2</sup>

**摘要:**目的 对福建省首次分离的狂犬病毒街毒株进行全基因组序列测定分析,了解病毒序列及进化特征,为进一步研究街毒的遗传变异规律积累理论资料。**方法** 从病毒细胞培养液中直接提取病毒 RNA,采取分段 RT-PCR 的方法进行序列扩增,将获得的各基因片段进行分子克隆后测序,运用生物学软件进行拼接得到全基因组序列,并进行分析。**结果** 应用自行设计的引物,获得了狂犬病毒街毒株的全基因组核苷酸序列,编码区没有插入和缺失的发生,对毒株在 N 蛋白主要抗原位点发生的突变为在 B 细胞表位发生了 379 位 V→L 的突变;糖蛋白抗原位点 I(231 位)的氨基酸为 L;在抗原位点 II 199 位点发生了 R→G 的突变,抗原位点 III 333 位为精氨酸(R)。与国内河北一街毒株 BD06 无论在 G 基因的进化上还是 N 基因的分型上都有着很近的亲缘关系。**结论** 获得狂犬病毒株全基因组序列,了解病毒重要的氨基酸位点特征,为进一步探讨福建省狂犬病毒变异、传播机制等奠定基础。

**关键词:**狂犬病毒;基因组;序列分析

中图分类号:R373.9

文献标识码:A

文章编号:1002-2694(2015)04-0311-04

## Sequencing and analysis of the complete genome of the first rabies virus isolate from Fujian, China

ZHANG Jian-ming<sup>1</sup>, WANG Yu-ping<sup>1</sup>, DENG Yan-qin<sup>2</sup>, WANG Ling-lan<sup>2</sup>, YAN Yan-sheng<sup>2</sup>

(1. Fujian International Travel Healthcare Center, Fuzhou 350001, China;

2. Fujian Center for Disease Control and Prevention, Fuzhou 350001, China)

**Abstract:** In order to investigate gene sequences and evolution characteristics of rabies virus and provide theoretical information, the complete genome of the first rabies virus isolate from Fujian was sequenced and analyzed. In this study, we extracted viral RNA from cell culture directly, and then the segment RT-PCR were used for gene sequence amplification; thirdly, the obtained gene fragments were molecularly cloned and sequenced; at last, these fragments consisted of whole genome sequences were analyzed. The entire genome nucleotide sequence was obtained with no insertion and deletion in the coding region after the application of designed rabies primers. Mutations in the N protein antigenic sites occurred mainly in B-cell epitope a 379 V → L; the amino acid for glycoprotein antigenic sites I (231-bit) was L; antigenic site II 199 at sites R → G mutation occurred; antigenic site III 333 bit arginine (R). These results laid a foundation for further research on the mutation, dissemination, and mechanisms of rabies virus.

**Keywords:** rabies virus; genome; sequence analysis

Supported by grants from the Fujian Natural Science Foundation (No. 2012J05133)

Corresponding author: Yan Yan-sheng, Email: yysh@fjcdc.com.cn

1988 年法国巴斯德研究所 Tordo 等首次完成了狂犬病毒 PV 株的全基因序列测定<sup>[1]</sup>。近年来,我国陆续有不同来源的狂犬病街毒株分离报道<sup>[2-5]</sup>,不断有狂犬病毒株的全基因组序列提交到 GenBank。比较发现:各毒株基因组大小不一,各基因

的长度也存在一定的差异,不同毒株之间在核苷酸和氨基酸序列上存在一定的变异。我国不同地区不同宿主动物的街毒株之间存在不同的基因亚型<sup>[6]</sup>。2008 年福建省浦城发现一只主动攻击人的可疑狂犬,我们对其脑组织标本进行狂犬病毒街毒株 (FJ008) 的分离与鉴定<sup>[7]</sup>。本研究在此基础上,对分离的狂犬病街毒株进行基因组全序列测定分析,以期了解福建分离株与其他地区流行株的同源性关系。

福建省自然科学基金(No. 2012J05133)

通讯作者:严延生,Email:yysh@fjcdc.com.cn

作者单位:1. 福建国际旅行卫生保健中心,福州 350001;

2. 福建省疾病预防控制中心,福州 350001

## 1 材料与方法

**1.1 主要试剂** 病毒核酸提取试剂盒、胶回收试剂盒(QIAGEN公司);RT-PCR试剂盒、AMV逆转录酶、RNA酶抑制剂、Ex Taq DNA聚合酶及标准分子量DNA(TaKaRa公司);质粒提取试剂盒购于(TIANGEN公司)。

**1.2 病毒分离与鉴定** 参考文献<sup>[7]</sup>。

**1.3 病毒核酸的提取** 参照RNA EZ1 Virus Mini Kit v2.0说明书提取培养液的总RNA。提取的核酸用于RT-PCR扩增,或贮存于-70℃备用。

**1.4 引物设计与合成** 参考GenBank中公开的狂犬病毒全基因组序列信息,进行分析,选定保守区域,利用生物学软件设计6对引物进行扩增,见文献<sup>[8]</sup>。

**1.5 RT-PCR扩增基因片段** 以提取的病毒核酸(RNA)为模板,采用一步法RT-PCR进行基因片段扩增,操作参照TaKaRa公司one step RT-PCR试剂盒说明书进行。

**1.6 扩增产物纯化、克隆、测序** 产物纯化参照QIAGEN公司的PCR产物回收试剂盒说明书进行;克隆参照TaKaRa公司TA克隆试剂盒说明书进行。选取酶切结果正确的阳性克隆送TaKaRa公司进行测序。

**1.7 基因组序列拼接、分析** 测序获得的狂犬病毒基因片段序列在GenBank上进行比对验证分析后,用分子生物学软件进行拼接。选择有代表性的狂犬病毒株序列,根据各个基因的功能特点,从不同的角度进行多重序列同源性分析,得到不同毒株之间在各个基因上的同源性数据,并建立系统发育树进行分析。研究中引用到的参考病毒株信息参见表1。

## 2 结果

**2.1 RT-PCR扩增各分割基因片段** 以病毒培养液提取的病毒RNA为模板,运用所设计的6对引物,采用RT-PCR法扩增到了各段相互交叠的基因片段,结果分别在532 bp、1 533 bp、1 991 bp、2 421 bp、4 108 bp和2 924 bp的位置扩增出了相应的6个片段,与预期大小相符,参见图1。将扩增的产物通过胶回收、纯化后,进行克隆,酶切鉴定结果均与预期相符。

**2.2 全基因组序列拼接、分析** 应用生物学软件对各个基因扩增片段的测序结果进行拼接处理,除去各分割片段间的重叠区域,获得长为11 924 bp的基因组序列。核苷酸序列及编码氨基酸序列提交至GenBank,登陆号为FJ866835。通过BioEdit软件

表1 研究中参考毒株基本信息

Tab. 1 Information of rabies virus used in this study

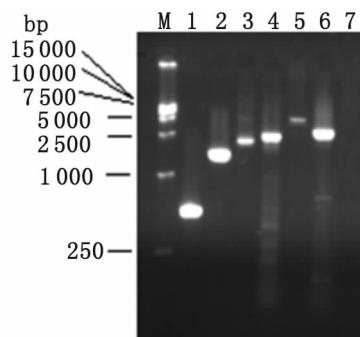
Accession no.	Strain	Type	Source	Gene type
AB085828	HEP-Flury	Fixed	Japan	I
AB044824	Nishigahara	Fixed	Japan	I
AB128149	NI-CE	Fixed	Japan	I
AF499686	SRV-9	Fixed	Jilin, China	I
EU182347	RB/E3-15	Fixed	Jilin, China	I
EF564174	CTN181	Fixed	Shandong, China	I
EF542830	RV-97	Fixed	Russia	I
RAVCGA	SAD B19	Fixed	US	I
JQ944709	EPHVAC	Fixed	Ethiopia	I
EF206707	ERA	Fixed	Germany	I
EU549783	BD06	Street	Hebei, China	I
JQ970486	CSD0708D	Street	Shandong, China	I
JQ970487	CSX0904D	Street	Shanxi, China	I
FJ712193	D01	Street	Zhejiang, China	I
GU345748	SH06	Street	Shanghai, China	I
JQ970485	CJX0906D	Street	Jiangxi, China	I
GU345746	CQ92	Street	Chongqing, China	I
GU345747	J	Street	Ningxia, China	I
EU293121	8743THA	Street	Thailand	I
EU643590	HN10	Street	Hunan, China	I
DQ875050	MRV	Street	Henan, China	I
GU358653	GX4	Street	Guangxi, China	I
DQ875051	DRV	Street	Jilin, China	I
KC196743	DRV-NG11	Street	Nigeria	I
EF437215	NNV-RAB-H	Street	India	I
HQ450386	DRV-Mexico	Street	Mexican	I
KC595281	Rus8053c_2011	Street	Russia	I
AY705373	SHBRV-18	Street	US	I
EU311738	RRV ON-99-2	Street	Canada	I
AY956319	serotype 1	Street	India	I
EU293120	94286SA	Street	South Africa	V
NC009527	EBLV1	Street	Germany	V
EU293109	03002FRA	Street	France	V
NC009528	EBLV2	Street	UK	VI
AF006497	ABLV	Street	Australia	VII
EF614258	WCBV	Street	Russia	N/A

分析获知每个基因编码区核苷酸序列保守区和高变区的位置,每个基因的核苷酸变异程度都不一致,N和P基因相对保守,G和L基因变异情况相对复杂,各编码区的变异类型主要是核苷酸的替换,没有发生插入和缺失。

### 2.3 主要基因编码氨基酸序列分析

**2.3.1 核蛋白氨基酸分析** 对已经确定的N基因抗原位点、Th细胞表位、B细胞表位和磷酸化位点

的变异情况分别进行比较,结果见图 2-4。从图中可以发现:FJ008 毒株核蛋白 389 位磷酸化位点在各个毒株中均未发生变异,在不同毒株的抗原位点和淋巴细胞表位的部位均发现有氨基酸的变异存在,这几个抗原位点氨基酸的变异情况显示,FJ008 与街毒或者分离街毒的减毒株(CTN、CVS、BD06 和 SADB19 等)之间具有相似的变异情况,而与疫苗株(RC-HL 和 3aG 等)之间都有不同程度氨基酸的改变。FJ008 毒株核蛋白主要抗原在 379 位点(也属于 B 细胞表位)由 V 变成 L。



M: DL20000; 1-6: PCR product A (532 bp); B (1 533 bp); C(1 991 bp); D (2 421 bp); E (4 108 bp); F (2 924 bp); 7: Negative.

图 1 病毒株各基因片段扩增结果

Fig. 1 Results of RT-PCR

313-337 位

374-383 位

FJ008	HFVGGYMGQVRSLNATVIAACAPHE	FJ008	LTKTDLALAD
03002FRA	-----1-----qS-----	03002FRA	s-----v-----
8743THA	-----	8743THA	m-----v-----
94286SA	-----1-----qS-----	94286SA	a-----iea---
ARAV	-----1-----ss-----	ARAV	a-----
BD06	-----	BD06	-----
CTN181	-----	CTN181	-----
DRV	-----1-----s-----	DRV	-----v-----
EVLV-1	-----1-----qS-----	EVLV-1	s-----v-----
ERA	-----	ERA	-----v-----
HEP-FLURY	-----	HEP-FLURY	-----v-----
IRKV	-----qS-----	IRKV	a-----i-----e-
KHUV	-----1-----ss-----	KHUV	sv-----t-----
MRV	-----	MRV	-----s-----v-----
NI-CE	-----1-----	NI-CE	-----v-----
NISHIGAHARA	-----1-----	NISHIGAHARA	-----v-----
NNV-RAB-H	-----g-----	NNV-RAB-H	-----v-----
RB-E3-15	-----g-----	RB-E3-15	-----v-----
RC-HL	-----1-----	RC-HL	-----v-----
RRV_ON-99-2	-----t-----	RRV_ON-99-2	-----ev-----
RV-97	-----	RV-97	-----v-----
SAD_B19	-----	SAD_B19	-----v-----
SEROTYPE_1	-----g-----	SEROTYPE_1	-----v-----
SHBRV-18	-----t-----	SHBRV-18	-----em----
SRV9	-----	SRV9	-----v-----
WEST_CAUCASIAN_B	-----qt-----	WEST_CAUCASIAN_B	-----ea-i-i-----

图 2 核蛋白主要抗原位点变异比较

Fig. 2 Mutation comparison of major antigenic sites of nucleoprotein

2.3.2 糖蛋白氨基酸分析 选择来自不同地区不同动物的各种代表毒株进行糖蛋白主要抗原位点变异分析,结果见图 5(不包括最前面的 19 个信号肽)。分析发现:FJ008 毒株糖蛋白主要抗原位点 199 由 R 变成 G,333 位点为精氨酸。

#### 2.4 全基因组同源性比较及系统发育树分析 选

21-35 位

394-408 位

404-418 位

FJ008	IIVDQVEKYKPAIKD	FJ008	YFSGETSPSEAVYTR	FJ008	AVTRIMHNNGQLKR
03002FRA	v-----	03002FRA	t-----d-----	03002FRA	-----
8743THA	-----	8743THA	-----	8743THA	-----
94286SA	v-----t-----	94286SA	t-----d-----	94286SA	-----
ARAV	v-----gn-----	ARAV	t-----	ARAV	-----
BD06	-----	BD06	-----	BD06	-----
CTN181	-----	CTN181	-----	CTN181	-----
DRV	-----	DRV	-----a-----g-----a	DRV	-----
EVLV-1	v-----	EVLV-1	t-----d-----	EVLV-1	-----
ERA	-----h-----	ERA	-----	ERA	-----
HEP-FLURY	-----	HEP-FLURY	-----	HEP-FLURY	-----
IRKV	v-----d-----	IRKV	t-----s-----	IRKV	-----
KHUV	-----v-----	KHUV	t-----	KHUV	-----
MRV	-----	MRV	-----	MRV	-----
NI-CE	-----a-----	NI-CE	h1-----a-----g-----a	NI-CE	-----a-----
NISHIGAHARA	-----a-----	NISHIGAHARA	-----a-----g-----a	NISHIGAHARA	-----a-----
NNV-RAB-H	-----	NNV-RAB-H	-----	NNV-RAB-H	-----
RB-E3-15	-----h-----	RB-E3-15	-----	RB-E3-15	-----
RC-HL	-----a-----	RC-HL	h-----p-----a-----a	RC-HL	-----
RRV_ON-99-2	-----	RRV_ON-99-2	-----	RRV_ON-99-2	-----
RV-97	-----	RV-97	-----a-----	RV-97	-----
SAD_B19	-----	SAD_B19	-----	SAD_B19	-----
SEROTYPE_1	-----	SEROTYPE_1	-----a-----	SEROTYPE_1	-----a-----
SHBRV-18	-----	SHBRV-18	-----g-----	SHBRV-18	-----
SRV9	-----	SRV9	-----	SRV9	-----
WCBV	v-----t-----	WCBV	zyg-----s-----n-----	WCBV	-----n-----l-----k-----k

图 3 核蛋白 Th 细胞表位位点变异比较

Fig. 3 Mutation comparison of nucleoprotein Th-cell epitope

B 细胞表位 (369-383 位)

磷酸化位点 (389 位)

FJ008	EYAAELTKTDLALAD	FJ008	S
03002FRA	d-----s-----v-----	03002FRA	-
8743THA	-----m-----v-----	8743THA	-
94286SA	d-----e-----a-----iea---	94286SA	-
ARAV	d-----l-----a-----	ARAV	-
BD06	-----	BD06	-
CTN181	-----	CTN181	-
DRV	-----v-----	DRV	-
EVLV-1	d-----s-----v-----	EVLV-1	-
ERA	-----v-----	ERA	-
HEP-FLURY	-----v-----	HEP-FLURY	-
IRKV	d-----a-----i-----e-----	IRKV	-
KHUV	-----sv-----t-----	KHUV	-
MRV	-----s-----v-----	MRV	-
NI-CE	-----v-----	NI-CE	-
NISHIGAHARA	-----v-----	NISHIGAHARA	-
NNV-RAB-H	-----t-----	NNV-RAB-H	-
RB-E3-15	-----v-----	RB-E3-15	-
RC-HL	-----v-----	RC-HL	-
RRV_ON-99-2	d-----ev-----	RRV_ON-99-2	-
RV-97	-----v-----	RV-97	-
SAD_B19	-----v-----	SAD_B19	-
SEROTYPE_1	---t-----v-----	SEROTYPE_1	-
SHBRV-18	-----em----	SHBRV-18	-
SRV9	-----v-----	SRV9	-
West_Caucasian_b	dhle-----ea-i-i-----	West_Caucasian_b	-

图 4 核蛋白 B 细胞表位及磷酸化位点变异比较

Fig. 4 Mutation comparison of nucleoprotein B-cell epitope and phosphorylation site

取提交到 GenBank 的狂犬病毒全基因组序列 28 条,与本研究分离的 FJ008 的全基因组序列进行同源性比较。在核苷酸同源性的比较结果中,FJ008 与国内河北、山东、山西、浙江、上海等省份的分离株的同源性均在 99% 以上,均属基因 I 型。与西高加索的 WCBV(尚未定基因型别)的同源性最低仅为 62.54%。进行 NJ 系统发育树构建分析(图 6),结果显示这 29 株病毒可分为 3 个基因群,WCBV 株为独立一群,来自欧洲、澳洲和非洲的 AF006497(澳大利亚)、NC009528(欧洲)、EU293120(南非)和 NC009527(欧洲)等毒株为第二群,其余毒株均归入第三群,第三群中 FJ008 与 EU549783(河北)、JQ970486(山东)相当接近,处于同一聚簇内亲缘关系最近,为同一株型,其次是 JQ970487(山西)、

FJ712193(浙江)和GU345748(上海)株。

	I	II	III	
	231	34-42	198-200	330-357
FJ008	L	GCTNLGFS	KGA	KSIRTUNEEIPSKGCLRVGGRCHPHVNG
O3002FRA	p	--t-tp--	-k-	--v-e-k-v-----ma-----ys-
8743THA	-	-	-r-	--v-
94286SA	s	--t-tp--	-k-	--v-e-k-----ka-----y-h--
ARAV	r	--t-ta--	-k-	--v-e-t-v-----ka-g-y-y-r
BDO6	-	-	-r-	-
CTN181	-	-	-r-	--vq-d-----a-----
DRV	p	-	-r-	--v-----g-----
EELV-1	p	--t-tp--	-k-	--v-e-k-v-----ma-----ys-
ERA	-	-	-r-	--v-----l-----
HEP-Flury	-	-	-r-	--vq-----e-----
IRKV	e	--t-ta-n	-k-	--e-k-----ka-----yd-
KHUV	s	--t-t-t	-r-	--e-s-----va-----yh-h--
MRV	-	-	-r-	--v-----k-----
Ni-Ce	-	-	-r-	--v-----
Nishigahara	-	-	-r-	--v-----
UCBV	q	y-tegsit	-lv	ikven-s-v-h-----m---k-ye-p-d
NNV-RAB-H	-	-	-r-	--v-----
RB-E3-15	-	-	-r-	--v-----l-----
RC-HL	-	-	-rv	--v-----
RRV_ON-99-2	s	--ns--	-r-	--v-----s-----
RV-97	-	-	-r-	--v-----v-----e-----
SAD_B19	-	-	-r-	--v-----l-----
serotype_1	-	-	-r-	--v-----
SHBRV-18	p	--s----	-k-	--v-----v-----k-----p-----
SRV9	-	e-----	-r-	--vs-----v1-----

图 5 糖蛋白氨基酸抗原位点分析结果

Fig. 5 Analysis results of glycoprotein antigen sites

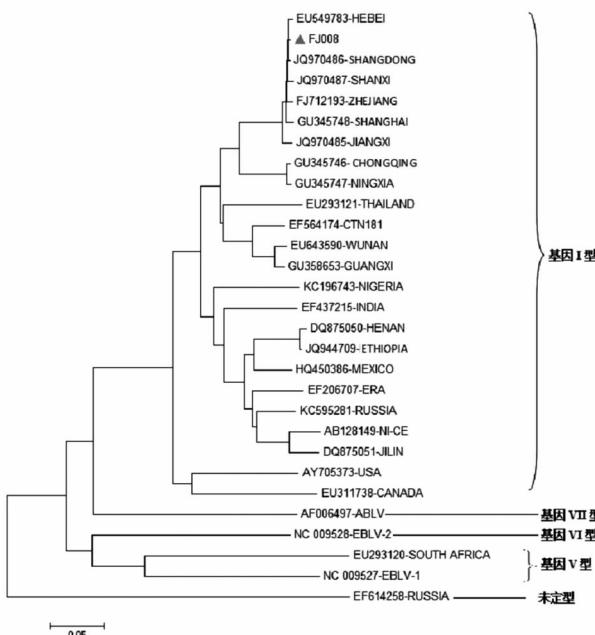


图 6 29 株狂犬病毒全基因组序列系统发育树分析

Fig. 6 Phylogenetic analysis of 29 rabies virus sequences

### 3 讨 论

狂犬病毒普遍流行于世界各地并通过家养或野生动物传播,狂犬病毒分离株遗传特征分析是了解病毒起源及传播模式的重要工具<sup>[9]</sup>。近些年分子分析方法如反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)和测序技术的发展,加速了RABV的分布及遗传特性研究。分子流行病学分析所得的RABV基因数据库的建立,能够更精确的界定病毒类型并有助于追踪

RABV从受感染动物到人或其他动物的传播<sup>[10]</sup>。

狂犬病毒的基因组大小约12 kb,为了获得全长的cDNA,我们设计了6对引物进行分段扩增,6个扩增片段大小在532 bp~4 108 bp之间,各片段均与相邻的片段存在一小部分重叠区,以保证覆盖全长。氨基酸比较分析发现FJ008毒株糖蛋白主要抗原在199位点发生了R→G的突变,这在其它毒株中未发现,该突变是否为福建狂犬病毒的特征及其与毒力的相关性尚有待深入研究证实。

狂犬病病毒全基因组测序对全面了解病毒的分子进化、基因调控和遗传变异等具有重要意义,丰富狂犬病病毒的背景资料,为制定预防狂犬病政策或疫苗研制提供理论依据<sup>[11]</sup>。本研究进行的系统发育树构建分析显示福建首例狂犬病毒分离株FJ008与EU549783(河北)、JQ970486(山东)相当接近,处于同一聚簇内亲缘关系最近,为同一株型,其次是JQ970487(山西)、FJ712193(浙江)和GU345748(上海)株,均同属于基因I型。我们首次获得了福建省狂犬病毒的全基因组序列,尽管目前只有根据病毒序列推导病毒的生物学特征,同时由于缺乏更多的病毒序列信息,不能对病毒的进化进行更为深入的研究。但本研究将狂犬病毒的基因组分6段扩增,并分别进行克隆,为更进一步开展狂犬病毒相关的实验室研究奠定了基础,对于福建省今后狂犬病毒传播来源和途径等方面的研究具有重要意义。

### 参 考 文 献 :

- [1] Tordo N, Poch O, Ermine AK, et al. Completion of the rabies virus genome sequence determination: highly conserved domains among the L (polymerase) proteins of unsegmented negative-strand RNA viruses[J]. Virology, 1988, 165 (2): 565-576. DOI: 10.1016/0042-6822(88)90600-9
- [2] Zhao YJ, Guo L, Huang Y, et al. Sequencing and analysis of the complete genome of a rabies virus isolate from Sika Deer[J]. Chin J Virol, 2008, 24 (3): 227-233. DOI: 10.3321/j.issn.1000-8721.2008.03.011 (in Chinese)
- [3] Zhao YJ, Guo L, Huang Y, et al. Sequencing and analysis of the complete genome of one wild strain of vole rabies virus[J]. Chin J Zoonoses, 2008, 24(7): 651-658. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2008.07.014 (in Chinese)
- [4] Meng SL, Yan JX, Xu GL, et al. Sequencing and analysis of complete genome of six street rabies virus isolates from China [J]. Progr Microbiol Immunol, 2010, 38(4): 6-13. DOI: 10.3969/j.issn.1005-5673.2010.04.002 (in Chinese)

(下转第 329 页)

- [13]Henry KW, Cruz MC, Katiyar SK, et al. Antagonism of azole activity against *Candida albicans* following induction of multi-drug resistance genes by selected antimicrobial agents[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43(8): 1968-1974.
- [14]Zhang X, De Micheli M, Coleman ST, et al. Analysis of oxidative stress regulation of the *Candida albicans* transcription factor, Cap1p[J]. *Mol Microbiol*, 2000, 36(3): 618-629. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2000.01877
- [15]Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR[J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(9): 36-45. DOI: 10.1093/nar/30.9.e36
- [16]Arai T, Mikami Y, Yokoyama K, et al. Phagocytosis of *Candida albicans* by rabbit alveolar macrophages and guinea pig neutrophils[J]. *Sabouraudia*, 1977, 15(2): 171-177. DOI: 10.1080/00362177785190261
- [17]Tada R, Yamanaka D, Naqi-Miura N, et al. Vasculitis and anaphylactoid shock induced in mice by cell wall extract of the fungus *Candida metapsilosis* [J]. *Pol J Microbiol*, 2014, 63(2): 223-230.
- [18]Yan J. Medical Microbiology[M]. 2nd ed, Beijing: Higher Education Press, 2012: 301-302. (in Chinese)  
严杰. 医学微生物学[M]. 2 版,北京:高等教育出版社,2012, 301-302.
- [19]Maldonado NA, Cano LE, De Bedout C, et al. Association of clinical and demographic factors in invasive candidiasis caused by fluconazole-resistant *Candida* species: a study in 15 hospitals, Medellin, Colombia 2010-2011[J]. *Diaqn Microbiol Infect Dis*, 2014, 79 (2): 280-286. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2014.02.003
- [20]Zhang W, Lin ZF, Zhao J, et al. Trends of fungal spectrum and drug resistance changes in Intensive Care Unit[J]. *Chin J Mycol*, 2014, 9(1): 24-27. (in Chinese)  
张伟,林兆奋,赵瑾,等. 重症监护病房真菌谱及耐药性 6 年变化趋势[J]. 中国真菌学杂志,2014, 9(1):24-27.
- [21]Wirsching S, Michel S, Kohler G, et al. Activation of the multiple drug resistance gene MDR1 in fluconazole-resistant, clinical *Candida albicans* strains is caused by mutations in a trans-regulatory factor[J]. *J Bacteriol*, 2000, 182 (2): 400-404. DOI: 10.1128/JB.182.2.400-404.2000
- [22]Lamb DC, Kelly DE, White TC, et al. The R467K amino acid substitution in *Candida albicans* sterol 14alpha-demethylase causes drug resistance through reduced affinity[J]. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 2000, 44 (1): 63-67. DOI: 10.1128/AAC.44.1.63-67.2000
- [23]Alarco AM, Balan I, Talibi D, et al. AP1-mediated multidrug resistance in *Saccharomyces cerevisiae* requires FLR1 encoding a transporter of the major facilitator superfamily [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(31): 19304-19313. DOI: 10.1074/jbc.272.31.19304
- [24]Georgiev VS. Membrane transporters and antifungal drug resistance[J]. *Curr Drug Targets*, 2000, 1(3): 261-284. DOI: 10.2174/1389450003349209

收稿日期:2014-10-03;修回日期:2014-11-08

## (上接第 314 页)

- 孟胜利, 严家新, 徐葛林, 等. 中国 6 株狂犬病病毒街毒株全基因组测序与分析[J]. 微生物学免疫学进展, 2010, 38(4): 6-13.
- [5]Xie TB, Yu H, Wu J, et al. Identification and sequence analysis on rabies virus isolated from a donkey[J]. *Chin J Epidemiol*, 2012, 33(6): 602-605. DOI: 10.3760/cma.j.issn:0254-6450.2012.06.013 (in Chinese)
- 解庭波, 俞华, 吴杰, 等. 1 株驴源狂犬病毒的分离鉴定及 N、G 基因序列分析[J]. 中华流行病学杂志, 2012, 33(6):602-605.
- [6]Xu GL, Li K, Wu J, et al. Sequence analysis of N gene among 19 rabies virus street isolates from China[J]. *Chin J Virol*, 2002, 18(1): 48-51. DOI: 10.3321/j.issn:1000-8721.2002.01.008 (in Chinese)
- 徐葛林, Li Ku, 吴杰, 等. 中国 19 个狂犬病毒街离分离株 N 基因的序列分析[J]. 病毒学报, 2002, 18(1): 48-51.
- [7]Zhang JM, Deng YQ, Wang LL, et al. Biological characterizations of street strain of rabies virus in Fujian Province, China [J]. *Chin J Zoonoses*, 2014, 30(7): 684-687. DOI: 10.3969/cjz.j.issn.1002-2694.2014.07.005 (in Chinese)

张建明, 邓艳琴, 王灵岗, 等. 福建省狂犬病毒街毒株分离鉴定及生物学特性研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2014, 30(7): 684-687.

[8] Zhang JM. Studies on epidemiology of rabies and virological characteristics of rabies isolates in Fujian Province[D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2009: 7. (in Chinese)

张建明. 福建省狂犬病流行病学及病毒学特征研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2009. 7.

[9]Prager KC, Mazet JA, Dubovi EJ, et al. Rabies virus and canine distemper virus in wild and domestic carnivores in Northern Kenya: are domestic dogs the reservoir? [J]. *Ecohealth*, 2012, 9 (4): 483-498. DOI: 10.1007/s10393-013-0815-9

[10]Yousaf MZ, Qasim M, Zia S, et al. Rabies molecular virology, diagnosis, prevention and treatment[J]. *Virol J*, 2012, 9: 50. DOI: 10.1186/1743-422X-9-50

[11]Marston DA, Ellis RJ, Horton DL, et al. Complete genome sequence of Ikoma lyssavirus[J]. *Virol J*, 2012, 86(18): 10242-10243. DOI: 10.1128/JVI.01628-12

收稿日期:2014-09-23;修回日期:2014-12-17