

# 长牡蛎中类 HBGAs 的分型及与诺如病毒 P 粒子结合特性研究

马丽萍<sup>1,2</sup>, 苏来金<sup>1</sup>, 赵峰<sup>1</sup>, 周德庆<sup>1\*</sup>

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 食品工程与营养研究室, 青岛 266071;

2. 中国科学院海洋研究所开放室, 青岛 266077)

**摘要:** **目的** 了解长牡蛎(*Crassostrea gigas*)消化道组织中类组织血型抗原(histo-blood group antigens, HBGAs)的类型特点, 分析其与诺如病毒的结合特性, 以探讨长牡蛎富集诺如病毒的机制。**方法** 利用 8 种 HBGAs 单克隆抗体, 建立长牡蛎中类 HBGAs 检测的 ELISA 方法, 并分析其主要型别。同时, 利用 5 种体外表达的 GII.4 型诺如病毒 P 粒子分析其与长牡蛎中类 HBGA 的结合特性。**结果** 长牡蛎消化道组织中存在类 A, H1, Lea 和 Ley 型 HBGA; 55019 株(2006b 变异株)和 97-11 株(95/96US 变异株) GII.4 型诺如病毒 P 粒子可通过类 A、H1 和 Ley 型 HBGA 与长牡蛎消化道组织相结合, 91(Camberwell\_91 株)和 42(Hunter\_2004)株可通过类 Ley 型 HBGA 与长牡蛎消化道组织相结合, 156 株(sakai 株)不与任何类型类 HBGA 结合。**结论** 长牡蛎消化道组织中存在类 A、H1、Lea 和 Ley 型 HBGA, GII.4 型诺如病毒主要通过类 A、H1 和 Ley 型 HBGA 与长牡蛎消化道组织相结合。

**关键词:** 长牡蛎; 组织血型抗原; 诺如病毒; 结合特性

## Type-like of HBGAs in *Crassostrea gigas* and its binding properties with norovirus P particles

MA Li-Ping<sup>1,2</sup>, SU Lai-Jin<sup>1</sup>, ZHAO Feng<sup>1</sup>, ZHOU De-Qing<sup>1\*</sup>

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

**ABSTRACT: Objective** To know the features of type-like HBGAs in digestive tissue of *Crassostrea gigas*, and analyze its binding properties of GII.4 genotype norovirus variants, and to research the mechanism of enrichment. **Methods** Eight types HBGAs-specific monoclonal antibodies (MAbs) from human were used to establish the ELISA method for type-like HBGAs in *Crassostrea gigas*. Binding profile between type-like HBGAs in *Crassostrea gigas* and 5 GII.4 genotype norovirus variants were also analyzed. **Results** A-like, H1-like, Lea-like and Ley-like were the main types HBGAs existed in digestive tissue of *Crassostrea gigas*. 2006b variant and 95/96US variant binding with A-like, H1-like and ley-like HBGAs in *Crassostrea gigas*. However, Camberwell\_91 variant and Hunter\_2004 variant only bind with ley-like HBGA, and sakai variant bind no type HBGA in *Crassostrea gigas*. **Conclusion** There are A-like, H1-like, Lea-like and Ley-like type

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31471663)

**Fund:** Supported by National Natural Science Foundation of China (31471663)

\*通讯作者: 周德庆, 博士, 研究员, 主要研究方向为水产品安全与质量控制、海洋功能食品与生物制品。E-mail: zhoudq@ysfri.ac.cn

\*Corresponding author: ZHOU De-Qing, Professor, Yellow Sea Fisheries Research Institute Chinese Academy of Fishery Sciences, No.106, Nanjing Rd, Qingdao(266071), China. E-mail: zhoudq@ysfri.ac.cn

HBGAs in digestive tissue of *Crassostrea gigas*. GII.4 genotype norovirus variants mainly bind with A-like, H1-like and Ley-like HBGA in *Crassostrea gigas*.

**KEY WORDS:** *Crassostrea gigas*; histo-blood group antigens; norovirus; binding properties

## 1 引言

诺如病毒(noroviruses, NoVs)是世界范围内重要的食源性病毒, 可以分为 5 个基因组(genogroups, GI-GV), 其中 GI、GII、GIV 基因组主要感染人类。GI、GII 又可以进一步细分为至少 8 和 21 个基因型, 每个基因型包含多个变异毒株, 其中引起全球暴发流行的是 GII.4 基因型, 每隔几年就有新的 GII.4 变异株出现并引起新一轮全球性胃肠炎的暴发流行<sup>[1]</sup>。诺如病毒衣壳由主要结构蛋白 VP1 组成, VP1 可进一步分为壳区 S 区和突出区 P 区。NoVs P 区是与 HBGA 受体结合的功能区, 可将不同形式的 P 区在体外进行表达, 形成不同的 P 复合物并显示不同的受体结合活性。比如, 将 P 区和短的铰链区一起表达, 只形成 P 区二聚体; 当把铰链区去除之后, 除了形成 P 区二聚体之外, 还形成由 12 个 P 二聚体组成的 P 粒子。P 粒子在很多报道中已经作为研究诺如病毒-HBGAs 相互作用的有力工具<sup>[2]</sup>。

长牡蛎(*Crassostrea gigas*)是我国重要的经济贝类, 因其滤食特性而富集 NoVs, 是携带 NoVs 的“高危食品”, 生食或食用加热不彻底的牡蛎会导致感染 NoVs 的风险增加<sup>[3]</sup>; 贝类净化方法难以有效地将 NoVs 从牡蛎体内去除<sup>[4,5]</sup>。因此, 需要从牡蛎富集 NoVs 机制的角度去深入研究, 建立预防食源性 NoVs 疫情暴发的有效方法以保证贝类食用安全。

NoVs 能识别人类组织血型抗原 (histo-blood group antigens, HBGAs), 并以此作为人类感染的受体<sup>[6]</sup>。诺如病毒识别 HBGAs 呈多态性, 包括 ABO、Lewis 和分泌型血型系统的 HBGAs<sup>[7]</sup>。Tian 等<sup>[8]</sup>发现, 牡蛎中存在着人类 HBGAs 的类似物, 可以与杆状病毒表达的病毒样粒子相结合, 这可能是牡蛎富集 NoVs 且不易净化的原因, 但有关牡蛎体内的类 HBGAs 研究报道较少, 其是否存在多态性, 与 NoVs 结合模式等都尚不明确。因此, 对长牡蛎类 HBGAs 的多态性展开调查, 探明其与不同型别 NoVs 的结合模式, 可为阐明长牡蛎富集 NoVs 的机制打下基础, 为消减长牡蛎中 NoVs 污染及保障长牡蛎食用安全提

供理论依据。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料

试验所用长牡蛎 20 只, 由中国科学院海洋研究所李莉老师提供, 为野生型长牡蛎, 解剖后取其内脏组织, -80 °C 保存。用于研究的不同年代的 GII.4 型诺如病毒 P 粒子表达菌株包括 1991 年的 91 株 (Camberwell 变异株)、2004 年的 JB0305015 株 (Sakai 变异株)、JB03040042 株 (Hunter 变异株)、1997 年 97-11 株 (95/96US 变异株) 和 2008 年 55019 株 (2006b 变异株), 由中国 CDC 病毒病所提供。

Precursor、A、B、H、Lea、Leb、Lex、Ley 型 HBGAs 的单克隆抗体(一抗)购自 Covance 公司; 四甲基联苯胺(TMB)购自 Sigma 公司; BCA 蛋白浓度试剂盒购自 Thermo 公司; 辣根过氧化物酶标记羊抗鼠 IgG、辣根过氧化物酶标记羊抗鼠 IgM 购自北京中杉金桥公司; 脱脂奶粉购自伊利公司; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、吐温-20 购自国药集团; 96 孔酶标板购自 Corning 公司。

### 2.2 仪器设备

2030 VICTORTMX Multilabel Reader(美国 Perkin Elmer 公司), D-37520 台式高速冷冻离心机(美国 Thermo 公司), T18 型匀浆机(德国 IKA 公司), BSP-150 生化培养箱(上海博迅实业有限公司), DK-8D 型电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司)。

### 2.3 样品前处理方法

取单个牡蛎消化道组织, 加入 3 倍体积 (*m:V*) PBS(pH7.4)溶液, 匀浆机刀头依次用 PBS、80% 乙醇溶液、PBS(pH7.4)清洗, 冰上匀浆 2 min; -80 °C 保存或继续后续试验。匀浆液简短离心后, 置于 95 °C 水浴中 10 min; 13000 g、4 °C 离心 10 min, 取上清液, 用 BCA 蛋白浓度试剂(Thermo)盒测定蛋白浓度。

### 2.4 P 粒子的表达和鉴定

经鉴定的不同 GII.4 型诺如病毒变异株重组质粒转化大肠杆菌 BL21。将转化细菌的过夜培养物按

1:100 接种 1 L 新鲜 LB 培养基, 在 37 °C 振荡培养至 OD<sub>600</sub> 约 0.5~0.7, 添加 IPTG 至终浓度 0.2~0.5 mmol/L, 22 °C 诱导过夜。次日, 收集菌体并用 PBS 重悬, 冰浴中超声处理; 离心取上清, 获得融合蛋白; 用 GST 标签蛋白纯化试剂盒(Thermo)和凝血酶对其进行纯化和酶切, 目的蛋白洗脱后, 通过 SDS-PAGE 进行检测, -80 °C 冻存备用。

## 2.5 长牡蛎消化道组织中类 HBGAs 的分型检测

根据实验室前期建立的方法<sup>[9]</sup>, 确定 ELISA 方法基本条件如下: 对热处理牡蛎消化道组织匀浆液蛋白浓度进行稀释, 取 100 μL 长牡蛎消化组织上清液加入酶标板中, 同时取 100 μL PBS 作为阴性对照, 每个样品做两组平行, 4 °C 过夜; 弃去残液, 用 PBS 洗板 3 次; 用 300 μL 10% 的脱脂奶粉封闭, 37 °C 孵育 2 h, 弃去封闭液, 自来水冲洗后, PBS 洗板 3 次; 加入 100 μL 稀释 600~1000 倍的 HBGA(precursor、A、B、H1、Lea、Leb、Lex 和 Ley)单克隆抗体, 37 °C, 孵育 1 h, 用 0.1% 的 PBS-T 洗涤 3 次; 加入 100 μL 稀释 1000~2000 倍的辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠二抗, 37 °C, 孵育 1 h, PBS-T 洗涤 3 次并拍干; 加入 100 μL 辣根酶的底物 TMB 溶液, 室温避光 15 min; 加入 100 μL 1 mol/L 硫酸终止反应, 酶标仪 450 nm 测 OD 值。实验阴性对照用 PBS 溶液代替牡蛎消化组织上清液包被酶标板, 其他条件相同, 阴性对照的 OD 值 ≤0.1, 同时计算阳性/阴性值(P/N 值), 以 P/N 值 >2.0 作为判断阳性的标准。

## 2.6 诺如病毒 P 粒子结合特性实验

取 100 μL GII.4 型诺如病毒 P 粒子(0.5 μg/mL)包板, 同时取 100 μL PBS 作为阴性对照, 每个样品做两组平行, 4 °C 过夜; PBS 洗涤 3 次, 10% 的脱脂乳封闭, 加入类 HBGAs 检出阳性的长牡蛎消化组织上清液(320 μg/mL)100 μL, 37 °C, 孵育 1 h。PBS 洗板 3 次, 加入 100 μL 稀释 600~1000 倍的 HBGA(A、H1、Lea 和 Ley)单克隆抗体 37 °C, 孵育 1 h, 用 0.1% 的 PBS-T 洗涤 3 次; 加入 100 μL 稀释 1000~2000 倍的辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠二抗, 37 °C, 孵育 1 h, PBS-T 洗涤 3 次并拍干; 加入 100 μL 辣根酶的底物 TMB 溶液, 室温避光 15 min; 加入 100 μL 1 mol/L 硫酸终止反应, 酶标仪 450 nm 测 OD 值。以 P 粒子包被实验组 P/N 值与阳性长牡蛎类 HBGAs 包被实验组 P/N 值的比值来评价 P 粒子与长牡蛎类 HBGA

的结合能力。

## 2.7 数据分析

采用 SPSS 单因素方差分析方法。

## 3 结果与分析

### 3.1 诺如病毒 P 粒子的表达及纯化

利用 GST 原核表达系统和 GST 标签蛋白纯化柱对不同变异株的 GII.4 型诺如病毒进行 P 粒子的表达和纯化, 获得 P 粒子的大小约 38 kDa, 如图 1 所示。

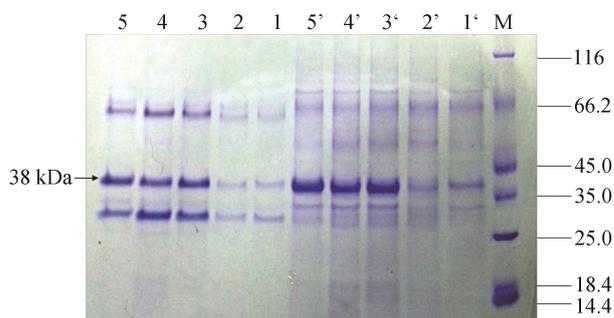


图 1 不同 GII.4 型诺如病毒 P 粒子表达纯化结果

Fig. 1 Purification results of 5 GII.4 genotype norovirus variants P particles

注: M: 蛋白 Marker; 1'-5' 为纯化前各毒株 P 粒子, 1-5 为 GST 蛋白标签纯化试剂盒纯化后的各毒株 P 粒子, 其中 1: JB03040042 株; 2: JB03050156 株; 3: 55019 株; 4: 91 株; 5: 97-11 株。

M: Marker; 1'-5': P particles before purification; 1-5: P particles after purification; 1: JB03040042 variant; 2: JB03050156 variant; 3: 55019 variant; 4: 91 variant; 5: 97-11 variant.

### 3.2 长牡蛎消化道组织类 HBGAs 分型结果

8 种 HBGA 单克隆抗体用于检测 20 只长牡蛎消化道组织中类 HBGAs 的类型。结果如下: 长牡蛎消化道组织中类 A 型 HBGAs 的检出率为 95%(19/20), P/N 值的平均值为 8.01±3.60(数值范围 2.88~16.63); 类 H1 型 HBGAs 检出率为 35%(7/20), P/N 值的平均值为 5.69±0.63(数值范围(2.50~9.20)); 类 Lea 型 HBGAs 检出率为 45%(9/20), P/N 值的平均值为 5.15±4.91 数值范围(2.29~14.63); 类 Ley 型 HBGAs 的检出率为 20%(4/20), P/N 值的平均值为 2.73±0.20 数值范围(2.47~2.97), 其余类型未检出。

### 3.3 长牡蛎类 HBGAs 与诺如病毒 P 粒子结合特性分析

GII.4 不同变异株 P 粒子与长牡蛎消化道组织中

类 A 型 HBGAs 结合特性如图 2 所示, 2008 年的 55019 株(2006b 变异株)与长牡蛎类 A 型 HBGA 结合能力较强, 抑制了超过 50%( $P < 0.05$ )的类 A 型 HBGA 与其单抗的反应, 约 18%( $P < 0.05$ )的 1998 年的 97-11 株(95/96US 变异株)与类 A 型 HBGA 的结合, 其他株与类 A 型 HBGA 的结合能力表现的不明显。

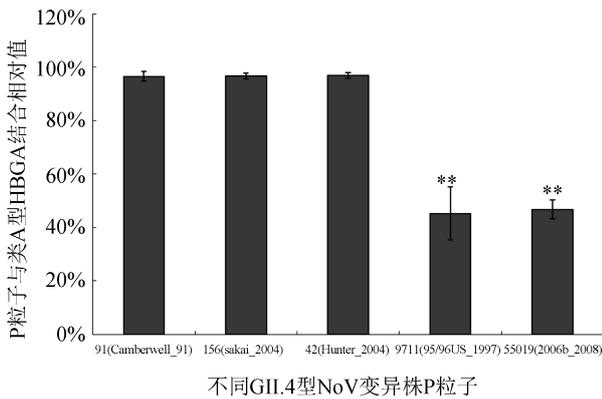


图 2 不同 GII.4 型 NoV 变异株与长牡蛎类 A 型 HBGA 结合特性分析

Fig. 2 Analysis binding properties between GII.4 genotype norovirus variants and A-like HBGA in oyster

同样, 55019 株(2006 b 变异株)和 97-11 株(95/96US 变异株)对 H1 型单抗与长牡蛎类 HBGA 的结合抑制作用明显( $>50%$ ,  $P < 0.05$ ), 均表现出了对类 H1 型 HBGA 较强的结合能力(图 3 所示)。

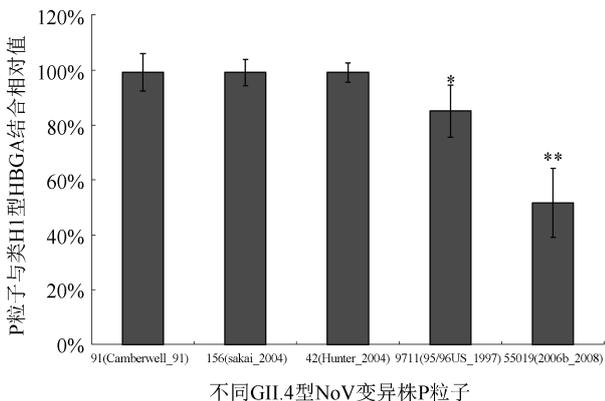


图 3 不同 GII.4 型 NoV 变异株与长牡蛎类 H1 型 HBGA 结合特性分析

Fig. 3 Analysis binding properties between GII.4 genotype norovirus variants and H1-like HBGA in oyster

不同 GII.4 型变异株对 Lea 型单抗与长牡蛎类 HBGA 的结合几乎没有抑制( $P > 0.05$ , 结果未列出), 说明 GII.4 型诺如病毒与类 Lea 型 HBGA 结合能力较弱或不结合。图 4 所示为类 Ley 型 HBGA 与不同 GII.4 型变异株结合能力, 其中 55019 株(2006b 变异株)和 97-11 株(95/96US 变异株)对 Ley 型单抗与长牡蛎类 HBGA 的结合抑制作用明显(约 70%,  $P < 0.05$ ), 全部  $P/N$  值  $< 2$ , 表现出了对类 Ley 型 HBGA 较强的结合能力; 91(Camberwell\_91 株)和 42(Hunter\_2004)株也表现出了对类 Ley 型 HBGA 的结合能力, 但是由于阳性  $P/N$  值较低, 均在 2 左右, 试验结果可能存在一定的误差。156 株(sakai 株)与所有类型 HBGA 都不结合。

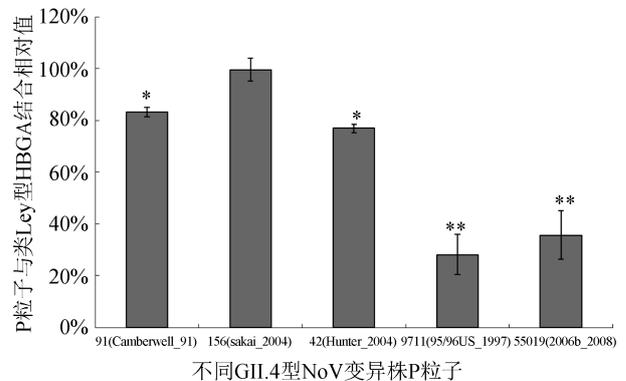


图 4 不同 GII.4 型 NoV 变异株与长牡蛎类 Ley 型 HBGA 结合特性分析

Fig. 4 Analysis binding properties between GII.4 genotype norovirus variants and Ley-like HBGA in oyster

综上, 长牡蛎消化道组织中的类 HBGA 类型主要有类 A、H1、Lea 和 Ley 型, 其中类 A、H1 和 Ley 型 HBGA 与 55019 株(2006b 变异株)和 97-11 株(95/96US 变异株)表现出较强的结合, 类 Lea 型与 GII.4 型各变异株的结合能力较弱。

#### 4 讨论

欧盟食品和饲料快速预警系统(Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF)分析了欧洲 2000 年至 2010 年间的 33 例 NoVs 引发的食源性疾病, 其中有 22 例与食用被 NoVs 污染的贝类有关, 占总数的 66.7%<sup>[10]</sup>。美国、加拿大、法国、英国、意大利、挪威、荷兰、日本以及韩国等主要的临海国家均有因食用被 NoVs 污染的牡蛎而引起急性胃肠炎的报道

[11-15]。大量的调查研究结果显示,大多数贝类引发的 NoVs 疫情暴发与食用牡蛎相关,这可能因为牡蛎是人们最常食用的贝类且常被生食或轻微煮食<sup>[3]</sup>。为降低牡蛎被 NoVs 感染的风险,科研人员利用牡蛎净化的方法去除牡蛎体内的 NoVs,结果表明,超过 90% 的致病菌经过净化作用在 48 h 内会被牡蛎排出体外,但 NoVs 仍会在净化处理后的牡蛎中被检出<sup>[4,5]</sup>,这表明 NoVs 并非简单存储于牡蛎体内。近年来,牡蛎等双壳贝类如何富集 NoVs 成为研究的热点。牡蛎是滤食性动物,可以从大量的海水中富集多种病原体,尤其是 NoVs。病毒在牡蛎中富集机制尚不清楚,但富集过程可能涉及到物理吸附,包括化学键、范德华键、氢键等其他类型的离子键。

最新的研究显示 NoVs 能够与牡蛎消化道中的抗原特异结合,类似人类 HBGA 与 NoVs 的结合机制<sup>[8]</sup>,且是结合在消化道和非消化道组织内的细胞<sup>[16]</sup>,这也是病毒在净化后的牡蛎中依然存在的原因。Tian 等<sup>[8,17]</sup>利用 NoVs-VLPs,通过免疫组化和 ELISA 方法证实了 NoVs-VLPs 能够与牡蛎胃肠组织中的多糖结合,而非蛋白部分,这间接证实了牡蛎中确实存在类似 HBGA 的物质介导了其富集病毒粒子的过程;Le Guyader 等<sup>[17]</sup>运用免疫组化方法揭示了 NoVs-VLPs 可与长牡蛎组织中的多糖特异性结合并呈现组织和病毒型别的差异。刘帅帅等<sup>[18]</sup>建立了贝类中类 A、B、H 型 HBGA 的 ELISA 检测方法,发现牡蛎消化道组织中存在不同类型的类 HBGA,主要为类 A 型和 H 型。本研究利用 8 种人体 HBGA 单抗对长牡蛎消化道组织中的类 HBGA 进行检测,发现了长牡蛎消化道组织中存在类 A、H1、Lea 和 Ley 四种组织血型抗原,说明了长牡蛎消化道内类 HBGA 的多态性,且从研究结果可以看出类 A 型 HBGA 是长牡蛎中最主要的 HBGA 类型。

Le Guyader 等<sup>[17]</sup>通过免疫组化实验验证了太平洋牡蛎可以有效地生物富集 GI.1 型病毒样粒子,即使在较低浓度病毒样粒子的暴露量下也可富集。但是突变的病毒样粒子不能识别 A 型组织血型抗原,在 1000 倍高浓度下才可以被检测到。Maalouf 等<sup>[19]</sup>研究还证实牡蛎对 GI.1 型 NoVs 生物富集效率和其消化组织中组织血型抗原的表达存在明显的季节变化。Maalouf 等<sup>[20]</sup>免疫组化定量分析方法揭示 GI.1 型 NoVs 是直接富集在牡蛎消化道组织中的,而在其他组织中几乎不存在。而 GII.3 和 GII.4 型 NoVs 则

不同,它们以相似的形式与消化道组织、鳃和内脏结合。GII.4 型 NoVs 和病毒样粒子在很低浓度下即可被牡蛎消化道组织所富集。相比之下,牡蛎富集 GII.3 型 NoVs,特别在鳃中 GII.3 型有一个明显的滞留情况。这些研究结果表明不同型别的 NoVs 与牡蛎特异性结合的方式是不同的,研究进一步显示 GII.1 型 NoVs 是通过 A 型组织血型抗原与牡蛎消化道组织相结合的,而 GII.3 型和 GII.4 型 NoVs 除此之外还能通过唾液酸化的配体与牡蛎各个组织结合。GII.4 型 NoV 是全球流行株,本文选用的 5 株 GII.4 型变异株都曾引起大规模胃肠炎的暴发流行,但结果发现并不是所有的 GII.4 变异株都与长牡蛎类 HBGA 有较强的结合能力,只有两株(2006b 变异株和 95/96US 变异株)与长牡蛎类 A 和 H1 型 HBGA 结合较强。靳淼等<sup>[21]</sup>利用 GII.4 变异株与不同组织血型抗原人工合成寡糖结合,分析结果显示 1998 年的 97-11 株(95/96US 变异株)和 2008 年的 55019 株(2006b 变异株)与寡糖的结合能力较强,两者均与 Ley、A、B 和 H1 结合,Sakai 株不与分泌型 HBGA 结合,在本研究中也未发现 Sakai 株与长牡蛎类 HBGA 有结合。2006b 变异株、95/96US 变异株、Camberwell 变异株和 Hunter 变异株表现出了对类 Ley 型的结合,但由于 Ley 本身 P/N 值较低,结果还需要后续试验进行进一步的验证。本研究证实长牡蛎消化道组织中的类 HBGA 存在多态性的特点,且与 GII.4 型诺如病毒不同变异株结合方式不同,这为探索牡蛎等贝类富集 NoVs 的机制提供理论依据,对于保护消费者健康,保障我国贝类产业可持续健康发展具有重要的意义。

#### 参考文献

- [1] Siebenga JJ, Vennema H, Zheng DP, *et al.* Norovirus illness is a global problem: emergence and spread of norovirus GII.4 variants, 2001-2007 [J]. *J Infect Dis*, 2009, 200(5): 802-812.
- [2] Harrington PR, Vinje J, Moe CL, *et al.* Norovirus capture with histo-blood group antigens reveals novel virus-ligand interactions [J]. *J Virol*, 2004, 78(6): 3035-3045.
- [3] Alfano-Sobsey E, Sweat D, Hall A, *et al.* Norovirus outbreak associated with undercooked oysters and secondary household transmission [J]. *Epidemiol Infect*, 2012, 140(2): 276-282.
- [4] Seamer C. The biology of virus uptake and elimination by pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [D]. Wellington: Victoria University of Wellington, 2007.
- [5] Schwab KJ, Neill FH, Estes MK, *et al.* Distribution of norwalk

- virus within shellfish following bioaccumulation and subsequent depuration by detection using rt-pcr [J]. *J Food Protect*, 1998, 61(12): 1674–1680.
- [6] Hutson, AM, Atmar, RL, Estes, MK. Norovirus disease: changing epidemiology and host susceptibility factors [J]. *Trends Microbiol*, 2004, 12(6): 279–287.
- [7] Harrington PR, Vinje J, Moe CL, *et al.* Norovirus capture with histo-blood group antigens reveals novel virus-ligand interactions [J]. *J Virol*, 2004, 78(6): 3035–3045.
- [8] Tian P, Bates AH, Jensen HM, *et al.* Norovirus binds to blood group A-like antigens in oyster gastrointestinal cells [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2006(43): 645–651.
- [9] Le Guyader FS, Atmar RL, Le Pendu J. Transmission of viruses thought shellfish: when specific ligands come into play [J]. *Curr Opin Virol*, 2012, 2(1): 103–110.
- [10] DiCaprio E, Ma YM, Purgianto A, *et al.* Internalization and dissemination of human norovirus and animal caliciviruses in hydroponically grown romaine lettuce [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2012, 78 (17): 6143–6152.
- [11] Fukuda S, Takao S, Shigemoto N, *et al.* Transition of genotypes associated with norovirus gastroenteritis outbreaks in a limited area of Japan, Hiroshima prefecture, during eight epidemic seasons [J]. *Arch Virol*, 2010, 155( 1) :111–115.
- [12] Lopman B, Zambon M, Brown DW. The evolution of norovirus, the gastric flu [J]. *Plos Med*, 2008, 5( 2) :e42.
- [13] Phillips G, Tam CC, Rodrigues LC, *et al.* Prevalence and characteristics of asymptomatic norovirus infection in the community in England [J]. *Epidemiol Infect*, 2010, 138(10): 1454–1458.
- [14] Lindesmith LC, Donaldson EF, Lobue AD, *et al.* Mechanisms of GII.4 norovirus persistence in human populations [J]. *Plos Med*, 2008, 5(2):e31
- [15] McLeod C, Hay B, Grant C, *et al.* Localization of norovirus and poliovirus in Pacific oysters[J]. *J Appl Microbiol*, 2009, 106(4): 1220–1230.
- [16] Tian P, Engelbrektson AL, Jiang X, *et al.* Norovirus recognizes histo-blood group antigens on gastrointestinal cells of clams, mussels, and oysters: a possible mechanism of bioaccumulation [J]. *J Food Prot*, 2007, 70 (9): 2140–2147.
- [17] Le Guyader F, Loisy F, Atmar R L, *et al.* Norwalk virus-specific binding to oyster digestive tissues[J]. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(6): 931–936.
- [18] 刘帅帅, 姚琳, 马丽萍, 等. 贝类中 3 种组织血型抗原 ELISA 检测方法的建立与分型[J]. *中国水产科学*, 2013, 20(1): 211–216.
- Liu SS, Yao L, Ma LP, *et al.* Use of ELISA for the detection and typing of three HBGAs in shellfish [J]. *J Fishery Sci China*, 2006, 12(6): 931–936.
- [19] Maalouf H, Zakhour M, Le Pendu J, *et al.* Norovirus genogroup I and II ligands in oysters: tissue distribution and seasonal variations [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76: 5621–5630.
- [20] Maalouf H, Schaeffer J, Parnaudeau S, *et al.* Strain-Dependent Norovirus Bioaccumulation in Oysters [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77: 3189–3196
- [21] 靳淼, 张翠红, 李慧莹, 等. GII.4 型诺如病毒不同变异株与 HBGAs 结合模式分析[J]. *国际病毒学杂志*, 2015, 22: 4–10.
- Jin M, Zhang CH, Li HY, *et al.* The HBGAs binding profile of GII.4 genotype norovirus variants [J]. *Int J Virol*, 2015, 22: 4–10.

(责任编辑: 白洪健)

## 作者简介



马丽萍, 博士, 主要研究方向为水产品质量安全  
E-mail: maliping1010@163.com



周德庆, 研究员, 主要研究方向为水产品质量与安全控制、海洋功能食品与生物制品。  
E-mail: zhoudeqing@ysfri.ac.cn