УДК 578.832.1

ЭПИТОПНОЕ КАРТИРОВАНИЕ МОЛЕКУЛЫ ГЕМАГГЛЮТИНИНА ВИРУСОВ ГРИППА В ЛИНИИ ЯМАГАТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

Сорокин Е.В., Царева Т.Р., Соминина А.А., Писарева М.М., Комиссаров А.Б., Кошелева А.А.

ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава РФ, Санкт-Петербург, e-mail: esorokin@rambler.ru

Целью исследования была идентификация вируснейтрализующих эпитопов в составе тяжелой субъединицы гемагглютинина (НА1) вирусов гриппа В линии Ямагата. Для селекции эскейп-мутантов была использована панель из шести впервые полученных моноклональных антител (МКА) к НА1 вируса. Использованные МКА специфически реагировали в реакции торможения гемагглютинации и реакции нейтрализации только со штаммами Ямагатской линии при отсутствии взаимодействия с вирусами Викторианской линии. Секвенирование гена НА1 показало наличие мутаций в составе ЭМ 4Н7 с соответствующими аминокислотными заменами в позициях V75Iи D150T. У остальных ЭМ были выявлены одиночные аминокислотные замены: у ЭМ 10F4 – замена Y40H, ЭМ 8H11 – H85Y,ЭМ D9 – R149I, ЭМ 8H3 – N202K и у ЭМ 9A3 – S242R. Обсуждается связь выявленных аминокислотных замен с особенностями реагирования полученных ЭМ в РТГА.

Ключевые слова: вирусы гриппа В, моноклональные антитела, эскейп – мутанты, молекула гемагглютинина, эпитопное картирование

EPITOPE MAPPINGOF THE HEMAGGLUTININ MOLECULE OF INFLUENZA B VIRUSES BELONGING TO YAMAGATA LINEAGE USING MONOCLONAL ANTIBODIES

Sorokin E.V., TsarevaT.R., SomininaA.A., PisarevaM.M., KomissarovA.B., Kosheleva A.A.

«Research Institute of Influenza» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St.-Petersburg, e-mail: esorokin@rambler.ru

The aim the study was the identification ofvirus neutralizing epitopes in heavy subunit (HA1) ofhemagglutininmolecule of influenza B viruses belonging to Yamagata lineage by characterization of obtained newescape mutants(EM) of viruses. Panel of six newlyreceived monoclonal antibodies (MAbs) used to select escape mutants of the viruses, two of them were directed to HA1 molecule of influenza B/Panama/45/90 virus and four MAbswere directed to HA1 of B/Florida/04/06 strain. Used MAbs reacted specifically only with B/Yamagata group strains in hemagglutination inhibition and neutralization tests without any reactivity with viruses of B/Victoria lineage. Analysis of the deduced amino acid sequences of EM 4H7 identified a double amino acid substitution V75I and D150T. Other EMs had single amino acid substitutions: EM 10F4 had substitution Y40H, EM 8H11 had substitution H85Y, EM D9 substitution R149I, EM 8H3 substitution N202K and EM 9A3 substitution S242R. Thecorrelation ofamino acid substitutions identifiedwith peculiarities of interaction of EMs with Mabsin HI has been discussed.

Keywords: influenza B viruses, monoclonalantibodies; escapemutants, hemagglutininmolecule, epitope mapping

Вирусы гриппа типа В, впервые выделенные в 1940 году, в течение длительного времени составляли одну весьма гетерогенную группу возбудителей. В начале 1980-х гг. наметился дивергентный характер их эволюции с формированием двух эволюционных линий, родоначальниками которых были признаны референс-вирусы В/Виктория/2/87 и В/Ямагата/16/88 [8], резко различающиеся по антигенным и генетическим свойствам и периодически (в разные эпидемические сезоны) сменяющие друг друга в циркуляции, что создает серьезные трудности при выборе штаммов для включения в состав гриппозных вакцин [2]. Установлено [7], что в результате естественного иммунопрессинга в пределах линий происходит постоянный антигенный дрейф, обусловленный мутациями в тяжелой субъединице гемагглютинина. По современным представлениям, Викторианская эволюционная линия разделилась далее на две генетически независимые сублинии, а Ямагатская – на четыре сублинии [7]. Информацию о механизмах антигенного дрейфа получают путем сравнения аминокислотного состава гемагглютинина природных изолятов и эскейп-мутантов, получаемых в лабораторных условиях в результате клонирования вирусов в присутствии моноклональных антител. Наблюдаемые в ходе естественной эволюции аминокислотные замены локализованы преимущественно в определенных локусах НА1, представляющих антигенные эпитопы этого белка. Интересно, что в этих же участках обычно происходят аминокислотные замены и у полученных в лабораторных условиях ЭМ.

В задачу настоящего исследования входила разработка моноклональных антител (МКА), направленных к НА1 вирусов гриппа ВЯ магатской линии с последующим получением эскейп–мутантов вируса и идентификацией иммунодоминантных эпитопов в составе молекулы гемагглютинина.

Материалы и методы исследований

Получение генетически стабильных штаммов мышиных гибридов – продуцентов моноклональных антител к вирусам гриппа.

МКА к вирусам гриппа типа В (штаммы В/Панама/45/90 и В/Флорида/04/06)были получены в лаборатории биотехнологии диагностических препаратов НИИ гриппа по методу [4] в следующей модификации. Мышей линии BALB/c иммунизировали путем внутрибрюшинного введения 70 мкг антигена вирусов гриппа В/Панама/45/90 или В/Флорида/04/06, очищенных ультрацентрифугированием в градиенте плотности сахарозы. Двенадцать недель спустя мыши были бустированы очищенной фракцией поверхностных гликопротеинов (15 мкг/мышь) тех же вирусов. Через 3 дня после бустер-иммунизации проводили гибридизацию спленоцитов иммунных мышей с клетками мышиной миеломы линии PxAg. 653 в соотношении 10:1 в присутствии 50% раствора полиэтиленгликоля-2000 в среде Игла D-MEM. Клонирование гибридом проводили методом предельных разведений. Первичный отбор клонов проводили в ИФА с использованием для сенсибилизации планшет фракции поверхностных гликопротеинов вируса с последующим поэтапным внесением исследуемых культуральных жидкостей и затем – пероксидазных конъюгатоваффинно очищенных антител к IgG мыши, разведенных 1:10 000 (Sigma). Отобранные клоны гибридом, культивируемые на селективной среде НАТ, подвергали 5- кратному реклонированию, чередующемуся с размножением отобранных клонов в 24-луночных планшетах. Стабильные клоны – продуценты МКА – подвергали криоконсервации, а также использовали для получения асцитов путем внутрибрюшинного введения клонированных гибридом мышам линии BALB/c предварительно праймированных пристаном (Sigma).*Селекция эскейп-мутантов.*

В целях получения ЭМ использовали ранее описанный метод клонирования вирусов гриппа в присутствии нейтрализующих вирус МКА [3]. Для этого вирусы дикого типа (В/Панама/45/90 или В/Флорида/04/06) смешивали с равными количествами взятых в избыточной концентрации специфических МКА к указанным вирусам. Смеси инкубировали 1 ч при 37 ^{0}С, после чего вводили в куриные эмбрионы. Через 72 часа аллантоисные жидкости собирали и исследовали в РГА. Пробы, обладающие гемагглютинирующей активностью, содержащие ЭМ вируса, подвергали повторному клонированию, после чего собирали отдельные клоны и исследовали способность реагировать в РТГА с гомологичными и гетерологичными МКА.

Реакции гемагглютинации (РГА) и торможения гемагглютинации (РТГА) проводили в соответствии с рекомендациями ВОЗ. За титр гемагглютининов принимали наибольшее разведение вируса, вызвавшее полную агглютинацию эритроцитов. При постановке РТГА МКА титровали в объеме 50 мкл на 0,1М ФСБ, после чего вносили 50 мкл вирусной суспензии, содержащей 4 ГАЕ вируса. После инкубации смеси при комнатной температуре в течение часа вносили по 100 мкл 1% суспензии куриных эритроцитов. Титром антител считали наибольшее разведение МКА, при котором наблюдалась полная ингибиция гемагглютинации.

Молекулярно-генетический анализ

Выделение РНК вирусов гриппа В осуществляли с помощью набора QIAampViralRNAMiniKit («Qiagen»). Обратную транскрипцию РНК проводили в течение 40 мин. при 37 ^{0}С со случайными гексамерными праймерами с применением коммерческого набора «Реверта-L» (ЦНИИЭ, Россия). Для амплификации использовали полимеразу ДиаТак («Интерлабсервис», Россия). Прямое секвенирование выполняли с помощью набора BigDyeTerninatorv3.1 CycleSequencingKit («AppliedBiosystems», США) с применением генетического анализатора GA3130 («AppliedBiosystems», США).

Результаты исследований и их обсуждение

Характеристика МКА, использованных в исследовании

В целях идентификации вируснейтрализующих эпитопов в молекуле гемагглютинина вирусов гриппа типа В Ямагатской эволюционной линии (ЭЛ) нами была разработана панель из шести МКА к вирусам гриппа, в т.ч. два – к вирусу В/Панама/45/90 (МКА 4Н7 и D9) и четыре – к штамму В/Флорида/04/06 (МКА 8Н3, 8Н11, 9А3 и 10F4). Согласно данным western-блота все МКА были направлены к тяжелой субъединице НА1. Все полученные МКА реагировали до высоких титров в ИФА (10^{-6}) с вирусами Ямагатской ЭЛ, при полном отсутствии взаимодействия с вирусами гриппа В Викторианской ЭЛ и штаммами ранних (1954-1983 гг.) лет выделения. МКА, полученные к Ямагатским штаммам, обладали выраженной антигемагглютинирующей активностью только в отношении вирусов, принадлежащих этой ветви, начиная с эталонного штамма В/Ямагата/16/88. Интересным исключением явились МКА 10F4, которые не взаимодействовали с ранними штаммами Ямагатской линии (1988–1998 гг. выделения), но реагировали в РТГА со штаммами 2004-2012 гг. выделения, антигенно родственными штамму В/Флорида/07/04. Все разработанные МКА не проявляли антигемагглютинирующей активности в отношении вирусов 1954 – 1983 гг. выделения и Викторианских изолятов (табл. 1). Разработанные МКА обладали выраженной вируснейтрализующей активностью, что обеспечило в дальнейшем возможность получения ЭМ вирусов.

Таблица 1

Взаимодействие моноклональных антител 4H7, 8H3, 8H11, 9A3 и 10F4 (Ямагатские клоны) с различными штаммами вируса гриппа типа Вв РТГА

Эволюционная линия	Штамм	Титр МКА в РТГА*				
		4H7	8H3	8H11	9A3	10F4
Штаммы ранних лет выделения	В/Грэйт Лэйк/54	<20	<20	<20	<20	<20
	В/Сингапур/222/79	<20	<20	<20	<20	<20
	В/СССР/100/83	<20	<20	<20	<20	<20
Штаммы Ямагатской эволюционной линии	В/Ямагата/16/88	10240	10240	80	2560	<20
	В/Панама/45/90	20480	20480	160	10240	<20
	В/Пекин/184/93	20480	20	160	80	<20
	В/Харбин/07/94	20480	20480	160	10240	<20
	В/Санкт-Петербург/210/95	20480	160	320	320	<20
	В/Липецк/3/97	20480	640	<20	320	<20
	В/Н.Новгород/348/97	20480	20480	40	1280	<20
	В/Яманаши/166/98	5120	20480	<20	2560	<20
	В/Флорида/07/04	20480	20480	160	5120	320
	В/ Флорида /04/06	20480	20480	160	5120	320
	В/Бангладеш/3333/07	20480	20480	160	5120	320
	В/Массачусетс/2/12	20480	20480	80	2560	160
Штаммы Викторианской эволюционной линии	В/ Пекин /243/97	<20	<20	<20	<20	<20
	В/Шандонг/07/97	<20	<20	<20	<20	<20
	В/Шига/51/98	<20	<20	<20	<20	<20
	В/Малайзия/2506/04	<20	<20	<20	<20	<20
	В/Брисбэйн/60/08	<20	<20	<20	<20	<20

*Примечание. приведены обратные величины титров

Выявление вируснейтрализующих эпитопов в молекуле гемагглютинина вирусов гриппа В/Панама/45/90 и В/Флорида/04/06

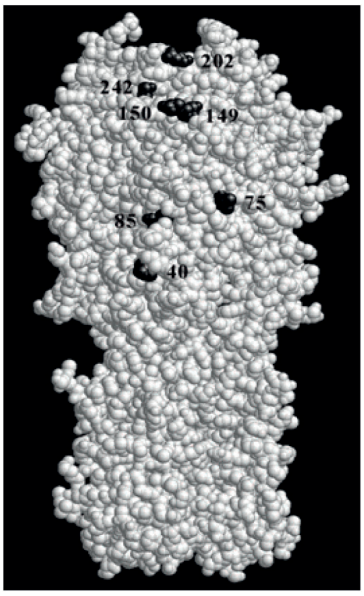
Известно, что получение ЭМ, резистентных к действию вируснейтрализующих МКА, является ценным инструментом в изучении изменчивости антигенной структуры гемагглютинина и идентификации иммунодоминантных эпитопов в составе HA1. Использование МКА позволяет определить, является ли антигенная детерминанта вирусного белка, с которой они взаимодействуют, индуктором синтеза вируснейтрализующих антител (АТ). Полученные с использованием МКА ЭМ имеют, как правило, одну или две, реже три нуклеотидные и соответствующие им аминокислотные замены. При этом в РТГА у ЭМ в сравнении с исходным вирусом наблюдается 8-32^{x}-кратное и более снижение титров при взаимодействии с МКА, использованными для селекции. Нами был получен ряд ЭМ, полностью резистентных к вируснейтрализующему действию соответствующих МКА.

В настоящее время в молекуле гемагглютинина вируса гриппа В выделяют четыре антигенно значимых домена – петля 120 и прилегающие регионы HA1 (116 – 137), петля 150 HA1 (141 – 150), петля 160 HA1 (162 – 167), а также спираль 190 HA1 (194 – 202) и окружающие ее области [10]. Установлено, что эта молекула содержит шесть антигенных сайтов: BA, BB1, BB2, BC, BD и BE [9].

Было показано, что ЭМ 4H7, полученный к вирусу гриппа В/Панама/45/90, имел две аминокислотные замены в положениях 75 (T75I) и 150 (D150T). Представляет интерес, что эти аминокислотные остатки находятся в различных функциональных областях гемагглютинина вируса гриппа В – сайтах BE и BA, соответственно [9]. По данным Nakagawa и соавторов [5], ряд ЭМ вируса гриппа В, штамм В/Кобе/28/2003, также имели двойные аминокислотные замены в молекуле HA1, при этом, ЭМ В/Кобе/28/2003–V4 имел замены в положениях 75 и 116, что соответствует сайтам BE и BC, т.е. изоляция ЭМ под иммунопрессом одного из МКА может приводить к появлению вариантов с АК заменами в двух различных антигенных сайтах. Другой ЭМ (ЭМ D9), полученный нами из штамма В/ Панама/45/90, имел одиночную аминокислотную

замену в положении 149 (R149I), что соответствует антигенному сайту ВА. Анализ ЭМ 8Н3, 8Н11, 9А3 и 10F4, полученных к вирусу В/Флорида/04/06, показал, что эти варианты ЭМ имели также одиночные аминокислотные замены в положениях N 202 K (спираль 190), 85 (H→Y), S 242 R (петля 240) и 40 (Y→H) соответственно.

Пространственная трехмерная модель локализации иммунодоминантных эпитопов в молекуле НА1 построена нами на основе идентификации изменчивых эпитопов в составе ЭМ и опубликованных данных по кристаллической структуре молекулы НА вируса гриппа В/Яманаши/166/98, PDBcode: 4M40 [6], с использованием программы RasMol, версия 2.7.4.2. Идентифицированы замены АК в НА1 в позициях 75 (T→I) и 150 (D→T) в ЭМ 4Н7 и 149 (R→I) ЭМ D9 вируса гриппа В/Панама/45/90. Кроме того, локализованы АК замены в положениях 202 (N→K), 85 (H→Y), 242 (S→R) и 40 (Y→H) у ЭМ вируса гриппа В/Флорида/04/06.



Локализация аминокислотных замен в молекуле НА1эскейп-мутантов вируса гриппа В/Флорида/04/06 Ямагатской линии

Влияние аминокислотных замен в составе гемагглютинина ЭМ вирусов гриппа В на характер взаимодействия с МКА

Для определения влияния аминокислотных замен в молекуле НА на характер реагирования со специфическими антителами в перекрестной РТГА изучено взаимодействие полученных ЭМ с различными МКА к вирусам гриппа В Ямагатской линии (табл. 2).

Таблица 2

Взаимодействие эскейп-мутантов 4Н7, D9, 8Н3, 8Н11, 9А3 и 10F4 с гомологичными и гетерологичными моноклональными антителами в РТГА

Штаммы и ЕМ вирусов гриппа	Титр МКА в РТГА*					АК замены
	4Н7	8Н3	8Н11	9А3	10F4	
В/Панама/45/90	20480	20480	160	10240	<20	нет (дикий тип)
В/Флорида/04/06	20480	20480	160	5120	320	нет (дикий тип)
ЭМ 4Н7	<20	20480	160	2560	80	N75I, D150T
ЭМ 8Н3	20480	20	80	2560	160	N202K
ЭМ 8Н11	20480	20480	<20	2560	160	H85Y
ЭМ 9А3	20480	<20	80	<20	160	S242R
ЭМ 10F4	20480	20480	160	2560	<20	Y40H
ЭМ D9	20480	20480	160	5120	<20	R149I

*Примечание —приведены обратные величины титров

Установлено, что все полученные ЭМ полностью утратили способность к взаимодействию с гомологичными МКА, использованными для селекции. Кроме того, ЭМ 8Н3, 8Н11 и 10F4 не проявили каких-либо особенностей взаимодействия с гетерологичными МКА по сравнению со штаммами дикого типа (титр в РТГА 1-1/2). ЭМ D9, как и штамм В/Панама/45/90, использованный для селекции, не реагировали с МКА 10F4. Это можно объяснить тем, что МКА 10F4 получены к вирусу В/Флорида/04/06, имеющему в НА в положении 40 тирозин, тогда как В/Панама/45/90 имеет в этой позиции гистидин. Этим же объясняется отсутствие взаимодействия МКА 10F4 с другими штаммами Ямагатской ветви 1990-х годов выделения (табл. 1). Тем более интересен тот факт, что ЭМ 4Н7 (исходный вирус В/Панама/45/90), напротив, стал взаимодействовать с МКА 10F4. ЭМ 4Н7 имеет 2 аминокислотные замены (T75I, D150T), и, видимо, одна из этих замен имеет компенсаторный характер во взаимодействии с МКА 10F4 или же это проявляется в их совокупной замене. ЭМ 9А3 (замена S242R), кроме резистентности к гомологичным МКА, перестал взаимодействовать с МКА 8Н3, тогда как ЭМ 8Н3 (замена N202K)

взаимодействовал с МКА 9А3 до полного титра, т.е. в данном случае сохранилось только одностороннее антигенное родство. Вероятно, это связано с тем, что аминокислотные остатки в положениях 202 и 242 входят в спираль 190 и петлю 240, они расположены в мембранно-дистальном конце молекулы НА и включены в состав рецептор-связывающего кармана вируса гриппа В. Переориентация боковых цепей в петле 240 может сильно изменять антигенные свойства этого региона [6]. Кроме того, МКА 8Н3 и 9А3 проявили сходную тенденцию при взаимодействии в РТГА с набором эталонных и отечественных изолятов – значимое снижение титров со штаммами В/Пекин/184/93, В/Санкт Петербург/210/95 и В/Липецк/3/97 (табл. 1)

Заключение

Таким образом, выполненные исследования дали возможность четко локализовать иммунодоминантные эпитопы в составе молекулы гемагглютинина вирусов гриппа В Ямагатской линии, ответственные за выработку вируснейтрализующих антител. Один из полученных ЭМ (ЭМ 4Н7) имел две аминокислотные замены Т75I и D150T, соответствующие сайтам BE и BA, ЭМ D9 – одиночную замену R149I – сайт BA, ЭМ 8Н3 – замену N202K, входящую в спираль 190 и рецептор–связывающий карман молекулы НА1. ЭМ 10F4 имел одиночную замену в положении 40 (Y→H), которая по современной классификации не входит ни в один из антигенных сайтов, но часто встречается у полевых изолятов [1]. ЭМ 8Н11 и 9А3 имели одиночные аминокислотные замены в положениях 85 (H→Y) и 242 (S→R) соответственно. Замены в этих положениях ранее описаны не были, что расширяет представления об антигенно значимых детерминантах в составе гемагглютинина вируса гриппа типа В.

Список литературы

1. Лобова Т.Г., Прокопец А.В., Комиссаров А.Б., Даниленко Д.М., Паянкова В.Ф., Суховецкая В.Ф. и др. Эволюционная изменчивость вирусов гриппа В, циркулировавших в Российской Федерации с 2005 по 2012 г // Вопросы вирусологии. – 2012. Т. – 54, № 6 – С. 22–26.

2. Соминина А.А., Лонская Н.И., Еропкин М.Ю., Литвинова О.М., Коновалова Н.И., Лобова Т.Г. и др. К вопросу о штаммовой композиции гриппозных вакцин на предстоящий эпидемический сезон 2005 – 2006 годов // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2005. – Т. 4, № 23, С. 3–7.

3. Kaverin N.V., Rudneva I., Govorkova E., Timofeeva T., Shilov A., Kochergin-Nikitsky K., et al. Epitope mapping of the hemagglutinin molecule of a highly pathogenic H5N1 influenza virus by using monoclonal antibodies.//J.Virol. 2007. Vol.81. pp. 12911-12917.

4. Kohler G., and Milstein C. Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion // Eur. J. Immunol. 1976. Vol. 6. pp. 511–519.

5. Nakagawa N., Suzuoki J., Kubota R., Kobatake S., Okuno Y. Discovery of the neutralizing epitope common to influenza B virus Victoria group isolates in Japan // J. Clin. Microbiol. 2006. Vol. 44. № 4. pp. 1564–1566.

6. Ni F., Kondrashkina E., Wang Q. Structural basis for the divergent evolution of influenza B virus hemagglutinin // Virology. 2013. Vol. 446. pp. 112–122.

7. Shen J., Kirk B., Ma J., Wang Q. Diversifying Selective Pressure on Influenza B Virus Hemagglutinin // J. Med. Virol. 2009. Vol. 81. №1. pp. 114–124.

8. Shih S., Chen G., Yang C., Yang W., Liu D., Lin J. et al. Laboratory based surveillance and molecular epidemiology of influenza virus in Taiwan // J. Clin. Microbiol. 2005. Vol. 43. pp. 1651–1661.

9. Stray S., Pittman L. Subtype- and antigenic site-specific differences in biophysical influences on evolution of influenza virus hemagglutinin //Virol. J. 2012; 9:91. doi:10.1186/1743-422X-9-91.

10. Wang Q., Cheng F., Lu M., Tian X., Ma J. Crystal structure of unligandedinfluenza B virus hemagglutinin // J. Virol. 2008. Vol. 82. P. 3011–3020.

References

1. Lobova T.G., Prokopets A.V., Komissarov A.B., Danilenko D.M., Payankova V.F., Sukhovetskaya V.F. et al. Evolutionary variability of influenza B viruses in Russian Federation in 2005–2012 . Vopr. Virusol. 2012, Vol. 54. no. 6, pp. 22–26 (in Russian).

2. Sominina A.A., Lonskaya N.I., EropkinM.Yu., Litvinova O.M., Konovalova N.I., Lobova T.G., et al.On the straincompositionof influenza vaccinesfor the upcoming 2005–2006 epidemic season.Epidemiologiya i vaccinoprofilactika. 2005, Vol. 4, no. 23, pp. 3–7 (in Russian).

3. Kaverin N.V., Rudneva I., Govorkova E., Timofeeva T., Shilov A., Kochergin–Nikitsky K., et al. Epitope mapping of the hemagglutinin molecule of a highly pathogenic H5N1 influenza virus by using monoclonal antibodies. J.Virol.,2007, Vol. 81, pp. 12911–12917.

4. Kohler G., and Milstein C. Derivation of specific antibody–producing tissue culture and tumor lines by cell fusion. Eur. J. Immunol. 1976, Vol. 6, pp. 511–519.

5. Nakagawa N., Suzuoki J., Kubota R., Kobatake S., Okuno Y. Discovery of the neutralizing epitope common to influenza B virus Victoria group isolates in Japan.J. Clin. Microbiol. 2006, Vol. 44. no. 4, pp. 1564–1566.

6. Ni F., Kondrashkina E., Wang Q. Structural basis for the divergent evolution of influenza B virus hemagglutinin. Virology,2013,Vol. 446, pp. 112–122.

7. Shen J., Kirk B., Ma J., Wang Q. Diversifying selective pressure on influenza B virus hemagglutinin. J. Med. Virol., 2009, Vol. 81. no. 1, pp. 114–124.

8. Shih S., Chen G., Yang C., Yang W., Liu D., Lin J. et al. Laboratory based surveillance and molecular epidemiology of influenza virus in Taiwan. J. Clin. Microbiol.,2005, Vol. 43, pp. 1651–1661.

9. Stray S., Pittman L. Subtype– and antigenic site–specific differences in biophysical influences on evolution of influenza virus hemagglutinin. Virol. J., 2012,9:91. doi:10.1186/1743–422X–9–91.

10. Wang Q., Cheng F., Lu M., Tian X., Ma J. Crystal structure of unligandedinfluenza B virus hemagglutinin. J. Virol., 2008, Vol. 82, pp. 3011–3020.

Рецензенты:

Жилинская И.Н., д.б.н., вед.науч. сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и генной инженерии ФГБУ «НИИ гриппа» МЗ РФ, г. Санкт-Петербург;

Киселева И.В., д.б.н., доцент, рук.лаборатории вакцинных штаммов отдела вирусологии им. А.А. Смородинцева, ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, г. Санкт-Петербург.

Работа поступила в редакцию 04.06.2014.