

## 中国“人-猪-禽”基因重排 H1N2 亚型猪流感病毒 全基因克隆及遗传进化的研究

陈义祥<sup>1</sup>, 蒙雪琼<sup>2</sup>, 刘棋<sup>1\*</sup>, 黄夏<sup>3</sup>, 黄胜斌<sup>1</sup>,  
刘翠权<sup>1</sup>, 施开创<sup>1</sup>, 郭建刚<sup>1</sup>, 陈芳芳<sup>1</sup>, 胡丽萍<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>广西动物疫病预防控制中心, 南宁 530001)

(<sup>2</sup>广西大学动物科学技术学院, 南宁 530005) (<sup>3</sup>广西动物卫生监督所, 南宁 530005)

**摘要:**【目的】为了研究 2006 年从广西病猪肺组织中分离的 H1N2 亚型猪流感病毒(SIV) A/Swine/Guangxi/13/2006 (H1N2)(Sw/GX/13/06)的遗传学特性和 8 个基因的来源。【方法】运用 RT-PCR 方法对其全基因进行了克隆并运用分子生物学软件对其基因序列进行了遗传进化分析。【结果】血凝素(HA)、核蛋白(NP)、基质蛋白(M)和非结构蛋白(NS)基因来源于猪古典 H1N1 亚型流感病毒; 神经氨酸酶(NA)和聚合酶蛋白(PB1)基因来源于人的 H3N2 亚型流感病毒; 聚合酶蛋白(PA)和聚合酶蛋白(PB2)基因来自于禽流感病毒。【结论】可见 Sw/GX/13/06 是一株“人-猪-禽”三源基因重排 H1N2 亚型 SIV, 且与美国(1999-2001 年)和韩国(2002 年)分离到该型病毒的有明显的亲缘关系。据我们所知, 这是中国首次报道含有禽流感病毒基因片段的重排 H1N2 SIV, 该病毒是否对养猪业和人类公共卫生健康具有潜在的威胁, 有待于进一步研究。

**关键词:** 猪流感病毒; H1N2 亚型; 基因重排; 遗传进化

中图分类号: Q93,R78 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2008) 04-0466-07

猪流感病毒(Swine influenza virus, SIV)属于正粘病毒科 A 型流感病毒属, 是单股负链 RNA 病毒, 其基因组由大小不等的 8 个独立片段组成<sup>[1,2]</sup>。目前世界范围内猪群中流行的 SIV 亚型主要有 3 种: H1N1、H3N2 和 H1N2, 其中包括古典 H1N1、类禽 H1N1、类人 H3N2、基因重排的 H3N2 和多基因型的 H1N2 亚型<sup>[3,4]</sup>。猪在流感病毒的种间传播方面占有很特别的地位, 被认为是人、禽和/或猪流感病毒通过基因重排产生新的亚型流感病毒的“混合器”<sup>[4-6]</sup>。猪在整个流感病毒的生态分布和遗传进化中也起着重要的作用。研究表明, 在人类历史上 4 次流感大流行, 其中两次是由从禽流感病毒中获得基因节段的基因重排病毒引起的<sup>[7,8]</sup>。自然条件下经常发生禽和人流感病毒传播给猪的事件, 也有证据表明, SIV 可反传给禽<sup>[9,10]</sup> 和人。自 1976 年

美国<sup>[11]</sup>报道了新泽西州一名士兵死于古典 H1N1 SIV 引起的肺炎以来, 荷兰<sup>[12]</sup>和香港<sup>[13]</sup>等其它地区也有关于 SIV 传染给人并引起发病甚至导致死亡<sup>[13]</sup>的报道, 这表明 SIV 对人类的健康已构成了潜在的威胁。1978 年日本<sup>[14]</sup>首次从猪体内分离到 H1N2 亚型病毒, 此后, 世界其它地区, 包括法国<sup>[15]</sup>、英国<sup>[16]</sup>、美国<sup>[17]</sup>、韩国<sup>[18]</sup>和中国<sup>[19]</sup>都分离到该亚型病毒, 但这些分离到的 H1N2 亚型病毒的基因来源并不相同, 具有遗传多样性, 且流行情况和危害程度也不相同。研究表明, 我国猪群中流行的猪流感病毒亚型主要是猪古典 H1N1 和类人 H3N2 病毒<sup>[20,21]</sup>。最近, 也有从猪体内分离到禽源流感病毒<sup>[22,23]</sup>的报道, 但这两种病毒在猪体内的流行情况尚不清楚。这为含有禽流感病毒基因的重排病毒的产生创造了条件。本研究对从广西病猪肺组织中分离的

\*通讯作者。Tel: +86-771-3122592; E-mail: q.g.x.liu@hotmail.com

作者简介: 陈义祥(1974-), 男, 河南南阳人, 兽医师, 硕士, 主要从事预防兽医学研究。E-mail: y.x.chen@hotmail.com

收稿日期: 2007-08-23; 修回日期: 2007-12-28

H1N2 亚型 SIV A/Swine/Guangxi/13/2006(H1N2)全基因进行了克隆和遗传进化树分析, 现报告如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 病毒分离与鉴定**: 广西北海市病猪肺组织病毒悬液, 双抗作用后尿囊腔接种 9~11 日龄 SPF 鸡胚, 用 HI 和 RT-PCR 方法鉴定病毒亚型。

**1.1.2 主要试剂和仪器**: T-Gradient Thermoblock 梯度 PCR 仪; Biofuge Stratas 台式冷冻高速离心机; BTS-20-M 型 UVI 凝胶成像分析系统; SANYO 超低温冰箱; RNA 抽提试剂 TRIZOL 购自 Invitrogen 公司; AMV 反转录酶、RT-PCR 一步法试剂盒、dNTPs 和 Ex Taq DNA 聚合酶和 pMD18-T 载体购自 TaKaRa 公

司; 胶回收试剂盒购自 Omega 公司; RNasin 购自 TOYOBO 公司; DH5 $\alpha$ 感受态细菌和小量质粒抽提试剂盒购自博大泰克公司。

**1.1.3 引物**: 表 1 为本研究所用引物。

### 1.2 基因的扩增和克隆

运用 Uni-12 通用引物进行反转录, 设计的 8 对特异性引物对 Sw/GX/13/06 的全基因进行 PCR 扩增。RT 反应条件为: 42 $^{\circ}$ C, 60min, 95 $^{\circ}$ C, 5min; PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C, 1min; 退火和延伸见(表 2), 30 个循环后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min。反应结束后取 5 $\mu$ L PCR 产物在 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳, 凝胶成像系统上观察目的片段。PCR 产物纯化回收, 克隆于 pMD18-T 载体, 转化宿主菌 DH5 $\alpha$ , 经蓝白斑筛选, PCR 鉴定, 选取阳性克隆测序。

表 1 用于 A/Swine/Guangxi/13/2006(H1N2)全基因扩增的引物  
Table 1 Primers used for A/Swine/Guangxi/13/2006(H1N2) genes amplification

Gene	Primer sequence (5 $\rightarrow$ 3)	Positions	Size of fragments/bp
RT	Uni-12: AGCAAAAGCAGG	1-12	
PB2	PB2-F: AGCAAAAGCAGGTCAATTA	1-19	2341
	PB2-R: AGTAGAAACAAGGTCGTTT	2323-2341	
PB1	PB1-F: AGCAAAAGCAGGCAAACCA	1-19	2336
	PB1-R: AAACAAGGCATTTTTTCATG	2317-2336	
PA	PA-F: AGCAAAAGCAGGTACTGAT	1-19	2209
	PA-R: ACAGTATGGATAGCAAATAGT	2188-2209	
HA	HA-F: AGCAAAAGCAGGGGAAAA	1-18	1757
	HA-R: TCTCATGTCTCTGAAATCCT	1738-1757	
NP	NP-F: AGCAAAAGCAGGGTA	1-15	1565
	NP-R: AGTAGAAACAAGGGTATTTTT	1544-1565	
NA	NA-F: AGCAAAAGCAGGAGTGAAGA	1-20	1449
	NA-R: TTTTCTAAAATTGCGAAAGC	1429-1449	
M	M-F: AGCAAAAGCAGGTAG	1-15	1027
	M-R: AGTAGAAACAAGGTAGTTTT	1006-1027	
NS	NS-F: AGCAAAAGCAGGGTGGCA	1-18	881
	NS-R: AAGGGTGTTTTTTAGTATTA	861-881	

表 2 A/Sw/GX/13/06(H1N2) 8 个基因 PCR 扩增条件  
Table 2 The PCR condition for the amplification

Gene	The PCR condition for the amplification								
		PB2	PB1	PA	HA	NP	NA	M	NS
Annealing	<i>T</i> /	53	58	51	55	56	58	58	54
	<i>t</i> /min	1	1	1	1	1	1	1	1
Extension	<i>T</i> /	72	72	72	72	72	72	72	72
	<i>t</i> /min	2.5	2.5	2.5	2	2	2	1	1

### 1.3 分离毒株遗传进化树分析

将 PB2、PB1、PA、HA、NP、NA、M、NS 的所得序列上传 GeneBank, 序列号分别为: EU015993、EU015992、EU015991、EF556199、EU015990、EF556120、EU015989 和 EU015988。应用 DNASTar 软件, 与

GenBank 收录的其它 SIV 参考毒株进行遗传进化分析。

## 2 结果

### 2.1 病毒的分离和鉴定

分离毒株尿囊液的红细胞凝集作用能被 H1 亚型

SIV 标准阳性血清所抑制; 运用 RT-PCR 方法进一步证明分离毒株为 H1N2 亚型猪流感病毒。根据流感病毒通用命名法则将分离毒株命名为: A/Swine/Guangxi/13/2006 (H1N2)(Sw/GX/13/06)。

2.2 全基因的扩增和克隆

运用 RT-PCR 方法对分离株 8 个基因进行扩增, 分别扩增出了 2341bp、2336bp、2209bp、1757bp、1565bp、1449bp、1027bp 和 881bp 的目的基因片段。

2.3 Sw/GX/13/06 遗传进化树分析

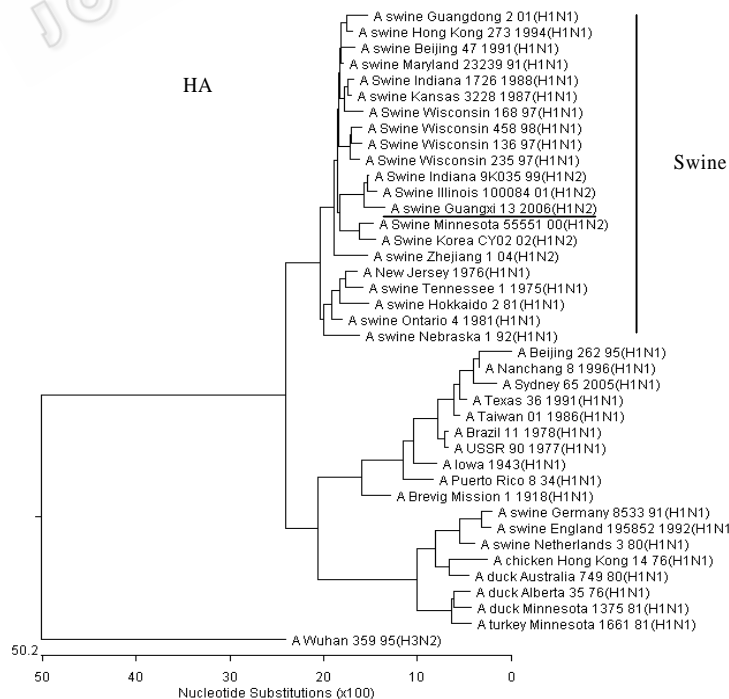
遗传进化分析显示: Sw/GX/13/06 血凝素(HA)、核蛋白(NP)、基质蛋白(M)和非结构蛋白(NS)基因显然位于古典猪 H1N1 流感病毒群, 且 HA 和 NS 与 A/swine/Hong Kong/273/1994(H1N1)核苷酸同源性最高, NP 和

M 与 A/swine/Iowa/17672/1998(H1N1) 核苷酸同源性最高; 神经氨酸酶(NA)和聚合酶蛋白 PB1 基因位于人的 H3N2 病毒群, 分别与 A/Shiga/25/97(H3N2)和 A/Miyagi/29/95(H3N2)核苷酸同源性最高; 聚合酶蛋白 PA 和聚合酶蛋白 PB2 基因位于禽流感病毒群, 分别与 A/Quail/Arkansas/29209-1/93(H9N2)和 A/Shorebird Delaware/9/96(H9N2)核苷酸同源性最高。所以 Sw/GX/13/06 为猪古典 H1N1 流感病毒(提供 HA、NP、M 和 NS 基因), 人 H3N2 流感病毒(提供 NA 和 PB1 基因)和禽流感病毒(提供 PB2 和 PA 基因)的基因重排产物。表 3 为核苷酸同源性, 图 1 为 HA、NA 和 PA 进化树分析。另外, Sw/GX/13/06 与美国(1999-2001)和韩国(2002)年分离到的 H1N2 亚型流感病毒有明显的亲缘关系(表 4)。

表 3 Sw/GX/13/06 与参考毒株基因最高相似性  
Table 3 Genetic similarity between Sw/GX/13/06 and reference strains available in GenBank

Gene	Region	Virus with the highest identity	Nucleotide sequence similarity/%	Influenza virus lineage
PB2	46-2309	A/shorebird Delaware/9/96(H9N2) <sup>a</sup> [AF156441] <sup>b</sup>	95.3	Avian
PB1	25-2298	A/Miyagi/29/95(H3N2)[U71131]	96.5	Human
PA	25-2172	A/Quail/Arkansas/29209-1/93(H9N2)[AF156456]	94.8	Avian
HA	15-1344	A/swine/Hong Kong/273/1994(H1N1)[U45452]	93.9	Swine
NP	14-1546	A/swine/Iowa/17672/1998(H1N1)[CY022336]	96.1	Swine
NA	20-1429	A/Shiga/25/97(H3N2)[AF038264]	96.5	Human
M	13-1007	A/swine/Iowa/17672/1998(H1N1)[CY022334]	97.1	Swine
NS	29-856	A/swine/Hong Kong/273/1994(H1N1)[U49490]	95.4	Swine

To clarify the overall genotype of Sw/GX/13/06, these analyses excluded viruses known to have been isolated following interspecies transmission, as well as the H3N2 reassortant viruses isolated recently from pigs in the world. a. The genotype of the reference virus sequences; b. The GenBank accession numbers for the reference virus sequences.



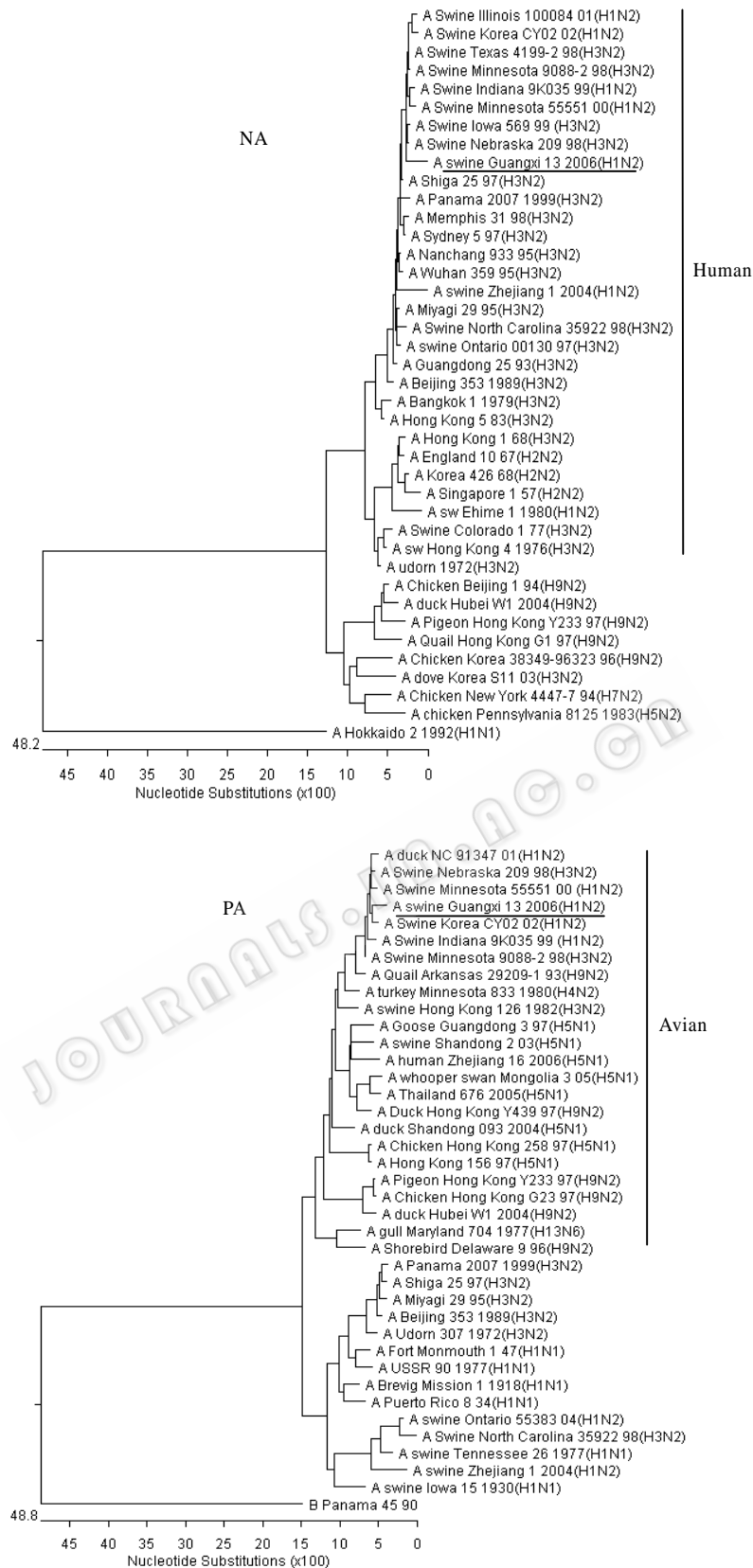


图 1 Sw/GX/13/06 分离毒株 HA、NA 和 PA 基因核苷酸进化树

Fig. 1 Nucleotide phylogenetic tree for the HA, NA and PA gene of Sw/GX/13/06 and reference influenza viruses. The evolutionary relationships among these viruses were estimated by the method of MegAlign (DNASstar software). Horizontal-line distances are proportional to the minimum numbers of nucleotide changes needed to join nodes and gene sequences. The vertical lines are present simply for spacing the branches and labels.

表 4 Sw/GX/13/06 与美国(1999–2001)和韩国(2002)年分离的 H1N2 亚型流感病毒核苷酸同源性  
Table 4 Sequence homologies between Sw/GX/13/06 and H1N2 viruses isolated from America (1999–2001) and Korea (2002)

Gene	Nucleotide sequence identity /%	
	Reference viruses isolated from USA	A/Swine/Korea/CY02/02(H1N2)
PB2	96.7–97.5	96.4
PB1	96.5–97.1	96.8
PA	96.2–97.0	97.3
HA	91.3–97.0	90.0
NP	95.8–97.9	96.5
NA	95.7–96.5	96.0
M	95.9–98.4	97.0
NS	95.5–97.0	96.4

Reference viruses isolated from USA included: A/Swine/Illinois/100085A/01(H1N2)[AF455737]; A/Swine/Illinois/100084/01(H1N2) [AF455738]; A/Swine/Indiana/9K035/99 (H1N2) [AF250131]; A/Swine/Indiana/P12439/00(H1N2)[AF455736]; A/Swine/Iowa/930/01(H1N2) [AF455735]; A/Swine/Minnesota/55551/00 (H1N2) [AF455734]; A/duck/NC/91347/01 (H1N2) [AY233387]; A/Swine/North Carolina/93523/01(H1N2) [AF455733]; A/Swine/North Carolina/98225/01(H1N2) [AF455732]; A/Swine/Ohio/891/ 01(H1N2) [AF455731]

### 3 讨论

经遗传特性和进化树分析证实 A/swine/Guangxi/13/2006 是“人-猪-禽”三源基因重排 H1N2 亚型 SIV。也进一步证实了猪可最大限度地被禽流感病毒和人流感病毒感染, 可以作为“混合器”的重要作用, 具有产生新的重排病毒的潜力。据我们所知, 这是国内首次从猪体内分离到的含有禽流感病毒基因片段的 H1N2 基因重排流感病毒。

自 1991 年中国大陆首次分离到古典猪 H1N1 SIV<sup>[20]</sup>病毒以来, 不断有关于古典 H1N1 SIV 和人 H3N2 流感病毒在猪体内流行的报道<sup>[21~23]</sup>。2004 年祁贤<sup>[19]</sup>首次从患有呼吸道疾病的猪场中分离到了 H1N2 亚型流感病毒, 经分析该病毒是上世纪 90 年代中期流行于中国的类人 H3N2 病毒(提供 NA 基因)和猪古典 H1N1 流感病毒(提供其它 7 个基因)的重排产物。2006 年我们从广西猪群中分离的 H1N2 亚型 SIV 遗传特性显然与之不同(图 2), 而与美国<sup>[17, 24]</sup>和韩国<sup>[18]</sup>分离到该型病毒的亲缘关系最近, 8 个基因核苷酸同源性也很高(表 4), 所以该病毒可能由美国传入中国。日本<sup>[14]</sup>和英国<sup>[16]</sup>的 H1N2 亚型 SIV 都在本地区引起广泛的传播。美国的 H1N2 亚型 SIV 是由流行

于北美猪群中的古典猪 H1N1 病毒与 1998 年发现的三源基因重排 H3N2 病毒发生基因重排的产物, 这种病毒也在本地区引起广泛传播, 引起猪群呼吸道疾

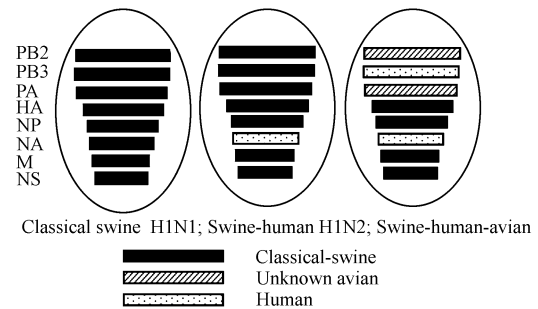


图 2 猪流感病毒基因来源示意图

Fig. 2 A schematic diagram representing the influenza virus genotype currently isolated in China swine population.

病, 甚至发生怀孕母猪流产现象<sup>[17, 24]</sup>, 造成重大的经济损失。中国的 H1N2 亚型基因重排病毒是否已经或将会在我国猪群中造成大的流行, 并给禽类和人类带来潜在危害尚不清楚。另外, 关于 Sw/GX/13/06 的生物特性和致病性还有待于进一步的研究。

流行于欧洲猪身上的类禽 H1N1 病毒可以感染人并具有在人身上复制的能力<sup>[9, 10]</sup>, 这就增加了新流感病毒基因经猪体重排后传播给人的可能性。近年来, 在北美和欧洲猪群中流行的基因重排病毒常含有禽流感病毒基因片段<sup>[17, 24~26]</sup>。资料表明含有禽流感病毒基因的重排病毒可能在哺乳动物中具有明显的选择优势。1957 年“亚洲流感”是当时流行于人群中的 H1N1 病毒从禽流感病毒中获得了 HA、NA、PB1 基因片段而产生的 H2N2 亚型病毒引起的<sup>[7, 8]</sup>。1968 年“香港流感”是当时人群中 H2N2 病毒从禽流感病毒获得 HA、PB1 基因后产生的 H3N2 亚型流感病毒引起的<sup>[7, 8]</sup>。下一次流感的大暴发是否由猪体内的含有禽流感病毒基因片段的重排病毒引起, 尚不清楚, 但应引起我们的注意。

目前, 猪古典 H1N1 病毒、人 H3N2 病毒和禽流感病毒在中国猪群中共存, 这为产生“人-猪-禽”基因重排病毒以及更为复杂病毒创造了条件。这可能对养猪业以及人类公共卫生具有潜在的威胁。因此, 迫切需要加强对我国 SIV 的监测, 密切注意着流感的动向, 加强和完善动物流感与人流感的预测系统, 以便及时发现有可能引起流感大流行的病毒, 防患未然。

## 参 考 文 献

- [1] 殷震, 刘景华. 动物病毒学. 第2版. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, *et al.* Evolution and Ecology of Influenza A Viruses. *Microbiological Rev*, 1992, 56(1): 152-179
- [3] Webby RJ, Swenson SL, Krauss SL, *et al.* Evolution of swine H3N2 influenza viruses in the United States. *J Virol*, 2000, 74(18): 8243-8251.
- [4] Brown IH, The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs. *Vet Microbiol*, 2000, 74(1): 29-46.
- [5] Scholtissek C. Pig as the “mixing vessel” for the creation of new pandemic influenza A viruses. *Med Princ Pract*. 1990, 2(1): 65-71.
- [6] Castrucci MR, Donatelli I, Sidoli L, *et al.* Genetic reassortment between avian and human influenza A viruses in Italian pigs. *Virology*, 1993, 193(1): 503-506.
- [7] Kawaoka Y, Krauss S, Webster RG. Avian-to-human transmission of the PB1 gene of influenza A viruses in the 1957 and 1968 pandemics. *J virol*, 1989, 63(11): 4603-4608.
- [8] Scholtissek C, Rohde W, Høyningen VV, *et al.* On the origin of the human influenza virus subtype H2N2 and H3N2. *Virology*, 1978, 87(1): 13-20.
- [9] Ludwig S, Hausteil A, Kaleta EF, *et al.* Recent influenza A (H1N1) infections of pigs and turkeys in northern Europe. *Virology*, 1994, 202(2): 281-286.
- [10] Wood GW, Banks J, Brown IH, *et al.* The nucleotide sequence of the HA1 of the haemagglutinin of an H1 avian influenza virus isolate from turkeys in Germany provides additional evidence suggesting recent transmission from pigs. *Avian Pathol*, 1997, 26(2): 347-355.
- [11] Top FH, Russell PK. Swine influenza A at Fort Dix, New Jersey (January-February 1976) IV. Summary and speculation. *J Infect Dis*, 1977, 136, Suppl: 376-380.
- [12] Claas EC J, Kawwoka Y, De Jong JC, *et al.* Infection of children with avian-human reassortant influenza virus from pigs in Europe. *Virology*, 1994, 204(2): 453-457.
- [13] Gregory V, Lim W, Cameron K, *et al.* Infection of a child in Hong Kong by an influenza A H3N2 virus closely related to viruses circulating in European pigs. *J Gen Virol*, 2001, 82(6): 1397-1406.
- [14] Sugimura T, Yonemochi H, Ogawa T, *et al.* Isolation of a recombinant influenza virus (Hsw1N2) from swine in Japan. *Arch Virol*. 1980, 66(3): 271-274.
- [15] Gourreau JM, Kaiser C, Valette M, *et al.* Isolation of two H1N2 influenza viruses from swine in France. *Arch Virol*, 1994, 135(4): 365-382.
- [16] Brown IH, Chakraverty P, Harris PA, *et al.* Disease outbreaks in pigs in Great Britain due to an influenza A virus of H1N2 subtype. *Vet Rec*, 1995, 136(13): 328-329.
- [17] Karasin AI, Anderson RG, Olsen CW, *et al.* Genetic characterization of an H1N2 influenza virus isolated from a pig in Indiana. *J Clin Microbiol*, 2000, 38(6): 2453-2456.
- [18] Jung K, Chae C. Phylogenetic analysis of an H1N2 influenza A virus isolated from a pig in Korea. *Arch Virol*, 2004, 149(7): 1415-1422.
- [19] Qi X, Lu CP. Genetic characterization of novel reassortant H1N2 influenza A viruses isolated from pigs in southeastern China. *Arch Virol*, 2006, 151(11): 2289-2299.
- [20] 郭元吉, Webster RG, 诸葛亚辉, 等. 我国猪群中猪型(H1N1)流感病毒的发现及其来源的调查. 中华实验和临床病毒学杂志(*Chinese Journal of Experimental and Clinical Virology*), 1992, 6(4): 347-352.
- [21] 陈君彦, 李海燕, 申义之, 等. H1N1 亚型猪流感病毒中国分离株血凝素基因分子演化的研究. 中国预防兽医学报(*Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*), 2005, 27(1):13-17.
- [22] Peiris JSM, Guan Y, Markwell D, *et al.* Cocirculation of avian H9N2 and contemporary “human” H3N2 influenza A viruses in pigs in southeastern China: potential for genetic reassortment?. *J Virol*, 2001, 75(2): 9679-9686.
- [23] Xu CT, Fan WX, Wei R. *et al.* Isolation and identification of swine influenza recombinant A/Swine/Shandong/1/2003 (H9N2) virus. *Microbes Infect*, 2004, 6(10): 919-925.
- [24] Karasin IA, Landgraf J, Olsen CW, *et al.* Genetic characterization of H1N2 influenza A viruses isolated from pigs throughout the United States. *J Clin Microbiol*, 2002, 40(3): 1073-1079.
- [25] Zhou MN, Senne DA, Landgraf JS. Genetic reassortment of avian, swine, and human influenza A virus in American pigs. *J Virol*, 1999, 73(12): 8851-8856.
- [26] Campitelli L, Donatelli I, Foni E, *et al.* Continued evolution of H1N1 and H3N2 in pigs in Italy. *Virology*, 1997, 232(2): 310-318.

## Phylogenetic analysis of human/swine/avian gene reassortant H1N2 influenza A virus isolated from a pig in China

Yixiang Chen<sup>1</sup>, Xueqiong Meng<sup>2</sup>, Qi Liu<sup>1\*</sup>, Xia Huang<sup>3</sup>, Shengbin Huang<sup>1</sup>,  
Cuiquan Liu<sup>1</sup>, Kaichuang Shi<sup>1</sup>, Jiangang Guo<sup>1</sup>, Fangfang Chen<sup>1</sup>, Liping Hu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Guangxi Center for Animal Disease Control and Prevention, Nanning 530001, China)

<sup>2</sup>Collage of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530005, China)

<sup>3</sup>Guangxi Animal Hygienic Supervision Institute, Nanning 530001, China)

**Abstract:** [Objective] Our aim in this study was to determine the genetic characterization and probable origin of the H1N2 swine influenza virus (A/Swine/Guangxi/13/2006) (Sw/GX/13/06) from lung tissue of a pig in Guangxi province, China. [Methods] Eight genes of Sw/GX/13/06 were cloned and genetically analyzed. [Results] The hemagglutinin (HA), nucleoprotein (NP), matrix (M) and non-structural (NS) genes of Sw/GX/13/06 were most closely related to genes from the classical swine H1N1 influenza virus lineage. The neuraminidase (NA) and PB1 genes were most closely related to the corresponding genes from the human influenza H3N2 virus lineage. The remaining two genes PA and PB2 polymerase genes were most closely related to the genes from avian influenza virus lineage. [Conclusion] Phylogenetic analyses revealed that Sw/GX/13/06 was a human/swine/avian H1N2 virus, and closely related to H1N2 viruses isolated from pigs in United States (1999–2001) and Korea (2002). To our knowledge, Sw/GX/13/06 was the first triple-reassortant H1N2 influenza A virus isolated from a pig in China. Whether the Sw/GX/13/06 has a potential threat to breeding farm and human health remains to be further investigated.

**Keywords:** Swine influenza virus; H1N2 subtype; triple-reassortant; phylogenetic analyses

\*Corresponding author. Tel: +86-771-3122592; E-mail: q.g.x.liu@hotmail.com

Received: 23 August 2007/ Revised: 28 December 2007

### 《微生物学报》真诚欢迎刊登广告

《微生物学报》(月刊)创刊于 1953 年,由中国微生物学会和中国科学院微生物研究所主办,是我国微生物领域唯一的综合性学报级期刊和国家自然科学基金核心期刊,被国内外多家重要的文摘刊物和数据库收录。曾多次被评为优秀科技期刊。

本刊历史悠久,发行量大,内容涵盖面广,主要报道普通微生物学,工业、农业、医学和兽医微生物学,免疫学以及与微生物学有关的生物工程等方面的研究成果和科研进展。一直受到国内外科研工作者、高等院校师生和相关企业界的欢迎。

本刊提供广告服务,分为彩色图版、黑白图版及彩样装订 3 种形式,刊登与微生物学相关的试剂、仪器、设备及生物技术等方面的产品信息,为您开拓在微生物学领域新的发展空间。本刊态度严谨,信守协议,已与众多生物技术公司建立了长期的合作关系。

需刊登广告的客户,可以能通过电话、email 与我们联系获取具体版位及报价,双方经协商确定版位后将签署正式的广告刊登合同。欲了解更多信息,欢迎登录本刊网站 <http://journals.im.ac.cn>, 进入《微生物学报》查看广告服务专区。

联系人: 武文、王闵; 电话: 010-64807336, 010-64807521; 传真: 010-64807327; E-mail: gg@im.ac.cn