·调查报告与分析·

2023—2024 年衢州市新型冠状病毒 Omicron 变异株分子流行病学特征分析

黄世腾，占炳东，吕磊，游佳玲，叶承华，万圣，杨瑞军

衢州市疾病预防控制中心微生物检验科，衢州 324000
通信作者：杨瑞军，E-mail：348087125@qq.com

【摘　要】目的 了解 2023—2024 年浙江省衢州市新冠病毒（SARS-CoV-2）Omicron 变异株流行趋势及刺突蛋白（S）变异进化规律。**方法** 收集 2023 年 1 月—2024 年 9 月衢州市各新冠病毒变异监测哨点和流感监测哨点医院送检的新冠病毒感染者鼻咽拭子、痰液等呼吸道样本；采用纳米孔测序技术对收集的 267 份呼吸道样本进行新冠病毒全基因组测序。运用 Pangolin v4.3 和 Nextclade v3.13.1 在线分析平台进行基因分型，并获取氨基酸变异等信息；通过 TBtools-Ⅱ v2.222 绘制 S 蛋白关键结构域的氨基酸变异热图，利用 VarEPS 系统评估氨基酸变异对病毒适应性的影响。**结果** 共获得 246 条新冠病毒全基因组有效序列，均为 Omicron 变异株，可分为 10 个进化分支，总体呈 BA.5-XBB-BA.2 谱系进行顺序更替，其中 JN.1 及其亚分支占比最高（42.28%，104/246），与系统发育分析结果一致。不同年龄组的新冠病毒基因型分布差异有统计学意义（P<0.001）。氨基酸变异分析显示，S 蛋白氨基酸变异最为频繁，其变异位点数随时间逐步增加，并存在氨基酸更替/插入/缺失变异，其中 JN.1 和 XDV.1 及其亚分支 S 蛋白氨基酸突变频率更高，并在关键结构域新增多个变异位点（K356T、R403K、N450D、N481K、E544K、A570V、P621S 等）。评估显示，S 蛋白多个氨基酸变异位点（R346T、S371F、S373P、T376A、D405N、R408S、K417N、G446S、F456L、Y505H 等）可在一定程度上降低 S 蛋白与中和抗体的结合稳定性。**结论** 2023—2024 年衢州地区以 Omicron 变异株为优势变异株，其基因型呈现多样性，对 S 蛋白的氨基酸变异监测与分析，有助于及时了解新冠病毒的进化特征，为新冠病毒变异株的流行风险评估及疫情防控提供理论依据。

【关键词】 新型冠状病毒；Omicron；刺突蛋白；全基因组测序；衢州市

Molecular epidemiological characterization of SARS-CoV-2 Omicron variants in Quzhou, 2023–2024

HUANG Shiteng, ZHAN Bingdong, LYU Lei, YOU Jialing, YE Chenghua, WAN Sheng, YANG Ruijun (*Microbiology Laboratory*, *Quzhou Center for Disease Control and Prevention*, *Quzhou* 324000, *China*)
Corresponding author: YANG Ruijun, E-mail: 348087125@qq.com

【Abstract】 Objective To understand the epidemiological trends of SARS-CoV-2 Omicron variants and evolutionary variations of the spike protein in Quzhou city of Zhejiang province from 2023 to 2024. **Methods** Respiratory specimens (including nasopharyngeal swabs and sputum specimens) were collected from COVID-19 cases at sentinel surveillance sites for SARS-CoV-2 variants and influenza in Quzhou between January 2023 and September 2024. The whole genome sequences of SARS-CoV-2 from 267 cases were obtained by nanopore sequencing. The genotypes and amino acid variations were analyzed through Pangolin v4.3 and Nextclade v3.13.1 platforms. Heatmaps of amino acid mutations in the key domains of the spike protein were generated by TBtools-Ⅱ v2.222, while the impact of amino acid mutations on viral adaptability was assessed by the VarEPS system. **Results** All the 246 sequences were Omicron variants of SARS-CoV-2, showing the turnover of BA.5-XBB-BA.2 lineages. These variants were classified into ten sub-lineages, with JN.1 and its sub-lineages showing the highest prevalence (42.28%, 104/246). This classification was consistent with the results of the phylogenetic analysis. The distribution of SARS-CoV-2 genotypes across different age groups showed differences (P < 0.001). Amino acid mutation analysis revealed frequent mutations in the spike protein, with the number of mutation sites gradually increasing over time and involving substitutions, insertions, and deletions. JN.1, XDV.1, and their sub-lineages exhibited higher mutation frequency in the spike protein, accumulating novel mutations (K356T, R403K, N450D, N481K, E544K, A570V, P621S, etc.) in key domains. Functional assessments indicated that multiple spike protein mutations (R346T, S371F, S373P, T376A, D405N, R408S, K417N, G446S, F456L, Y505H, etc.) may reduce the binding stability between the spike protein with neutralizing antibodies. **Conclusion** The Omicron variants were the predominant circulating variants in Quzhou during 2023–2024, exhibiting diverse genotypes. Monitoring and analyzing amino acid mutations in the spike protein facilitate timely understanding of the evolutionary characteristics of SARS-CoV-2, providing a theoretical basis for risk assessment of COVID-19 variant prevalence and the implementation

开放获取：CC BY-NC-ND 4.0 DOI：10.11847/zgggws1148021
基金项目：衢州市重点科技攻关项目（2024K128）
第一作者：黄世腾（1984—），主管技师，硕士，研究方向：微生物检测。
收稿日期：2025-06-26　修回日期：2025-07-14　录用日期：2025-08-04
利益冲突：不存在　伦理审查：免除审查　出版授权：全体作者已与编辑部签署作者贡献声明及版权转让协议

of epidemic prevention and control measures.
【**Keywords**】 SARS-CoV-2; Omicron; spike protein; whole genome sequencing; Quzhou city

自 2019 年底，新型冠状病毒感染疫情（coronavirus disease 2019, COVID-19, 简称“新冠疫情”）出现以来，迅速引发全球大流行，对人类生命健康和社会公共卫生安全造成巨大威胁[1]。随着新冠病毒疫情的持续流行，不断有新的变异株出现，从 Alpha、Beta、Gamma、Delta 到 Omicron，其分支已达数百种[2]；其中 Omicron 变异株于 2021 年 11 月在南非首次被发现，其免疫逃逸能力显著增强，并迅速成为全球流行的优势株[3]。新冠病毒基因组全长约 30 kb，可编码至少 4 种结构蛋白和多种非结构蛋白，其中结构蛋白主要包括核壳蛋白（nucleocapsid protein, N）、基质蛋白（matrix protein, M）、包膜蛋白（envelop protein, E）和刺突表面蛋白（spike protein, S）[4]。S 蛋白在识别并结合宿主细胞受体血管紧张素转化酶 2（angiotensin converting enzyme 2, ACE2）、介导细胞膜融合及诱导中和抗体产生中起到重要作用[5]。相关研究表明，S 蛋白的氨基酸位点变异能直接导致新冠病毒传播力和致病力的改变[6–7]。因此，对 S 蛋白变异位点的研究具有重要意义。本研究对 2023—2024 年浙江省衢州市新冠病毒 Omicron 变异株流行趋势和遗传进化特征进行分析，重点关注 S 蛋白关键位点的变异趋势；旨在为浙江省衢州地区新冠疫情防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样本来源　本研究样本来源于 2023 年 1 月—2024 年 9 月浙江省衢州地区各新冠病毒变异监测哨点和流感监测哨点医院送检的新冠病毒感染者鼻咽拭子、痰液等呼吸道样本；同时收集病例的基本资料（包括姓名、性别、年龄、发病日期、采样日期等）。

1.2 方法

1.2.1 新冠病毒核酸检测与靶向扩增　使用核酸提取试剂盒（西安天隆科技有限公司）CqEx-RNA/DNA 病毒（CDC）提取病毒 RNA；使用新冠病毒核酸检测荧光法 PCR 试剂盒（上海伯杰医疗科技有限公司）进行新冠病毒核酸检测（ABI 实时荧光 PCR 仪 QuantStudio5，美国赛默飞）。选取 CT 值< 32 的阳性样本，采用 ULSEN®超灵敏度新冠病毒全基因组捕获试剂盒（北京微未来科技有限公司）（低载量），进行新冠病毒全基因组特异性捕获扩增。

1.2.2 新冠病毒全基因组测序　采用连接法测序多样本 DNA 建库辅助试剂盒（杭州柏熠科技有限公司）A+B（BK-AUX024）和快速条形码测序试剂盒（SQK-RBK114-24, Oxford Nanopore）构建文库、使用 MinON or GridlON 测序芯片（R10, Oxford Nanopore）和 Nanopore 纳米孔测序仪（GridION MK1，英国牛津公司）对新冠病毒进行全基因组测序。

1.2.3 全基因组序列组装与分型　采用杭州柏熠病原微生物分析平台上的新冠病毒分析模块，进行新冠病毒全基因组序列的拼接组装，并对测序数据进行质量评估。将获取的新冠病毒全基因组序列通过 Pangolin v4.3（https://pangolin.cog-uk.io/）和 Nextclade v3.13.1（https://clades.nextstrain.org/）在线分型平台进行基因分型。选取覆盖度在 98% 以上、Overall QC status 评级在 mediocre 及以上的序列进行后续分析。

1.2.4 变异位点与进化分析　以新冠病毒 Wuhan-Hu-1/2019(GenBank: MN908947) 为参考序列，将选取的序列通过 Nextclade v3.13.1 在线分析平台获取核苷酸和氨基酸变异位点等参数信息；应用 TBtools-Ⅱ v2.222 软件绘制 S 蛋白氨基酸突变聚类分析热图；使用 MAFFT v7.487 软件进行序列多重比对，通过 IQ-TREE v2.1.4 软件基于最大似然法构建系统发育树，Bootstrap 值设置为 1 000；最后通过 iTOL（https://itol.embl.de/）对系统发育树进行美化。

1.2.5 变异风险评估与预警　通过新冠病毒变异评估与预警系统（variations evaluation and prewarning system, VarEPS）（https://nmdc.cn/ncovn/variationsite）[8] 评估 S 蛋白关键结构域氨基酸突变对 S 蛋白与 ACE2 受体结合稳定性和 S 蛋白与中和抗体亲和力等生物学功能的影响，并对氨基酸突变进行风险评估。

1.3 统计分析　采用 Excel 2016 和 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析，组间比较运用 χ^2 检验或 *Fisher* 确切概率法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结　果

2.1 基因组序列概况　对 267 份新冠病毒感染病例样本进行全基因组测序，经质量评估及数据过滤，共获得 246 条覆盖度在 98% 以上、评级在 mediocre 及以上的新冠病毒全基因组序列。分型结果显示，246 条新冠病毒全基因组序列均为 Omicron 变异株，可分为 10 个进化分支，其中 BA.5

谱系占比 8.13%(20/246)，包括 13 例 BF.7 及其亚分支，7 例 DY 及其亚分支；XBB 谱系占比 38.62%(95/246)，包括 49 例 XBB.1.9 及其亚分支，22 例 XBB.1.16 及其亚分支，11 例 XBB.1.5 及其亚分支，9 例 XBB.1.22 及其亚分支，4 例 XBB 其他进化分支；BA.2 谱系占比 43.09%(106/246)，包括 104 例 JN.1 及其亚分支，2 例 BA.2.75 及其亚分支；XDV.1 及其亚分支 25 例(占比 10.16%)。

2.2　流行病学描述(图 1、表 1)　2023 年 1 月—2024 年 9 月有 246 例新冠病毒感染病例，其中 2023 年 12 月未监测到新冠病毒阳性病例；2023 年 1 月—2023 年 4 月以 BA.5.2 及其亚分支为优势基因型；2023 年 5 月—2023 年 6 月为过渡期，XBB.1 分支出现并与 BA.5.2 及其亚分支共存；2023 年 7 月—2023 年 11 月以 XBB.1.9 及其亚分支为优势基因型；2024 年主要以 JN.1 及其亚分支为优势基因型。在 246 例新冠病毒感染病例中，71 例来源于新冠病毒变异监测哨点，175 例来源于流感监测哨点医院；其中男女比例 0.84:1(112:134)，年龄范围在 2～92 岁，中位数为 34(23，60)岁。不同性别的新冠病毒基因型分布差异无统计学意义(χ^2=0.841，*P*=0.974)；不同年龄组基因型分布差异有统计学意义(*Fisher* 确切概率法，*P*<0.001)；其中 BA.5.2、XBB.1.9 和 XBB.1.16 及其亚分支在≥60 岁人群分布较高，JN.1 和 XDV.1 及其亚分支在 20～29 岁人群分布较高。

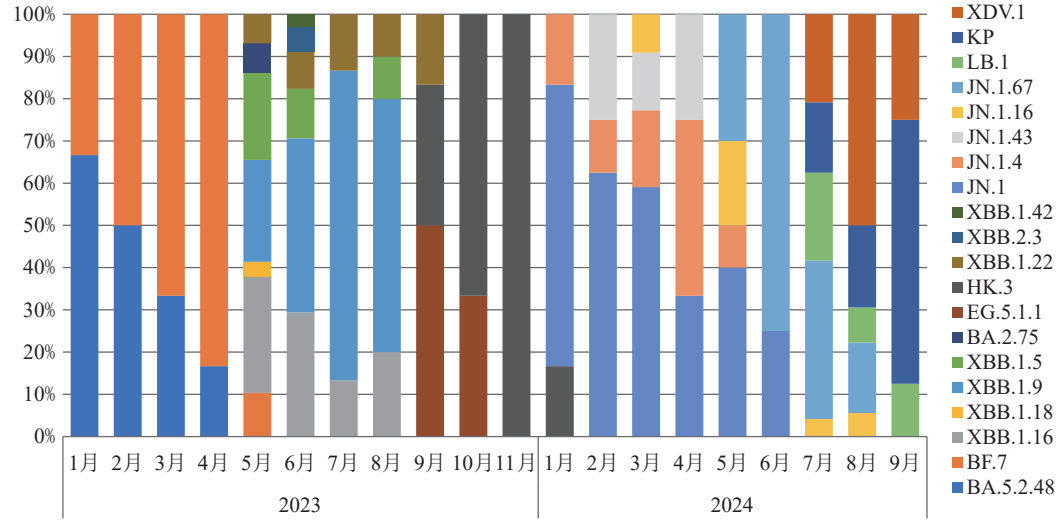


图 1　衢州市 246 例 Omicron 变异株各基因型检出时间分布

Fig. 1　Time distribution of different genotypes of 246 Omicron variants in Quzhou

表 1　衢州市 246 例 Omicron 变异株感染者人群分布

Table 1　Population distribution of Omicron variants infecting 246 patients in Quzhou

特征	BA.5.2及其亚分支		XBB.1.9及其亚分支		XBB.1.16及其亚分支		JN.1及其亚分支		XDV.1及其亚分支		其他分支[a]		χ^2值	*P*值
	例数	构成比/%	例数	构成比/%	例数	构成比/%	例数	构成比/%	例数	构成比/%	例数	构成比/%		
性别													0.841	0.974
男性	9	45.00	25	51.02	10	45.45	45	43.27	11	44.00	12	46.15		
女性	11	55.00	24	48.98	12	54.55	59	56.73	14	56.00	14	53.85		
年龄/岁														<0.001[b]
<20	4	20.00	6	12.24	3	13.63	16	15.38	3	12.00	4	15.38		
20～	4	20.00	12	24.49	5	22.73	31	29.81	10	40.00	5	19.23		
30～	2	10.00	9	18.37	2	9.09	15	14.42	2	8.00	5	19.23		
40～	1	5.00	4	8.16	1	4.55	4	3.85	2	8.00	3	11.54		
50～	3	15.00	5	10.21	3	13.64	13	12.50	3	12.00	2	7.69		
≥60	6	30.00	13	26.53	8	36.36	25	24.04	5	20.00	7	26.93		

注：a 包括XBB.1.5、XBB.1.18、XBB.1.22、XBB.1.42、XBB.2.3、BA.2.75及其亚分支；b 表示*Fisher*值。

2.3 系统发育树分析（图 2） 从 GISAID 数据库下载 16 条国内同期的新冠病毒 Omicron 变异株参考序列，与本研究的 246 条新冠病毒全基因组序列及武汉参考株 Wuhan-Hu-1/2019（GenBank：MN908947）序列构建系统发育树。结果显示，246 条序列主要聚集为 10 个进化群，包括 BA.5.2 及其亚分支、XBB.1.5 及其亚分支、XBB.1.9 及其亚分支、XBB.1.16 及其亚分支、XBB.1.22 及其亚分支、XBB 其他进化分支、JN.1 及其亚分支、BA.2.75 及其亚分支和 XDV.1 及其亚分支；与 Pangolin 分型结果基本一致；相同分支聚成一簇，其中 JN.1 及其亚分支与武汉参考株的遗传距离最远。

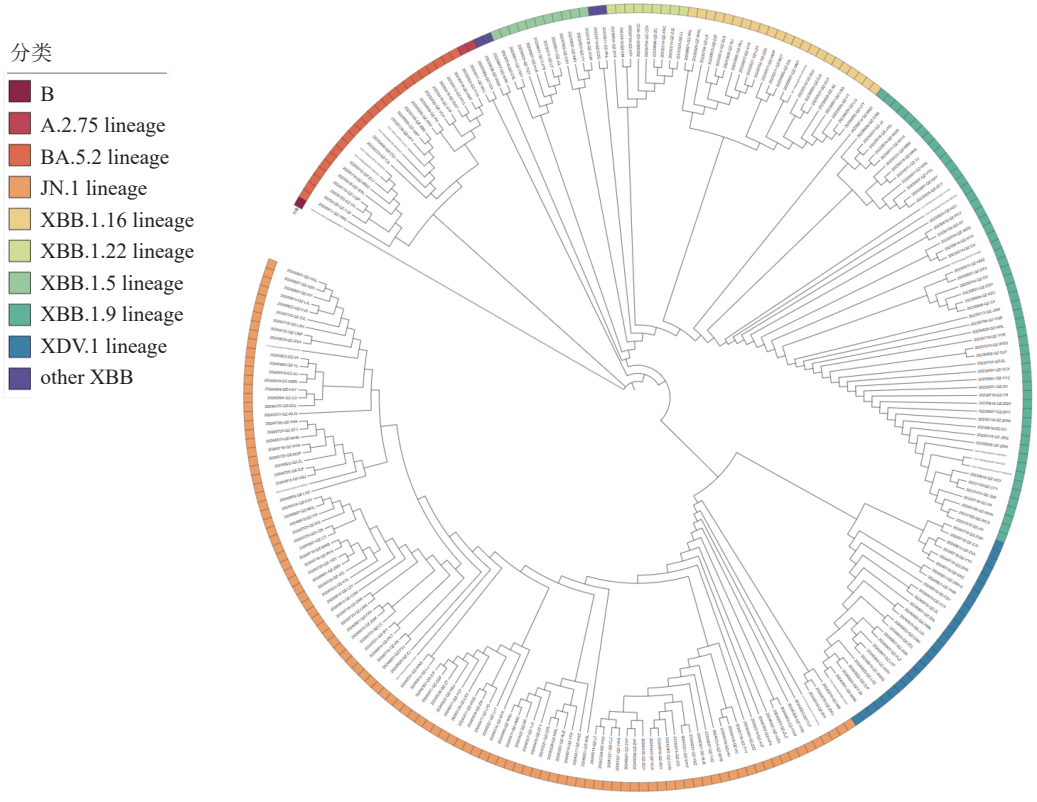


图 2 2023—2024 年衢州市 246 例 Omicron 变异株全基因组系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of 246 Omicron variants in Quzhou, 2023–2024 based on whole genome sequences

2.4 S 蛋白变异位点分析（表 2、图 3） 与新冠病毒 Wuhan-Hu-1/2019（GenBank：MN908947）序列相比，衢州市 246 例新冠病毒全基因组序列平均有核苷酸变异位点 109 个（76～137 个）、氨基酸变异位点 80 个（53～100 个）；并随着时间的推移，其氨基酸变异位点数从 BA.5.2 及其亚分支（53～69 个）到 XBB.1 及其亚分支（66～78 个），再到 JN.1 和 XDV.1 及其亚分支（82～100 个），呈现上升趋势；其中 S 蛋白氨基酸变异（29～57 个）最为频繁，其共同变异位点 28 个，主要集中于 S1 亚基的 N 端结构域（N-terminal domain, NTD）和受体结合域（receptor-binding domain, RBD，包括受体结合基序（receptor-binding motif, RBM）；其余变异位点依次位于 C 端核心结构域（C-terminal core domain, CTD），包括 630loop、七肽重复区 1（heptad repeat domain 1, HR1）、融合肽（fusion peptide, FP）、胞质尾区（cytoplasmic tail, CT）和七肽重复区 2（heptad repeat domain 2, HR2）；而跨膜结构域（transmembrane domain, TM）未发现氨基酸变异位点。

相较于 BA.5.2 及其亚分支，BF.7 及其亚分支在 S 蛋白均增加了 R346T（RBD 区）氨基酸变异位点，XBB.1.9 及其亚分支在 NTD（共增加 4 个：Q52H、V83A、Q183E、G252V；转换 1 个：V213E）、RBD（共增加 8 个：L368I、A411S、V445P、G446S、L455F、F456L、N460K、F490S；减少 1 个：L452R；转换 2 个：G339H、F486P）。而相较于 XBB.1.9 及其亚分支，EG.5.1 及其亚分支在 S 蛋白均增加了 Q52H、F456L 氨基酸变异位点，HK.3 及其亚分支相较于 EG.5.1 及其亚分支在 S 蛋白又增加了 L455F 氨基酸变异位点。JN.1 及其亚分支相较于 XBB.1.9 及其亚分支在 NTD（共增加 11 个：R21T、S50L、F59S、V127F、F157S、R158G、L212I、L216F、H245N、S255F、A264D；减少 3 个：Q52H、V83A、G252V；转换 2 个：Q183H、V213G）、RBD（共增加 6 个：I332V、K356T、R403K、N450D、L452W、N481K；减少 3 个 L368I、F456L、F490S；转换 3 个：V445H、L455S、E484K）。此外，本研究所有 JN.1 和 XDV.1 及其亚分支均发生了 V16insMPLF 氨基酸插入（NTD 区），在 KP.2.3 和 LB.1 及其亚分支中均出现了 S31 氨基酸位点的缺失（S31del）。根据各基因型 S 蛋白氨基酸位点突变检出率绘制的聚类分析热图显示，不同基因型的氨基酸突变频率有所差异，其中 JN.1 和 XDV.1 及其亚分支的 S 蛋白氨基酸突变最为频繁。

表 2　衢州市新冠病毒 S 蛋白氨基酸变异情况(参考新冠病毒 Wuhan-Hu-1/2019_MN908947)

Table 2　Amino acid mutations in the S protein of SARS-CoV-2 in Quzhou (refer to SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1/2019_MN908947)

进化分支	NTD	RBD	RBM	CTD1+CTD2	FP	HR1	HR2	CT
BA.5.2及其亚分支	T19I, A27S, G142D, V213G	G339D, R346T, S371F, S373P, S375F, T376A, D405N, R408S, K417N	N440K, L452R, S477N, T478K, E484A, F486V, Q498R, N501Y, Y505H	D614G, H655Y, N679K, P681H,	D796Y	Q954H, N969K	—	C1243F
XBB.1.9及其亚分支	T19I, A27S, Q52H, V83A, G142D, H146Q, Q183E, V213E, G252V	G339H, R346T, L368I, S371F, S373P, S375F, T376A, D405N, R408S, A411S, K417N	N440K, V445P, G446S, L455F, F456L, N460K, S477N, T478K, E484A, F486P, F490S, Q498R, N501Y, Y505H	D614G, H655Y, N679K, P681H	D796Y	Q954H, N969K	—	D1259Y
XBB.1.16及其亚分支	T19I, A27S, V83A, L84I, G142D, H146Q, E180V, Q183E, V213E, G252V	G339H, R346T, L368I, S371F, S373P, S375F, T376A, D405N, R408S, K417N	N440K, V445P, G446S, L455F, F456L, N460K, S477N, T478R, E484A, F486P, F490S, Q498R, N501Y, Y505H	T547I, D614G, H655Y, N679K, P681H	D796Y	Q954H, N969K	—	D1259Y
JN.1及其亚分支	T19I, R21T, A27S, S50L, F59S, V127F, G142D, H146Q, F157S, R158G, Q183H, L212I, V213G, L216F, H245N, S255F, A264D, V16insMPLF	I332V, G339H, R346T, K356T, S371F, S373P, S375F, T376A, R403K, D405N, R408S, K417N	N440K, V445H, G446S, N450D, L452W, L455S, F456L, N460K, S477N, T478K, N481K, E484K, F486P, Q498R, N501Y, Y505H	E554K, A570V, D614G, P621S, H655Y, N679K, P681R	D796Y	S939F, Q954H, N969K, I934V	G1171D	G1251E
XDV.1及其亚分支	T19I, R21T, A27S, S50L, V127F, G142D, F157S, R158G, L212I, V213G, L216F, H245N, A264D, V16insMPLF	I332V, G339H, K356T, S371F, S373P, S375F, T376A, R403K, D405N, R408S, K417N	N440K, V445H, G446S, N450D, L452W, L455S, F456L, N460K, S477N, T478K, N481K, E484K, F486P, Q498R, N501Y, Y505H	E554K, A570V, D614G, P621S, H655Y, N679K, P681R	D796Y	S939F, Q954H, N969K	L1203F	—

注:“—”表示未发现相应氨基酸变异位点。

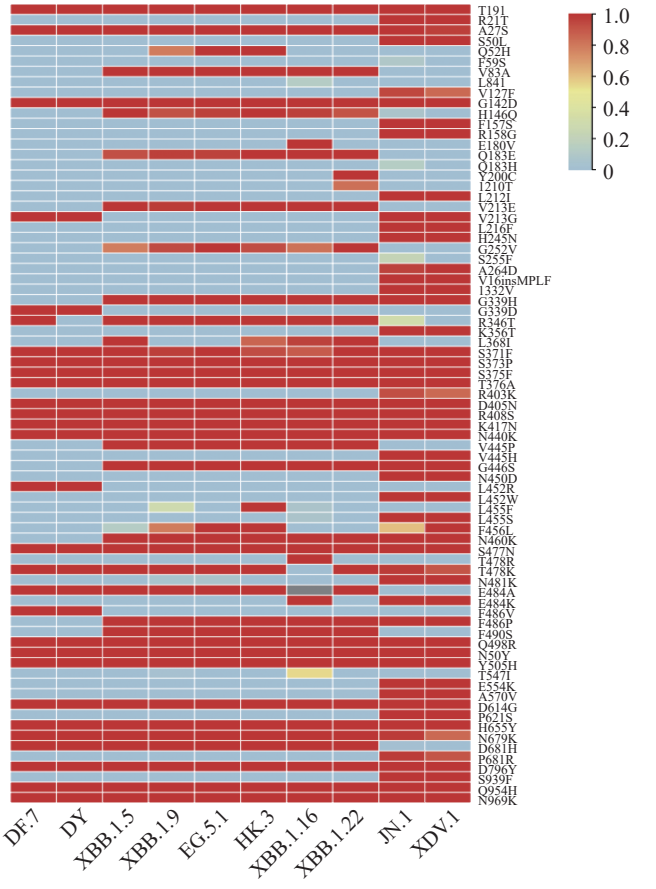


图 3　衢州市 246 例 Omicron 变异株 S 蛋白氨基酸突变频率聚类分析热图

Fig. 3　Cluster heatmap for amino acid mutation frequency in the S protein of 246 Omicron variants in Quzhou

2.5　S 蛋白氨基酸位点变异风险评估(表 3)　通过 VarEPS 系统对 S 蛋白高频变异位点进行变异评估与预测分析。结果显示，多个变异位点(G142D、R346T、S371F、S373P、T376A、D405N、R408S、K417N、G446S、F456L、Y505H、N969K 等)可在一定程度上降低 S 蛋白与中和抗体的亲和力(★～★★)；部分变异位点(G339H、S371F、S373P、S375F、N450D、L452R 等)还可降低 S 蛋白与 ACE2 受体的结合稳定性(～▲)，这些变异位点广泛分布于 EG.5.1、HK.3、JN.1、XDV.1 等多种基因型及其亚分支中。此外，部分多重变异位点(V213E/G、G339D/H、V445P/H、L455F/S、F486V/P 等)在 JN.1 和 XDV.1 及其亚分支中表现为更高的氨基酸替换风险(☆☆)，其对 S 蛋白与中和抗体的亲和力及 ACE2 受体结合稳定性的影响也有所差异。

表 3　S 蛋白氨基酸位点变异风险评估结果
Table 3　Risk assessment of amino acid mutations in the S protein

氨基酸变异	Provean评分[a]	非同义密度[b]	抗体亲和力[c]	结合稳定性(ACE2)[d]	氨基酸替换风险[e]
S:V213E	−1.016	0.000	★★		☆
S:V213G	−0.936	0.000	★★		☆☆
S:G339D	−0.344	0.001	★★		☆
S:G339H	−0.982		★	▲	☆☆
S:V445P	−0.148		★★		☆
S:V445H	0.117		★★		☆☆
S:L455F	0.462	0.003	★		
S:L455S	0.812	0.000	★★		☆☆
S:T478R	−0.716	0.002	★★		☆
S:T478K	−0.306	0.485	★★		☆
S:F486V	−0.388	0.000	★★		☆
S:F486P	−0.713		★★		☆☆

注：a：Provean评分≤阈值(−2.5)判为有害突变，高于阈值判为中性突变；b：高值表明病毒在短期内迅速积累突变增加短期适应性；c：3 颗★代表高度不稳定，2 颗★代表不稳定，1 颗★代表轻度不稳定；d：3 颗▲代表高度稳定，2 颗▲代表稳定，1颗▲代表轻度稳定；e：☆数越多代表出现该种替换的风险越大。

3　讨　论

新冠病毒 Omicron 变异株是目前传染性最强的变异株，具有传播速度快、免疫逃逸能力强等显著特点[9−10]，也是目前全球流行的主要变异株[11]。衢州市新冠病毒变异株监测结果显示，2023—2024 年新冠病毒流行株均为 Omicron 变异株，与全球流行趋势一致[11]。从分型结果看，可分为 10 个进化分支，不同时期优势分支有所不同，并随着病毒的进化逐渐变迁，从 BA.5.2 及其亚分支到 XBB 谱系的出现，再逐渐进化出 EG.5.1 和 HK.3 及其亚分支并成为优势分支；衢州市从 2024 年 1 月 JN.1 及其亚分支开始出现，并迅速占据主导地位，该变异株也引发了多起全球性疫情，可能具有更强的感染性和免疫逃逸能力[12]。此外，不同分支在变异变迁过程中存在共存现象，提示病毒的变异可能是在生存压力下逐渐选择的结果，通过不断进化，从而实现免疫逃逸[13]。依据中国疾病预防控制中心发布的《全国新型冠状病毒感染疫情情况》[14]，2023—2024 年衢州市新冠病毒各分支流行趋势与全国趋势基本一致，但稍有滞后，国内 XBB 谱系和 JN.1 及其亚分支均出现更早，这可能与衢州市的地理位置和人员流动性有关，但作为内陆城市，衢州市素有“四省通衢、五路总头”之称，其监测数据仍具有较好的代表性。

在监测的 246 例病例中，不同性别的新冠病毒基因型分布差异无统计学意义，这与国内部分研究结果一致[15]，符合人群对新冠病毒普遍易感的特征[16]。从年龄分布看，本研究覆盖范围在 2～92 岁，各基因型的年龄分布广泛，但不同年龄组新冠病毒基因型分布差异有统计学意义，并与国内部分研究结果存在一定差异[15,17]。这可能是受到样本来源及 CT 值限制，导致不同年龄组的测序样本数存在偏差所致。但广泛的年龄分布同样表明除老年人外，社交活动频繁的青年人群也应加强个人防护，及时接种疫苗。

新冠病毒的持续流行以及庞大的感染群体，为病毒的不断进化创造了条件；并在宿主免疫压力的选择下，形成适应性更强的变异株[18]。研究表明，Omicron 变异株 S 蛋白携带有大量变异位点，包括多个片段的缺失与插入[19]。参考新冠病毒 Wuhan-Hu-1/2019(GenBank：MN908947)序列，本研究的 246 例 Omicron 变异株平均有核苷酸变异位点 109 个(76～137 个)、氨基酸变异位点 80 个(53～100 个)，相较于前期研究[20]，呈现明显上升趋势，提示病毒可能通过持续积累突变来提升

自身适应能力。有研究显示，S 蛋白氨基酸变异位点主要集中于 S1 亚基的 NTD 结构域和 RBD 区域，其中 RBD 区域直接作用于细胞受体 ACE2，而 NTD 结构域可通过调节 S 蛋白构象辅助受体结合[21]。因此，NTD 和 RBD 区域的氨基酸位点变异可能对病毒感染力和免疫逃逸能力造成直接影响。

本研究通过对 246 例 Omicron 变异株 S 蛋白氨基酸变异位点分析显示，从 BA.5.2 到 XBB 谱系再到 JN.1 和 XDV.1 及其亚分支，其 S 蛋白氨基酸变异位点逐步增加，不同基因型之间氨基酸位点突变频率存在差异。其中，BF.7 及其亚分支主要增加了 R346T 氨基酸变异位点，相较于 BA.5 及其亚分支有着更强的免疫逃逸能力[22]。在 XBB 谱系中新增的 G446S、F456L、N460K、F490S 等氨基酸变异位点可增强病毒的免疫逃逸能力，但也会削弱病毒与 ACE2 受体的亲和力[23-24]。同时存在 N440K、T478K、Q498R、N501Y 等增强受体亲和力的变异位点，以维持病毒感染力与免疫逃逸能力之间的平衡，其中 Q498R 与 N501Y 可通过协同作用改变 S 蛋白的构象，使 RBD 呈现“向上位效应”,以显著提升受体亲和力[25]。HK.3 及其亚分支中的 L455F-F456L 可通过协同作用增强病毒免疫逃逸能力的同时，逆转对 ACE2 受体亲和力的不利因素[26]，这可能是 HK.3 及其亚分支在 2023 年底成为优势基因型的原因之一；也提示位点之间存在复杂的协同作用关系，其分子机制还有待深入研究。JN.1 及其亚分支作为目前发现的感染力和免疫逃逸能力最强的进化分支之一，其 S 蛋白相较于 XBB 谱系携带有更多的氨基酸变异位点[27]，其中 K356T、N450D、L452W、L455S、E544K、A570V 等氨基酸变异位点可增强病毒的免疫逃逸能力，同时 L455S 进一步提升了 JN.1 及其亚分支对 RBD-1 类抗体的抗性，使其表现出广泛耐受性，具有强大的免疫逃逸能力[28]。研究表明，E544K 突变可使靶向 CTD 的小鼠源抗体 S3H3 完全失效[29]。此外，E484K 可通过增强受体结合所需的静电互补性从而增加受体亲和力，并可与 N501Y 协同作用进一步提升病毒感染力[30]。位于 S1/S2 结构域交界处的 P681R 突变可通过增强弗林蛋白酶对 S 蛋白的切割效率，从而提高病毒感染性，并可与 D614G 协同作用进一步促进 S 蛋白的活化[31]。此外，本研究中 LB.1 与 KP.2.3 基因型均存在 S31del 变异，其在增强病毒免疫逃逸能力的同时进一步提升病毒的稳定性[32]，这可能是衢州市 2024 年 8—9 月 LB.1 与 KP.2.3 成为优势基因型的原因之一。强大的感染力和免疫逃逸能力促使 JN.1 及其亚分支迅速成为全球流行的主导变异株，衢州市自 2024 年 1 月 JN.1 及其亚分支取代 XBB.1.9 及其亚分支以来，也迅速成为绝对优势分支。

新冠病毒作为一种 RNA 病毒有着较高的突变率，尤其是 S 蛋白作为介导病毒与宿主细胞受体识别及免疫逃逸的相关蛋白，有着更高的突变率[33]，其关键结构域的突变可能会直接影响病毒的感染力和免疫逃逸能力。通过 VarEPS 系统分析显示，在本研究的 S 蛋白关键结构域中多数变异位点可不同程度地降低 S 蛋白与中和抗体的亲和力，从而增加病毒的免疫逃逸能力，这可能也是病毒不断进化的主要方向；但对 S 蛋白与 ACE2 受体的结合稳定性影响有限，提示病毒与 ACE2 受体的结合稳定性可能主要通过多位点间的协同作用得以维持甚至加强，从而保持病毒感染力与免疫逃逸能力之间的平衡。此外，在 S 蛋白中还存在多个氨基酸位点变异更替（V213E 到 V213G、G339D 到G339H、V445P 到V445H、L455F 到L455S、F486V 到 F486P 等），这些变异位点的更替在影响抗体亲和力和受体结合稳定性的同时还显示出更高的氨基酸替换风险，应予以重点关注。

综上所述，本研究揭示了衢州市新冠病毒 Omicron 变异株流行趋势及分子遗传进化特征，通过对新冠病毒变异株的持续监测，有助于及时发现新的变异株及关键变异位点，为新冠疫情溯源、流行风险评估及防控策略的制定提供科学指导，同时对于疫苗及抗病毒药物的研发也具有重要意义。本研究也存在一定的局限性，首先受到样本 CT 值限制，序列测定未能做到样本全覆盖；其次缺乏完善的临床资料数据，仅在分子层面对衢州市新冠病毒变异株进行分析。后期应进一步提高样本覆盖率及完善临床资料数据，将流行病学研究与分子进化研究相结合，为衢州市新冠疫情的风险研判及精准防控提供科学依据。

数据可用性声明 本研究中所有的原始数据均已在论文中得以全面展示。

参考文献

[1] Platto S, Wang Y Q, Zhou J F, et al. History of the COVID-19 pandemic: origin, explosion, worldwide spreading[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2021, 538: 14-23.

[2] Feng Y N, Zhao X, Chen Z X, et al. Genomic surveillance for SARS-CoV-2 variants of concern from imported COVID-19 cases-the mainland of China, 2021[J]. China CDC Weekly, 2022, 4(31): 680-684.

[3] Viana R, Moyo S, Amoako D G, et al. Rapid epidemic expansion of the SARS-CoV-2 Omicron variant in southern Africa[J]. Nature, 2022, 603(7902): 679-686.

[4] Kim D, Lee J Y, Yang J S, et al. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome[J]. Cell, 2020, 181(4): 914-921. e10.

[5] Jackson C B, Farzan M, Chen B, et al. Mechanisms of SARS-CoV-2

entry into cells[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2022, 23(1): 3-20.

[6] Isabel S, Graña-Miraglia L, Gutierrez J M, et al. Evolutionary and structural analyses of SARS-CoV-2 D614G spike protein mutation now documented worldwide[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 14031.

[7] Cherian S, Potdar V, Jadhav S, et al. SARS-CoV-2 spike mutations, L452R, T478K, E484Q and P681R, in the second wave of COVID-19 in Maharashtra, India[J]. Microorganisms, 2021, 9(7): 1542.

[8] Sun Q L, Shu C, Shi W Y, et al. VarEPS: an evaluation and prewarning system of known and virtual variations of SARS-CoV-2 genomes[J]. Nucleic Acids Research, 2022, 50(D1): D888-D897.

[9] Kandeel M, Mohamed M E M, El-Lateef H M A, et al. Omicron variant genome evolution and phylogenetics[J]. Journal of Medical Virology, 2022, 94(4): 1627-1632.

[10] Guo Y F, Han J J, Zhang Y, et al. SARS-CoV-2 omicron variant: epidemiological features, biological characteristics, and clinical significance[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 877101.

[11] Wasim R, Sumaiya, Ahmad A. Across-the-board review on Omicron SARS-CoV-2 variant[J]. Inflammopharmacology, 2025, 33(1): 1-10.

[12] Siddiqui A N, Musharaf I, Gulumbe B H. The JN. 1 variant of COVID-19: immune evasion, transmissibility, and implications for global health[J]. Therapeutic Advances in Infectious Disease, 2025, 12: 1-13.

[13] Shrestha L B, Foster C, Rawlinson W, et al. Evolution of the SARS-CoV-2 omicron variants BA. 1 to BA. 5: implications for immune escape and transmission[J]. Reviews in Medical Virology, 2022, 32(5): e2381.

[14] 中国疾病预防控制中心. 全国新型冠状病毒感染疫情情况 (2024 年 9 月)[EB/OL]. (2024-10-14)[2025-03-19]. https://www.chinacdc.cn/jksj/xgbdyq/202410/t20241015_301483.html.

[15] 韩桃利, 卢盼, 赵嘉欣, 等. 北京市朝阳区 2023—2024 年 SARS-CoV-2 基因特征分析 [J]. 病毒学报, 2025, 41(2): 417-427.

[16] Liu J T, Zhou J, Yao J X, et al. Impact of meteorological factors on the COVID-19 transmission: a multi-city study in China[J]. Science of The Total Environment, 2020, 726: 138513.

[17] 贾逸林, 应文欣, 叶楚楚, 等. 2023 年 1—6 月上海市浦东新区新冠病毒变异株流行情况及 XBB 变异株感染者特征分析 [J]. 中国公共卫生, 2023, 39(10): 1327-1330.

[18] Feder K A, Pearlowita M, Goode A, et al. Linked clusters of SARS-CoV-2 variant B. 1.351-maryland, January–February 2021[J]. MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report, 2021, 70(17): 627-631.

[19] Tao K M, Tzou P L, Kosakovsky Pond S L, et al. Susceptibility of SARS-CoV-2 Omicron variants to therapeutic monoclonal antibodies: systematic review and meta-analysis[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(4): e00926-22.

[20] 陈晓玲, 郑丹凤, 龚彩婷, 等. 泉州市 2022—2023 年新冠病毒 Omicron 变异株基因组特征及 S 蛋白突变位点动态分析 [J]. 病毒学报, 2024, 40(1): 97-105.

[21] Li Y, Wang T, Zhang J R, et al. Exploring the regulatory function of the N-terminal Domain of SARS-CoV-2 spike protein through molecular dynamics simulation[J]. Advanced Theory and Simulations, 2021, 4(10): 2100152.

[22] 杨馥荧, 冯晔囡, 陈操. 全球新型冠状病毒主要流行株变异变迁研究进展 [J]. 病毒学报, 2025, 41(3): 889-900.

[23] Cao Y L, Jian F C, Wang J, et al. Imprinted SARS-CoV-2 humoral immunity induces convergent Omicron RBD evolution[J]. Nature, 2023, 614(7948): 521-529.

[24] Greaney A J, Starr T N, Bloom J D. An antibody-escape estimator for mutations to the SARS-CoV-2 receptor-binding domain[J]. Virus Evolution, 2022, 8(1): veac021.

[25] Starr T N, Greaney A J, Hannon W W, et al. Shifting mutational constraints in the SARS-CoV-2 receptor-binding domain during viral evolution[J]. Science, 2022, 377(6604): 420-424.

[26] Xue S, Han Y R, Wu F, et al. Mutations in the SARS-CoV-2 spike receptor binding domain and their delicate balance between ACE2 affinity and antibody evasion[J]. Protein and Cell, 2024, 15(6): 403-418.

[27] He Q W, An Y L, Zhou X M, et al. Neutralization of EG. 5, EG. 5.1, BA. 2.86, and JN. 1 by antisera from dimeric receptor-binding domain subunit vaccines and 41 human monoclonal antibodies[J]. Med, 2024, 5(5): 401-413. e4.

[28] Yang S J, Yu Y L, Xu Y L, et al. Fast evolution of SARS-CoV-2 BA. 2.86 to JN. 1 under heavy immune pressure[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2024, 24(2): e70-e72.

[29] Zhou D M, Supasa P, Liu C, et al. The SARS-CoV-2 neutralizing antibody response to SD1 and its evasion by BA. 2.86[J]. Nature Communications, 2024, 15(1): 2734.

[30] Rucker G, Qin H, Zhang L Q. Structure, dynamics and free energy studies on the effect of point mutations on SARS-CoV-2 spike protein binding with ACE2 receptor[J]. PLoS One, 2023, 18(10): e0289432.

[31] Khatri R, Siddqui G, Sadhu S, et al. Intrinsic D614G and P681R/H mutations in SARS-CoV-2 VoCs Alpha, Delta, Omicron and viruses with D614G plus key signature mutations in spike protein alters fusogenicity and infectivity[J]. Medical Microbiology and Immunology, 2023, 212(1): 103-122.

[32] Li P, Faraone J N, Hsu C C, et al. Neutralization and spike stability of JN. 1-derived LB. 1, KP. 2.3, KP. 3, and KP. 3.1. 1 subvariants[J]. mBio, 2025, 16(5): e00464-25.

[33] Wu A P, Wang L L, Zhou H Y, et al. One year of SARS-CoV-2 evolution[J]. Cell Host and Microbe, 2021, 29(4): 503-507.