

# 评价全血DNA二代测序共有序列 在人类免疫缺陷病毒优势准种研究中的 准确性

张媛媛<sup>1,2</sup> 殷倩倩<sup>1</sup> 杜鹏程<sup>2</sup> 丁奕博<sup>1</sup> 韩俊燕<sup>2</sup> 林倩茹<sup>1</sup> 马丽英<sup>1</sup>

**【摘要】目的** 评价二代测序共有序列对人类免疫缺陷病毒(HIV)优势准种分析的代表性和准确性。**方法** 共收集29个HIV感染病例的32份全血样本,其中3个病例在随访期间发生耐药,分别采集治疗前和耐药后的两份样本。提取样本DNA,分别用二代测序和一代测序方法测定HIV pol区扩增产物序列。利用软件Sequencher(4.10.1)和Bowtie 2(v2.2.5)处理一代和二代测序数据,并利用自建分析脚本确定二代测序共有序列,利用Mega软件进行聚类分析,比较二代测序共有序列与一代测序序列的差异。**结果** 聚类分析结果表明,90.6%(29/32)来自于同一样本的序列被聚类在同一分支上,平均可信度为95.5%;与一代测序序列结果相比,二代测序平均每个碱基准确率为99.6%,完全不一致位点中碱基转换占81.6%(155/190),数量最多的为鸟嘌呤(G):腺嘌呤(A),共74个(占39.0%、74/190)。**结论** 二代测序共有序列与一代测序序列具有较高的一致性,二代测序共有序列可用于HIV优势准种分析,具有较好的代表性和准确性。

**【关键词】** 一代测序;二代测序;人类免疫缺陷病毒;共有序列;优势准种

**Evaluation on the accuracy of consensus sequence of Next-generation sequencing of blood DNA for human immunodeficiency virus dominant quasispecies** Zhang Yuanyuan<sup>1,2</sup>, Yin Qianqian<sup>1</sup>, Du Pengcheng<sup>2</sup>, Ding Yibo<sup>1</sup>, Han Junyan<sup>2</sup>, Lin Qianru<sup>1</sup>, Ma Liying<sup>1</sup>. <sup>1</sup>National Center for AIDS/STD Control and Prevention, Chinese Center for Diseases Control and Prevention, Beijing 102206, China; <sup>2</sup>Beijing Key Laboratory of Emerging Infectious Diseases, Institute of Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China

Corresponding author: Ma Liying, Email: mal@chinaaids.cn

**【Abstract】Objective** To assess the representativeness and accuracy of consensus sequence generated from Next-generation sequencing (NGS) for human immunodeficiency virus (HIV) quasispecies. **Methods** Total of 32 blood samples from 29 patients with HIV infection were collected. Among them, 3 blood samples were collected from 3 patients when virologic failure occurred. HIV DNA pol gene was amplified and sequenced by Sanger sequencing and NGS sequencing, respectively. The sequencing data of Sanger and NGS were processed by Sequencher (v4.10.1) and Bowtie2 (v2.2.5) separately. Furtherly, the consensus sequence from NGS was defined by the homemade PERL scripts. Finally, cluster analysis was processed by Mega software and the different sites between the consensus sequence of NGS and Sanger sequencing were identified and analyzed, respectively. **Results** Cluster analysis showed that 90.6% (29/32) sequences derived from the same sample were clustered in the same branch, the average credibility was 95.5%. The accuracy of each nucleotide site in consensus sequences was 99.6% compared to Sanger sequencing. Furthermore, the 81.6% (155/190) nucleotide type of inconsistent sites was transition, and the transition between Guanine (G) and Adenine (A) was the most common with the occurrence ratio of 39% (74/190). **Conclusions** The consensus sequence of NGS sequencing could be used in the study of

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2021.01.005

基金项目:“十三五”国家科技重大专项项目(No.2018ZX10101002);国家自然科学基金(No.81871694)

作者单位:102206 北京,传染病预防控制国家重点实验室,中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心病免室<sup>1</sup>; 100015 北京,新发突发传染病研究北京市重点实验室,首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所<sup>2</sup>

通信作者:马丽英,Email:mal@chinaaids.cn

HIV dominant quasispecies, which could present the high accurate results with Sanger sequencing.

【Key words】 Sanger sequencing; Next-generation sequencing; Consensus sequence; Human immunodeficiency virus; Dominant quasispecies

人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 是导致获得性免疫缺陷综合征 (acquired immune deficiency syndrome, AIDS) 的病原体, 也是目前已知的变异最快的病毒之一。一旦HIV感染人体并开始复制, 很快便可在感染者体内建立一组高度相关且具有遗传异质性的病毒群体, 也被称之为“准种”<sup>[1-2]</sup>。HIV前病毒DNA是HIV在复制过程中的存在形式之一, 由于其存在时间长、具有明确的功能且储存了HIV进化信息, 目前已成为新的研究热点和检测靶标<sup>[3-5]</sup>。但相较于HIV RNA, 前病毒DNA具有更大的遗传异质性, 这对于前病毒DNA的检测技术提出了更高的要求。二代测序技术 (next-generation sequencing, NGS), 又称为深度测序, 一次可以并行测定千万级别的短序列<sup>[6]</sup>, 是目前HIV准种研究的常用技术<sup>[2, 5, 7-8]</sup>。通过NGS可一次性产出数Gb到数百Gb的长度为150~250 bp短序列, 经过生物信息技术处理, 可拼接出共同序列<sup>[9]</sup>用以代表宿主体内的病毒优势准种<sup>[10]</sup>。本研究拟通过一代测序 (sanger sequencing) 和NGS, 评价全血DNA NGS共有序列在HIV优势准种研究中的准确性, 现报道如下。

## 材料与方法

### 一、样本信息

本研究共采集32份全血样本, 采集自河南省既往有无偿献血的29例HIV-1感染者。采集外周血, EDTA抗

凝, 基线病毒载量中位数为4.84 log<sub>10</sub>拷贝/ml (极差: 3.21~6.98 log<sub>10</sub>拷贝/ml), CD4<sup>+</sup> T细胞计数中位数为166个/μl (极差: 15~515 个/μl)。其中29份为来自未治疗HIV感染者的样本, 编号为S1~S29; 其中3个病例S1、S2和S3在随访期间发生耐药, 32份样本中3份 (样本编号为S1R、S2R和S3R) 采集自HIV感染病例体内病毒完全抑制后, 出现病毒反弹现象时, 分别为接受药物治疗108个月、18个月和48个月时。本项目的伦理审查由中国疾病预防控制中心医学伦理认证委员会批准 (批号: IRB00002276), 在全血样本收集前入组研究对象均已签署知情同意书。

### 二、核酸提取和HIV pol区扩增

全血样本利用QIAamp DNA Blood Mini Kit提取DNA, 按照HIV耐药基因型检测操作规程《全国艾滋病检测技术规范 (2015年修订版)》<sup>[11]</sup>对HIV-1 pol基因进行巢式PCR扩增。扩增引物序列见表1中引物F1a、F1b、RT-R1、PRT-F和RT-R2, 扩增产物采用1%琼脂糖凝胶电泳进行检测, 目标条带位于1.3 kb处。

### 三、测序

扩增产物经检测合格后, 进行一代测序, 即Sanger测序法测序。同时, 利用表1中引物F1、R1、F2和R2进行分段扩增。该引物根据HXB2序列进行引物设计, 并在引物5'-端引入标签序列, 用以区分样本。PCR产物纯化回收后, 构建测序文库。测序文库质检合格后, 利用Illumina Miseq平台进行双端250 bp测序<sup>[12]</sup>。

表1 一代测序和深度测序 PCR 扩增特异性引物

引物名称	序列 (5'→3')	位置 <sup>a</sup>	片段长度 (bp)	退火温度 (°C)
F1a	TGAARGAITGYACTGARAGRCAGGCTAAT	2 057~2 085		
F1b	ACTGARAGRCAGGCTAATTTTTTAG	2 068~2 092	1 291	50
RT-R1	ATCCCTGCATAAATCTGACTTGC	3 370~3 348		
PRT-F2	CTTTARCTTCCCTCARATCACTCT	2 243~2 266		
RT-R2	CTTCTGTATGTCATTGACAGTCC	3 326~3 304	1 061	55
F1	xxx <sup>b</sup> GCCAGGAATGGATGGCCAAAAG	2 588~2 610	431	60
R1	xxx <sup>b</sup> TGGTGATCCTTCCATCCCTGTGG	3 020~2 997		
F2	xxx <sup>b</sup> AGTATACTGCATTACCATAACC	2 926~2 947		
R2	xxx <sup>b</sup> CTTCTGTATGTCATTGACAGTCC	3 326~3 304	400	60

注: <sup>a</sup>: 参考序列 HXB2 位置, <sup>b</sup>: 序列标签 3 ~ 5 bp

#### 四、测序数据处理和聚类分析

Sanger测序数据利用Sequencher 4.10.1进行数据处理及拼接，最后以Fasta格式输出。NGS数据，利用软件Bowtie2 v2.2.5将测序读段(Reads)与参考序列HXB2 (GeneBank accession no.NC\_001802)进行比对，利用自建分析脚本(<http://github.com/generality/iSNV-calling/>)确定共有序列，并确定每个碱基位置的碱基组成和比例。获得Sanger测序序列和NGS共有序列之后，利用Mega6软件进行序列聚类分析，使用HXB2作为外类群(root)，参数使用默认参数。

### 结 果

#### 一、测序结果

从32份样本中共获得32条Sanger序列，平均长度为1.3 kb。Sanger序列与中国主要亚型参考序列的聚类分析表明，所有样本均为B亚型(如图1)。NGS共获得有效数据110 Mb，扩增测序位置为2 358~3 326 bp (HXB2序列为参考)，平均每个样本获得有效数据为3.2 Mb，每个碱基位置的平均测序深度为4 248 × (极差：1 108 ×~7 401 ×)。

#### 二、序列聚类分析

利用Sanger序列和NGS共有序列构建进化树(如图2)，建树序列长度为690 bp。在32份样本中，同一样本的两条序列聚集在同一分支上的样本

为29个(90.6%)，平均可信度为95.5% (极差：84%~100%)。耐药样本均与同一病例的基线样本聚类在同一分支上，可信度分别为91%、93%和67%。耐药样本S2R和S3R的两条序列聚类在同一分支上，并与同一病例的基线样本S2和S3的Sanger序列聚类在同一分支上，亦即耐药样本序列与同一病例的基线样本的Sanger序列一致性更高，可信度分别为92%和84%，用药时长分别为48个月和18个月。而基线样本S1的Sanger序列和NGS序列聚类在同一分支上，可信度为86%，其耐药样本S1R(该病例的用药时长为108个月)的NGS序列与基线样本的一致性更高，可信度为99%，S1R的Sanger序列与同一病例其他序列的一致性较低，可信度为67%。

#### 三、不一致碱基位点分析

本研究中不一致碱基位点定义为在同一样本中Sanger序列与NGS序列在同一碱基位置(以HXB2序列为参考)上，碱基不完全相同的位点。若Sanger序列中标记为混合序列，无论是否包含NGS共有序列同一位置的碱基类型，均被定义为不一致碱基位点。完全不一致位点定义为在同一样本中两条序列的同一位置碱基完全不同。

来自于同一样本的Sanger序列与NGS序列相比较，在32对序列中共发现554个不一致位点，平均18个/样本(极差：2~57个/样本)。不一致位点最多的样本是耐药样本S1R(57个)，该样本

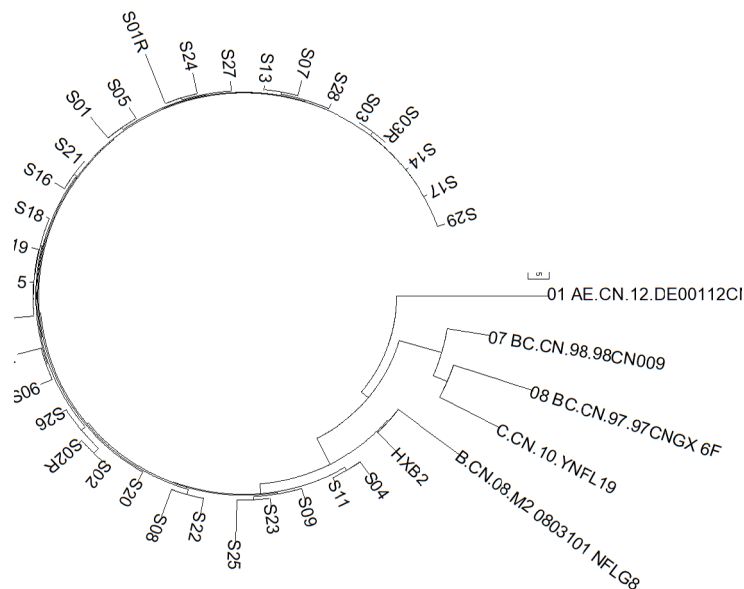


图1 样本Sanger序列与中国主要亚型参考序列聚类图

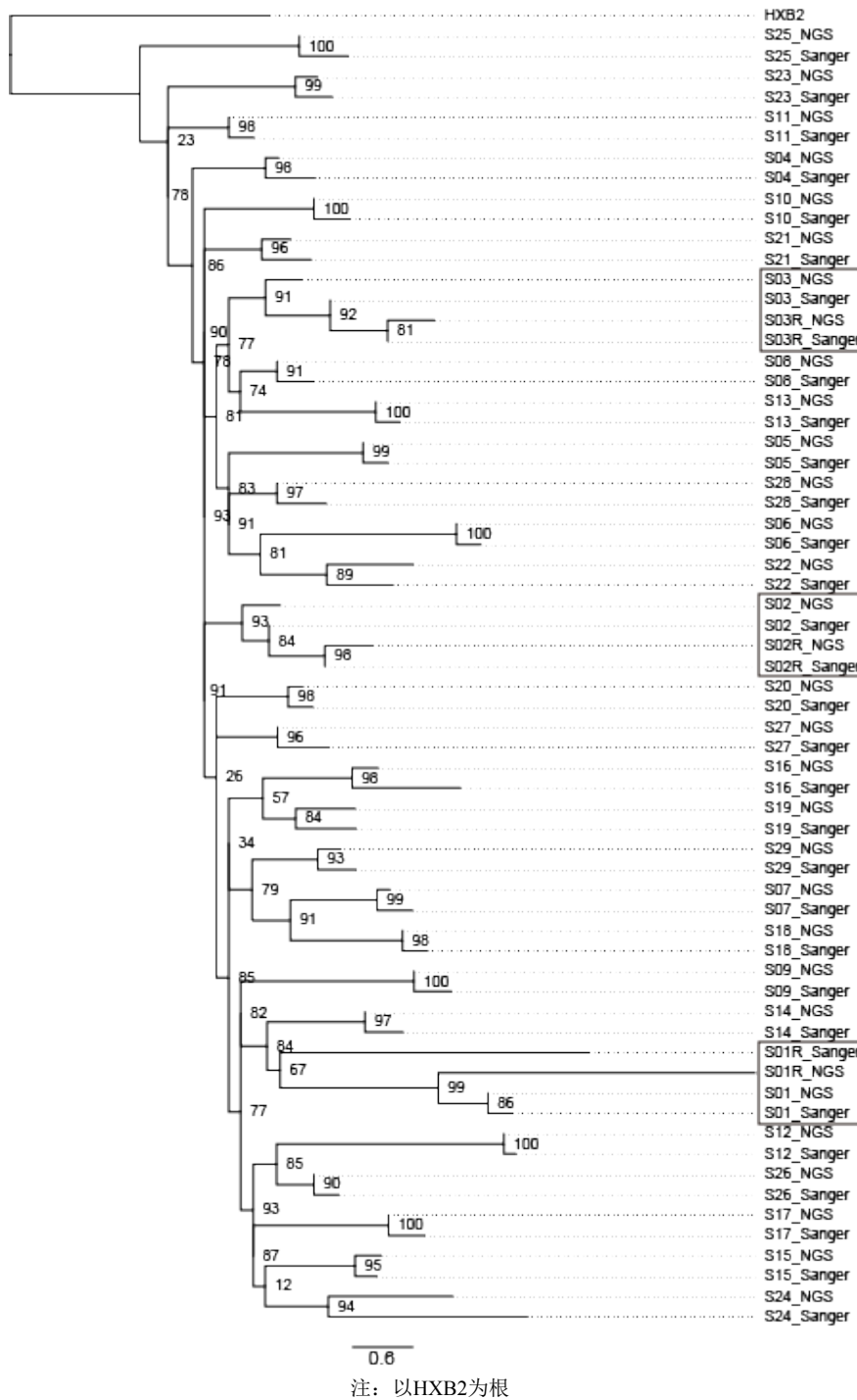


图2 Sanger测序序列和NGS共有序列进化树

也是第2个采样点距第1个采样点时间最长的样本（108个月）。其余2个耐药样本S3（48个月）和S2（18个月）的不一致位点分别为23个和4个，不一致位点最少的样本是基线样本S13和S31，数量均为2。不一致碱基类型共26种（见表2），出现次数最多的是R:G（Sanger:NGS，R表示碱基A + G），在23个样本中共57个位置上出现。

而在所有样本中均存在的不一致碱基类型为G:A（Sanger:NGS）。本研究还逐一比较Sanger序列中的混合位点与NGS共有序列同一位置的碱基检测结果，发现混合碱基均可被NGS检测到，检出率为100%（364/364）。

完全不一致位点190个，平均6.0个/样本。完全不一致位点碱基类型以碱基转换为主，共155个

(81.6%)，最多的是G:A (Sanger:NGS) 共74个 (39.0%) (见表3)，其他数量较高的还有G:A (29个、15.3%)、T:C (26个、13.7%) 和C:T (26个、13.7%)。完全不一致位点数量最多的为样本S1R (52个)。

鉴于NGS共有序列列出的为每个位置上含量最高的碱基，因此本研究将完全不一致位点的Sanger测序碱基类型与NGS方法测序得到的所有碱基进行比较，发现108个位点 (56.8%) 的两种检测结果完全不同，即NGS未检测到Sanger法测序同一位置上的碱基，经过换算，平均每个碱基的准确率为99.6% $[100\% - (108 \times 100\% / (831 \times 32))]$ 。

表2 NGS共有序列与Sanger序列不一致碱基类型和数量

NGS序列碱基类型	Sanger序列碱基类型 <sup>a</sup>	位点数量	样本数量
A	C	9	6
A	G	74	32
A	H	1	1
A	M	19	12
A	R	77	23
A	T	7	6
A	W	7	7
C	A	6	5
C	G	5	4
C	H	2	2
C	M	9	6
C	S	1	1
C	T	26	10
C	Y	75	22
G	A	29	10
G	C	1	1
G	K	5	5
G	R	92	23
G	S	2	2
T	A	4	2
T	C	26	9
T	G	3	3
T	K	10	9
T	S	1	1
T	W	6	5
T	Y	57	24

注：Sanger序列碱基类型中V表示A+C+G；D表示A+T+G；B表示T+C+G；H表示A+T+C；W表示A+T；S表示C+G；K表示T+G；M表示A+C；Y表示C+T；R表示A+G

表3 NGS共有序列与Sanger序列完全不一致碱基类型和数量

NGS序列碱基类型	Sanger序列碱基类型	位点数量	样本数量
A	C	9	6
A	G	74	32
A	T	7	6
C	A	6	5
C	G	5	4
C	T	26	10
G	A	29	10
G	C	1	1
T	A	4	2
T	C	26	9
T	G	3	3
合计		190	88

## 讨 论

HIV是目前已知的变异最快的逆转录病毒之一，其高复制率和大量突变体的存在，使HIV能够逃避宿主免疫攻击，并极大降低HIV疫苗和抗病毒药物的效果。HIV的这一特征是由3种因素所致：①HIV的逆转录酶缺乏“纠错”能力<sup>[1-2]</sup>；②病毒复制速度快<sup>[13-14]</sup>；③两个HIV突变体可发生重组<sup>[15-16]</sup>。另外，宿主因素亦能引起HIV突变，产生新的变体，如人类载脂蛋白B mRNA编辑酶催化多肽3G (apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide 3G, APOBEC3G)，作为一种脱氨酶，可以诱导HIV DNA上的胞嘧啶替换为尿嘧啶<sup>[17-18]</sup>。正因HIV这种高度变异准种的存在，使HIV核酸 (包括DNA和RNA) 序列测定的准确性，以及是否可代表宿主体内全部变异体成为研究难点和热点之一。虽然，目前众多关于HIV生物学特性的认识均来源于HIV序列研究<sup>[19]</sup>，在此过程中研究人员开发了大量测序和分析策略，但上述问题始终未得到公认完美的解决方法。本研究通过比较HIV DNA的Sanger测序序列和NGS共有序列间的差异，以评估将NGS共有序列应用于HIV研究中的效果。

早期HIV序列测定技术主要采用Sanger测序法，在1个测序反应中仅能测定1条目的片段的碱基序列，具有目标明确、结果精准、通量小、读长长特点，其测序长度可以达到1 000 bp，是我国《全国艾滋病检测技术规范 (2015年修订版)》推荐的实验室检测方法之一，主要用于HIV基因型耐药检

测, 但该指南也指出: 当耐药毒株在隔日内病毒群体中的比例低于10%~20%时, 通常检测不到其存在<sup>[11]</sup>。而NGS技术以大规模并行测序的方式, 可检测到宿主体内低至1%的HIV变异体<sup>[20-21]</sup>, 因此, 在HIV追踪溯源、耐药预测、进化研究中被广泛使用。共有序列是伴随NGS技术而出现的概念, 是在一套相似序列中的每个位置上均由最常出现(占比最高)残基所组成的DNA或氨基酸序列, 代表了宿主体内HIV的主要变异体<sup>[9]</sup>。本研究聚类分析提示, NGS共有序列在构建进化树时, 可获得与Sanger测序序列高度相似的结果。但进一步比较完全不一致位点数目和碱基类型, 发现在部分样本中二者仍然存在较大差异。进一步比较Sanger序列和NGS所获得结果, 发现56.8%(108个)位点NGS测序结果与Sanger测序完全不同, 这些结果可能是PCR和测序带来的错误。也提示单一使用NGS方法进行HIV变异研究时, 应该严格控制PCR或测序错误带来的误读, 可采用高保真酶进行PCR扩增, 以减少PCR引入的偏差; 还可在PCR和测序实验过程中加入质粒作为对照, 并计算质粒测序结果的准确性从而判断样本测序结果的准确性; 必要时, 还可对结果进行进一步的验证。

本研究共包含3个耐药样本, 其中样本S1R表现出了NGS共有序列与Sanger测序序列最大差异, 这个样本与同一病例用药前的样本采集时间相差108个月。出现这种结果的原因可能是本研究选用了HIV DNA作为核酸模板, 与血浆HIV RNA相比, 具有更高的遗传异质性, 同一宿主体内的HIV变异体更多。大量研究表明, 细胞内总HIV DNA是HIV进化历史的储存载体, 是与所致疾病进展、疗效、病毒耐药高度相关的临床指标, 还是HIV体内持留和病毒储存库的生物标记物<sup>[3, 22]</sup>。因此, HIV DNA的定量和定性研究已经成为HIV进化和储存库研究领域的常用靶标。鉴于NGS技术在高复杂度样本中的测序能力, 用NGS技术解决HIV DNA序列测定是可行的, 也是必要的<sup>[6, 23]</sup>。本研究不仅比较了不一致位点的数量, 还比较了不一致位点的碱基类型, 以A:G、G:A、T:C和C:T (NGS; Sanger)最为常见, 这些位点占全部完全不一致位点的81.6%, 这些变化位点均为碱基转换。相较于碱基颠换, 碱基转换更常以同义替代(亦称为沉默替代)的形式存在<sup>[24-25]</sup>。因此, NGS中发生的与Sanger测序完全不一致的位点, 其大部分测序结果

对氨基酸序列分析结果无影响。

本研究NGS测序中, 每个碱基位置的平均测序深度为 $4\ 248 \times$ (极差:  $1\ 108 \times \sim 7\ 401 \times$ ), 且本研究还逐一比较Sanger序列中的混合位点与NGS共有序列同一位置的碱基检测结果, 发现混合碱基均可被NGS检测到, 检出率为100%。这些结果展示了NGS对于HIV这种高突变病原体病毒准种的解读能力。另外, 基于NGS结果计算每个碱基位置的碱基组成, 有助于更好地理解不同样本间病毒准种的差异<sup>[26]</sup>, 因此, 在研究病毒准种及病毒准种变异时NGS较Sanger测序更有优势。但鉴于存在不一致性, 且NGS实验周期较长, 数据分析难度较大等原因, 目前NGS还无法取代Sanger测序, 而应根据研究目的和样本类型选择测序方法。

综上, 本研究分析了NGS共有序列在HIV优势准种研究中的代表性和准确性, 结果表明NGS共有序列可替代Sanger测序结果进行聚类分析。NGS共有序列可用于HIV优势准种分析, 具有较好的代表性和准确性。同时应该注意, 在获得NGS共有序列时, 需严格控制PCR和测序错误, 必要时应对NGS结果进行进一步验证。

## 参 考 文 献

- [1] Coffin JM. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy[J]. *Science*, 1995, 267(5197): 483-489.
- [2] 冯凯迪, 张志敏, 张秋月, 等. 深度测序用于分析抗病毒治疗急性期感染者的HIV-1准种群变化[J]. *中国艾滋病性病*, 2017, 23(7): 582-586, 591.
- [3] Rouzioux C, Trémeaux P, Avettand-Fenoël V. HIV DNA: a clinical marker of HIV reservoirs[J]. *Curr Opin HIV AIDS*, 2018, 13(5): 389-394.
- [4] Avettand-Fenoël V, Hocqueloux L, Ghosn J, et al. Total HIV-1 DNA, a marker of viral reservoir dynamics with clinical implications[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2016, 29(4): 859-880.
- [5] 刘志英, 袁霖, 张欣, 等. 总HIV-1 DNA定量检测技术的建立[J]. *中国艾滋病性病*, 2019, 25(3): 222-226, 235.
- [6] 张淳, 张媛媛. 基因测序技术在细菌性传染病监测中的应用[J]. *中国医学装备*, 2017, 14(7): 134-138.
- [7] Eriksson N, Pachter L, Mitsuya Y, et al. Viral population estimation using pyrosequencing [J]. *PLoS Comput Biol*, 2008, 4(4): e1000074.
- [8] 贺健梅, 邹潇白, 陈曦, 等. 超深度焦磷酸测序技术用于HIV-1 RT基因区原发性耐药突变的研究[J]. *中华流行病学杂志*, 2014, 35(10): 1142-1145.
- [9] Schneider TD. Consensus sequence Zen[J]. *Appl Bioinformatics*, 2002, 1(3): 111-119.
- [10] Andino R, Domingo E. Viral quasispecies[J]. *Virology*, 2015, 479-480: 46-51.
- [11] 中国疾病预防控制中心. 全国艾滋病检测技术规范(2015年修订版)[EB/OL]. 2015. <http://ncaids.chinacdc.cn/xxgx/jszl/201608/>

- t20160810\_133524.htm
- [12] 殷倩倩, 徐维四, 焦洋, 等. HIV-1感染者血浆病毒RNA与全血前病毒DNA的比较[J]. 中国艾滋病性病, 2016, 22(3):155-159.
- [13] Ho DD. Perspectives series: host/pathogen interactions. Dynamics of HIV-1 replication in vivo[J]. J Clin Invest, 1997, 99(11):2565-2567.
- [14] 孔德生, 马丽英. HIV的清除和艾滋病功能性治愈的研究进展[J]. 中国热带医学, 2016, 16(11):1145-1150.
- [15] Song H, Giorgi EE, Gansov VV, et al. Tracking HIV-1 recombination to resolve its contribution to HIV-1 evolution in natural infection[J]. Nat Commun, 2018, 9(1):1928.
- [16] 周佳佳, 邢辉. 我国HIV重组株流行情况的研究进展[J]. 国际病毒学杂志, 2019, 26(1):66-68.
- [17] Ghimire D, Rai M, Gaur R. Novel host restriction factors implicated in HIV-1 replication[J]. J Gen Virol, 2018, 99(4):435-446.
- [18] 张昱, 李敬云. APOBEC3G与Vif的相互作用及其对HIV复制的影响[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2019, 33(2):221-224.
- [19] 欧阳雅博, 王琛, 张岱, 等. HIV-1中枢特征性突变的中和敏感性和免疫逃逸分析[J]. 国际病毒学杂志, 2019, 26(4):272-276.
- [20] Pollpeter D, Parsons M, Sobala AE, et al. Deep sequencing of HIV-1 reverse transcripts reveals the multifaceted antiviral functions of APOBEC3G[J]. Nat Microbiol, 2018, 3(2):220-233.
- [21] 莫婷, 胡志亮, 魏洪霞, 等. HIV传播耐药的研究进展[J]. 现代医学, 2016, 44(4):584-590.
- [22] 宋霆, 粟斌, 刘志英, 等. 总HIV-DNA作为病毒储存库动力学标志物的研究进展[J]. 北京医学, 2019, 41(6):494-497.
- [23] Chabria SB, Gupta S, Kozal MJ. Deep sequencing of HIV: clinical and research applications[J]. Annu Rev Genomics Hum Genet, 2014, 15:295-325.
- [24] Collins DW, Jukes TH. Rates of transition and transversion in coding sequences since the human-rodent divergence[J]. Genomics, 1994, 20(3):386-396.
- [25] 苏齐鉴, 闭志友, 周平, 等. 123株人类免疫缺陷病毒-1重组亚型主要耐药性突变的基因屏障[J]. 中华传染病杂志, 2010, 28(8):449-454.
- [26] Piantadosi A, Freije CA, Gosmann C, et al. Metagenomic sequencing of HIV-1 in the blood and female genital tract reveals little quasispecies diversity during acute infection[J]. J Virol, 2019, 3(2):1-16.
- (收稿日期: 2020-02-18)  
(本文编辑: 孙荣华)

张媛媛, 殷倩倩, 杜鹏程, 等. 评价全血DNA二代测序共有序列在人类免疫缺陷病毒优势准种研究中的准确性[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2021, 15(1):22-28.