

Т. А. Тимофеева¹, А. В. Игнатьева¹, И. А. Руднева¹, Л. В. Мочалова², Н. В. Бовин³, Н. В. Каверин¹

Влияние мутаций, меняющих антигенную специфичность, на рецепторсвязывающую активность гемагглютинаина вирусов гриппа А подтипов Н1 и Н5

¹ФГБУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского Минздравсоцразвития России, Москва;

²НИИ физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского, МГУ им. М. В. Ломоносова;

³Институт биоорганической химии им. академиком М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва

Гемагглютинин (НА) вируса гриппа является белком оболочки вируса, осуществляющим прикрепление вирусных частиц к клеткам посредством связывания терминального сиалового остатка сиаловой кислоты в олигосахаридах клеточной поверхности. В наших прошлых работах при исследовании эскейп-мутантов, т. е. мутантов, резистентных к нейтрализующему действию моноклональных антител, были выявлены аминокислотные замены вблизи рецепторсвязывающего кармана НА. В настоящем исследовании степень сродства НА в отношении как альфа-2-3-, так и альфа-2-6-сиалогликоконъюгатов была определена для эскейп-мутантов вирусов гриппа подтипов Н1 и Н5. Полученные данные показали, что уменьшение положительного электростатического заряда поверхности молекулы НА в результате аминокислотных замен, обеспечивающих резистентность к моноклональным антителам, может вызывать снижение аффинности НА к сиалосодержащим аналогам клеточных рецепторов. Результаты обсуждаются в связи с эволюцией НА в ходе природной циркуляции вирусов гриппа подтипов Н1 и Н5.

Ключевые слова: вирус гриппа, гемагглютинин, антиген, аминокислотные замены, рецепторсвязывающая активность

Effect of Mutations Changing the Antigenic Specificity on the Receptor-Binding Activity of the Influenza Virus Hemagglutinin of H1 and H5 Subtypes

T. A. Timofeeva¹, A. V. Ignatieva¹, I. A. Rudneva¹, L. V. Mochalova², N. V. Bovin³, N. V. Kaverin¹

¹ Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia;

² Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;

³ Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

The influenza virus hemagglutinin (HA) is an envelope virus glycoprotein responsible for the attachment of the virus particles to cells via binding terminal sialic acid residues of cell surface oligosaccharides. In our previous works on influenza A virus escape mutants, that is, mutants resistant to the neutralization effect of monoclonal antibodies, we encountered amino acid changes in the vicinity of receptor-binding pocket of the HA. In this work the degree of the affinity to both alpha-2, -3, and alpha-2, -6, -sialoglycoconjugates was assessed for escape mutants of influenza H1 and H5 viruses. The data demonstrate that the decrease of the positive electrostatic charge of the HA molecule surface resulting from amino acid changes conferring resistance to monoclonal antibodies may lead to a lowering of the affinity to sialic acid-containing analogs of cell receptors. The results are discussed in the context of the evolution of HA in natural circulation of H1 and H5 influenza viruses.

Key words: Influenza virus, hemagglutinin, antigen, amino acid changes, receptor-binding activity

Введение

Гликопротеины оболочки вируса гриппа, гемагглютинин (НА) и нейраминидаза (НА), определяющие иммунный ответ, обладают значительной вариабельностью. В человеческой популяции в настоящее время циркулируют вирусы гриппа А, НА которых относятся к двум подтипам: Н1 и Н3. Новый вариант вируса гриппа А подтипа Н1Н1, возникший в результате скрещивания двух вирусов гриппа свиней, североамериканского и европейского [9, 21], вызвал пандемию в 2009 г. Другие подтипы НА (Н2, Н4—Н16) сейчас не представлены в человеческой популяции, они циркулируют среди диких и домашних птиц и млекопитающих. Однако вирус подтипа Н5Н1 с 2003 г. вызывает эпизоотии с высокой смертностью у птиц и спорадические случаи тяжелого заболевания людей. В связи с этим исследование вариаций антигенной специфичности НА подтипов Н1 и Н5, а также вариаций тех

фенотипических свойств вирусов, которые связаны с изменениями антигенности, является важной и актуальной задачей.

При антигенном картировании НА подтипов Н5 [12, 17] и Н9 [13] нами были получены наборы эскейп-мутантов, т. е. мутантов, резистентных к нейтрализующему действию моноклональных антител. Секвенирование мутантных генов НА показало, что аминокислотные замены, ведущие к приобретению резистентности, в трехмерной структуре молекулы НА локализованы вблизи рецепторсвязывающего кармана. Такая локализация была ожидаемой, поскольку нейтрализующий эффект антител в отношении вирусов гриппа часто обусловлен экранированием рецепторсвязывающего участка молекулы НА. В наших предыдущих исследованиях [13, 16] было показано, что такие замены нередко приводят к снижению сродства НА к клеточным сиаловым рецепторам. Од-

нако в отношении вирусов подтипа H5 такие данные были ранее получены только для эскейп-мутантов со сниженной вирулентностью и их реадаптированных вариантов [16], а для пандемического вируса подтипа H1N1 нами были получены лишь предварительные данные [17].

В настоящем сообщении представлены данные о влиянии аминокислотных замен в HA эскейп-мутантов вирусов A/Moscow/01/2009 (H1N1) и A/Mallard/Pennsylvania/10218/84 (H5N2) на изменение аффинности к сиалосодержащим аналогам клеточных рецепторов.

Материалы и методы

Вирусы. Вирус-реассортант ReM8, содержащий гены HA и NA вируса A/Moscow/01/2009 (H1N1), выделенного в ФГБУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского Минздравсоцразвития России [4], и 6 генов вируса A/Puerto Rico/8/34 (H1N1), описан в нашей предыдущей работе [1]. Вирус A/Mallard/Pennsylvania/10218/84 (H5N2) был адаптирован к мышам в лаборатории субвирусных структур ФГБУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского [20]. В настоящей работе вирус обозначен как A/Mrd/PA-MA (H5N2). Селекция эскейп-мутантов, использованных в данном исследовании, описана в предыдущих работах [17, 18]. Мутанты были получены путем селекции нейтрализующими моноклональными антителами, полученными в лаборатории клеточной инженерии ФГБУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского [2, 3]. В настоящей работе использованы эскейп-мутанты подтипа H5 m3G9(1), m3G9(2), m3G9(3), m6F3(11), m6F3(15), m4F11(1), m4F11(4), m5F12(5), m5F12(7), m6E2(9), m6E2(10), m5G9(1), m5G9(4) и m5G9(5) и эскейп-мутанты подтипа H1 m3D9(9), m5F7(10), m3A3(3), m10G2(6), m3D9(9)-5F7(14), m3D9(9)-5F7(17), m5F7(10)-10G2, m3A3(3)-5F7(28), m3A3(3)-5F7(29), m3A3(3)-10G2 и m6A3(5)-10G2(3). Вирусы накапливали в 10-дневных куриных эмбрионах, которые заражали в аллантоисную полость с множественностью 1000 ЭИД₅₀ на эмбрион. Зараженные куриные эмбрионы инкубировали в течение 48 ч при 37°C, после чего охлаждали в течение ночи при 4°C. Вирусосодержащую аллантоисную жидкость собирали, осветляли центрифугированием на малой скорости (3000 об/мин, 15 мин, 4°C). Осветленный вирус титровали в реакции гемагглютинации (РГА) и хранили при -80°C.

Определение рецепторсвязывающей активности. Рецепторсвязывающую активность определяли по связыванию вируса с сиалоолигосахаридами, конъюгированными с высокомолекулярным полиакриламидом [22]. Использовали следующие сиалоолигосахариды: Neu5Acα2-3Galβ1-4Glcβ (3'SL), Neu5Acα2-3Galβ1-4GlcNAcβ (3'SLN), Neu5Acα2-3Galβ1-4(6-O-su)GlcNAcβ (6-su-3'SLN), Neu5Acα2-3Galβ1-4(Fuca1-3)GlcNAc (SiaLe^x), Neu5Acα2-3Galβ1-3GlcNAc (SiaLe^e), Neu5Acα2-3Galβ1-3(Fuca1-4)GlcNAc (SiaLe^a), Neu5Acα2-6Galβ1-4Glcβ (6'SL), Neu5Acα2-6Galβ1-4GlcNAcβ (6'SLN), Neu5Acα2-6Galβ1-4(6-O-su)GlcNAcβ (6-su-6'SLN). Степень аффинности определяли методом ингибирования РГА с помощью сиалогликоконъюгатов [14, 15]. В 96-луночных планшетах к последовательным двукратным разведениям сиалогликоконъюгатов добавляли равные объемы аллантоисного вируса, разведенного до 4—6 гемагглютинирующих единиц

(ГАЕ) в буферном растворе (0,15 М NaCl, 0,01 М трис-HCl pH 7,2) с добавлением 4мкМ ингибитора NA (2,3-дидегидро-2,4-дидезокси-4-амино-N-ацетил-D-нейраминавая кислота, "Sigma", США) и инкубировали в течение 30 мин при 4°C, после чего добавляли такой же объем 0,5% суспензии куриных эритроцитов и инкубировали 40—50 мин при 4°C. Результаты оценивали по максимальному разведению сиалогликоконъюгата, при котором еще наблюдалось торможение реакции агглютинации эритроцитов, и выражали как концентрацию (мкМ) сиаловой кислоты в этом разведении.

Результаты и обсуждение

Эскейп-мутанты вируса подтипа H1N1 были получены путем последовательной селекции в два этапа [18]. На первом этапе получали мутанты 1-го поколения, используя реассортант ReM8 в качестве вируса дикого типа, а на втором этапе мутанты 1-го поколения были использованы для селекции мутантов 2-го поколения. В настоящей работе использованы 4 мутанта 1-го поколения, имеющие в HA одну аминокислотную замену. Мутанты 2-го поколения, использованные в данной работе, были получены из мутантов 1-го поколения, имеющих по одной аминокислотной замене, и имели по две замены, влияющие на взаимодействие HA с антителами (табл. 1).

Реакция ингибирования гемагглютинации сиалогликоконъюгатами показала (см. табл. 1), что вирус дикого типа ReM8 обладает сродством к фукозилорваным α-(2,3)-сиалогликоконъюгатам SiaLe^x, SiaLe^a и 6-su-6'SLN, при этом наиболее выражено сродство к SiaLe^a. У эскейп-мутантов 1-го поколения с заменой K156E, ведущей к снижению электростатического заряда, наблюдается снижение сродства к SiaLe^x, SiaLe^a и 6-su-6'SLN. У мутанта m10G2(6) с заменой D190N отмечается увеличение сродства к 3'SL, 6-su-3'SLN и небольшое усиление связывания с SiaLe^x, SiaLe^a и 6-su-6'SLN по сравнению с диким типом. У мутантов 1-го поколения m5F7(10) и m3A3(3), имеющих замены соответственно G158E и N159D, резко ослаблено связывание с 6-su-6'SLN. Появление у мутантов 2-го поколения m3A3(3)-10G2 и m5F7(10)-10G2 замены D190N восстанавливает сродство к 6-su-6'SLN. Значительно слабее эффект "восстановления" у мутанта второго поколения m6A3(5)-10G2(3), в котором наряду с заменой G158E появляется мутация D190E — опять в той же ключевой позиции рецептор-связывающего сайта HA. Таким образом, у эскейп-мутантов пандемического вируса подтипа H1N1 2009 г. снижение электростатического заряда при заменах в некоторых аминокислотных позициях уменьшает сродство HA к сиалогликополимерам, в то время как при замене D190N, повышающей электростатический заряд, наблюдается увеличение аффинности к сиалозидам.

Следует отметить, что позиция 190 — ключевая в рецепторсвязывающем сайте HA, и от того, какая аминокислота ее занимает, зависит рецепторсвязывающая специфичность вирусов гриппа. Именно замена N190D, произошедшая в H1 HA вирусов гриппа птиц и обусловившая изменение их рецепторсвязывающей специфичности, считается одной из причин трансмиссии H1N1 вирусов гриппа от птиц к человеку [19].

В работе S. Hensley и соавт. [11] было продемонстрировано повышение аффинности к сиаловым ре-

Рецепторсвязывающая активность вируса дикого типа подтипа Н1 и его эскейп-мутантов

Вирус	Замены в HA (нумерация H3)	Сиалогликоконъюгаты, мкМ сиаловой кислоты*								
		3'SL	3'SLN	6-su-3'SLN	SiaLe ^x	SiaLe ^a	SiaLe ^e	6'SL	6'SLN	6-su-6'SLN
ReM8	-	4	4	2	0,25	0,063	2	> 4	> 4	0,25
m3D9(9)	K156E	4	4	4	0,5	0,5	4	> 4	> 4	> 4
m5F7(10)	G158E	4	> 4	4	0,5	0,25	> 4	> 4	> 4	> 4
m3A3(3)	N159D	4	4	4	0,5	0,125	2	> 4	> 4	> 4
m10G2(6)	D190N	0,5	4	0,5	0,125	0,031	1	4	> 4	0,063
m3D9(9)-5F7(14)	K156E G158E	> 4	> 4	> 4	1	0,5	4	> 4	> 4	> 4
m3D9(9)-5F7(17)	K156E N129D	4	> 4	> 4	1	0,5	4	> 4	> 4	> 4
m5F7(10)-10G2	G158E D190N	2	> 4	4	0,25	0,125	> 4	> 4	> 4	0,125
m3A3(3)-5F7(28)	N159D N129S	4	4	4	0,5	0,25	4	> 4	> 4	> 4
m3A3(3)-5F7(29)	N159D G158E	4	4	4	0,5	0,5	4	> 4	> 4	> 4
m3A3(3)-10G2	N159D D190N	2	> 4	2	0,25	0,125	4	> 4	> 4	0,125
m6A3(5)-10G2(3)	G158E D190E	4	4	1	0,063	0,063	2	> 4	> 4	1

Примечание. * — меньшее значение концентрации соответствует большему средству вируса к сиалозиду.

цепторам при увеличении электростатического заряда, возникающего при аминокислотных заменах в HA в позициях 156 и 158 у эскейп-мутантов вируса A/Puerto Rico/8/34 (H1N1). Ранее было показано, что и у природных изолятов замены в позициях 156, 158 и 159, снижающие электростатический заряд, ведут к ослаблению средства к сиалозидам [7]. Это хорошо согласуется с результатами, полученными в данном исследовании, относительно корреляции между аффинностью HA к сиалоолигосахаридам и электростатическим зарядом аминокислотных остатков вблизи рецепторсвязывающего кармана (см. табл. 1).

Вирус гриппа птиц подтипа H5 A/MlrD/PA-MA (H5N2) проявляет приблизительно одинаковое средство к 3'SL, 3'SLN, 6-su-3'SLN, SiaLe^e, но фактически не взаимодействует с фукозилированными сиалогликоконъюгатами SiaLe^x и SiaLe^a (табл. 2). Ни вирус дикого типа, ни эскейп-мутанты не взаимодействуют с α 2-6 сиалозидами (данные не приведены). Эскейп-мутанты этого вируса были получены одноэтапной селекцией, т. е. они все были мутантами 1-го поколения. Тем не менее некоторые из них имели по 2 или даже 3 аминокислотные замены. Четыре мутанта имели дополнительные замены в малой субъединице HA2, т. е. вне

Таблица 2

Рецепторсвязывающая активность вируса дикого типа подтипа H5 и его эскейп-мутантов

Вирус	Замены в HA (нумерация H3)	Сиалоолигосахаридами, мкМ сиаловой кислоты					
		3'SL	3'SLN	6-su-3'SLN	SiaLe ^x	SiaLe ^a	SiaLe ^e
A/MlrD/PA-MA	—	0,063	0,031	0,031	4	4	0,031
m3G9(1)	R166W	0,063	0,125	0,125	4	4	0,063
m3G9(2)	Q122K I124F(HA2)	0,031	0,031	0,031	4	4	0,031
m3G9(3)	R166K	0,031	0,031	0,031	4	> 4	0,063
m6F3(11)	S128P	0,031	0,063	0,031	4	4	0,031
m6F3(15)	S128P P185S K222N	0,063	0,125	0,063	0,063	0,125	0,063
m4F11(1)	G143D A198T(HA2)	0,125	0,063	0,063	4	> 4	0,125
m4F11(4)	S145P	0,063	0,031	0,031	4	> 4	0,063
m5F12(5)	I124L, R76G(HA2)	0,063	0,063	0,031	4	> 4	0,063
m5F12(7)	R166G M230T	0,031	0,031	0,031	4	4	0,031
m6E2(9)	K120I	0,063	0,031	0,063	4	4	0,063
m6E2(10)	S126F	0,063	0,031	0,031	4	> 4	0,063
m5G9(1)	S125(a)I	0,063	0,031	0,063	1	4	0,031
m5G9(4)	S126Y, T152A(HA2)	0,125	0,031	0,063	1	4	0,063
m5G9(5)	P125S	0,125	0,063	0,063	1	> 4	0,063

антигенных сайтов HA. Один мутант, m6F3(15), имел 3 аминокислотные замены. Именно этот мутант, единственный из эскейп-мутантов вируса гриппа H5, исследованных в настоящей работе, имел измененное сродство к сиалогликоконъюгатам. Изменение рецепторсвязывающей активности HA этого мутанта по сравнению с вирусом-родителем не является результатом антигенно значимой аминокислотной замены S128P, поскольку эта замена у одиночного мутанта m6F3(11) не вызвала изменения аффинности. Аминокислотный остаток в позиции 185 не экспонирован на поверхности HA [10], поэтому влияние замены в этой позиции на связывание с рецепторами маловероятно. Скорее всего наблюдаемый эффект обусловлен заменой K222N в петле, формирующей рецепторсвязывающий карман HA [17]. Недавно показано, что замена K222E приводит к ухудшению связывания с сиалозидами [6], а замена K222T повышает сродство к фукозилированным рецепторным аналогам [8]. Аминокислотные замены в позициях 120, 122, 143 и 166, меняющие электростатический заряд, не оказывали влияние на взаимодействие с сиалозидами. Таким образом, в отличие от вируса H1N1 снижение электростатического заряда в позициях, локализованных вблизи рецепторсвязывающего сайта, у эскейп-мутантов вируса H5N1 не приводит к снижению аффинности к сиалозидам.

Чтобы узнать, насколько вовлечены полученные при селекции эскейп-мутантов замены в HA1 в антигенные вариации природных вирусов гриппа А, был осуществлен скрининг аминокислотных последовательностей HA в Генбанке для штаммов, выделенных в разные годы. Были просмотрены 9019 аминокислотных последовательностей HA штаммов вирусов гриппа А подтипа H1N1, выделенных с 2009 по 2011 г. Только частота замены N129D несколько повысилась у штаммов 2010—2011 гг. по сравнению со штаммами 2009 г., тогда как остальные замены, обнаруженные у эскейп-мутантов, встречались крайне редко и не удерживались в популяции. Возможно, это обусловлено негативным влиянием ослабления связывания вируса с рецепторами.

У вируса гриппа А птиц подтипа H5 в отличие от большинства вирусов гриппа птиц отмечалось подобие антигенного дрейфа, что связывают с вакцинацией кур, проводившейся в некоторых странах Азии и Африки [5]. Поэтому наличие у изолятов H5N1 мутаций, обеспечивающих устойчивость эскейп-мутантов к нейтрализующим антителам, представляет определенный интерес. По данным Генбанка было просмотрено 3585 аминокислотных последовательностей HA штаммов вирусов гриппа А птиц подтипа H5N1, выделенных с 2003 по 2011 г. Наиболее часто встречались замены по аминокислотным позициям 128, 145 и 166. Возможно, это объясняется преимущественной ролью антител, распознающих эти позиции, в резистентности вакцинированных птиц к вирусу или негативным влиянием других замен, встречающихся у эскейп-мутантов, на жизнеспособность вируса.

Работа была поддержана грантом РФФИ № 10-04-00023.

ЛИТЕРАТУРА

- Игнатъева А. В., Руднева И. А., Тимофеева Т. А. и др. Высокопродуктивный вирус-реассортант, содержащий гемагглютинин и нейраминидазу пандемического вируса гриппа A/Moscow/01/2009 (H1N1). Вопросы вирусологии. 2011; 56 (4): 9—14.
- Климова П. П., Масалова О. В., Бурцева Е. И. и др. Моноклональные антитела к пандемическому вирусу гриппа A/IV-Moscow/01/2009 (H1N1)sw1, обладающие высокой вируснейтрализующей активностью. Вопросы вирусологии. 2011; 56 (3): 15—20.
- Куц А. А., Климова П. П., Масалова О. В. и др. Получение и свойства моноклональных антител к высокопатогенному штамму вируса гриппа птиц A(H5N1), выделенному на территории Российской Федерации. Вопросы вирусологии. 2008; 53 (5): 9—14.
- Львов Д. К., Бурцева Е. И., Прилутов А. Г. и др. Изоляция 24.05.09 и депонирование в государственную коллекцию вирусов (ГКВ 2452 от 24.05.09) первого штамма A/IV-Moscow/01/2009 (H1N1)sw1, подобного свиному вирусу A(H1N1) от первого выявленного 21.05.09 больного в Москве. Вопросы вирусологии. 2009; 54 (5): 10—14.
- Cattoli G., Milani A., Temperton N. et al. Antigenic drift in H5N1 avian influenza virus in poultry is driven by mutations in major antigenic sites of the hemagglutinin molecule analogous to those for human influenza virus. J. Virol. 2011; 85: 8718—8724.
- Chutinimitkul S., van Riel D., Munster V. J. et al. In vitro assessment of attachment pattern and replication efficiency of H5N1 influenza A viruses with altered receptor specificity. J. Virol. 2010; 84: 6825—6833.
- Gambaryan A. S., Matrosovich M. N., Bender C. A., Kilbourne E. D. Differences in the biological phenotype of low-yielding (L) and high-yielding (H) variants of swine influenza virus A/NJ/11/76 are associated with their different receptor-binding activity. Virology. 1998; 247: 223—231.
- Gambaryan A. S., Lomakina N. F., Boravleva E. Y. et al. Comparative safety, immunogenicity, and efficacy of several anti-H5N1 influenza experimental vaccines in a mouse and chicken models (Testing of killed and live H5 vaccine). Influenza Other Resp. Viruses. 2011; 6 (3): 188—195.
- Garten R. J., Davis C. T., Russell C. A. et al. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. Science. 2009; 235: 197—201.
- Ha Y., Stevens D. J., Skehel J. J., Wiley D. C. X-ray structures of H5 avian and H9 swine influenza virus hemagglutinins bound to avian and human receptor analogs. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001; 98: 11181—11186.
- Hensley S. E., Das S. R., Bailey A. L. et al. Hemagglutinin receptor binding avidity drives influenza A virus antigenic drift. Science. 2009; 326 (5953): 734—736.
- Kaverin N. V., Rudneva I. A., Ilyushina N. A. et al. Structure of antigenic sites on the haemagglutinin molecule of H5 avian influenza virus and phenotypic variation of escape mutants. J. Gen. Virol. 2002; 83: 2497—2505.
- Kaverin N. V., Rudneva I. A., Ilyushina N. A. et al. Structural differences among hemagglutinins of influenza A virus subtypes are reflected in their antigenic architecture: analysis of H9 escape mutants. J. Virol. 2004; 78: 240—249.
- Matrosovich M. N., Mochalova L. V., Marinina V. P. et al. Synthetic polymeric sialoside inhibitors of influenza virus receptor-binding activity. FEBS Lett. 1990; 272: 209—212.
- Mochalova L., Gambaryan A., Romanova J. et al. Receptor-binding properties of modern human influenza viruses primarily isolated in Vero and MDCK cells and chicken embryonated eggs. Virology. 2003; 313: 473—480.
- Rudneva I. A., Ilyushina N. A., Timofeeva T. A. et al. Restoration of virulence of escape mutants of H5 and H9 influenza viruses by their re-adaptation to mice. J. Gen. Virol. — 2005. - Vol. 86. — P. 2831—2838.
- Rudneva I. A., Kushch A. A., Masalova O. V. et al. Antigenic epitopes in the hemagglutinin of Qinghai-type influenza H5N1 virus. Viral Immunol. 2010; 23: 181—187.
- Rudneva I., Ignatieva A., Timofeeva T. et al. Escape mutants of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus: variations in antigenic specificity and receptor affinity of the hemagglutinin. Virus Res. 2012; 166 (1—2): 61—67.
- Shen J., Ma J., Wang Q. Evolutionary trends of A(H1N1) influenza virus hemagglutinin since 1918. PLoS ONE. 2009; 4 (11): e7789.
- Smirnov Y. A., Lipatov A. S., Van Beek R. et al. Characterization of adaptation of an avian influenza A (H5N2) virus to a mammalian host. Acta Virol. 2000; 44 (1): 1—8.
- Smith J., Vijaykrishna D., Bahl J. et al. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. Nature. 2009; 459: 1122—1126.
- Tuzikov A. B., Gambaryan A. S., Juneja L. R., Bovin N. V. Conversion of complex sialooligosaccharides into polymeric conjugates and their anti-influenza virus inhibitory potency. J. Carbohydr. Chem. 2000. 19: 1191—1200.