

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00622

2009年新型甲型H1N1流感病毒基质蛋白及核蛋白基因进化分析

韩一芳, 谢佳新, 殷建华, 李淑华, 张宏伟, 韩磊, 鹿文英, 曹广文*

第二军医大学基础部流行病学教研室, 上海 200433

[摘要] **目的:**探讨2009年新型甲型流感病毒(A/H1N1)基质蛋白(M)及核蛋白(NP)基因的进化规律。**方法:**从NCBI数据库下载147条甲型H1N1流感病毒M基因及NP基因序列,采用Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 4.0(MEGA4.0)软件对M基因和NP基因序列进行比对,并用NJ法构建进化树,同时采用Epi Info软件分析1918~2009年人H1N1病毒的M基因和NP基因序列进化距离的线性趋势。采用MEGA4.0软件对M2蛋白氨基酸序列进行比对。**结果:**不同地区的2009年新型甲型H1N1流感病毒M基因、NP基因同源性高,但与历史上流行的H1N1流感病毒M基因、NP基因差异较大,且M基因进化距离随分离年限变化的趋势性检验结果有统计学意义($P_{\text{trend}}=0.001$)。2009年新型甲型A/H1N1流感病毒M2蛋白与1918~2008年人A/H1N1病毒M2蛋白氨基酸序列进行比对,结果显示在第11、43、54、57、77、78氨基酸位点发生了改变;与猪、禽A/H1N1的M2蛋白氨基酸序列进行比对,结果显示仅在第43、77位氨基酸位点发生改变。**结论:**2009年新型甲型A/H1N1流感病毒NP基因片段较以往流行的人H1N1流感病毒NP基因发生了改变;M2蛋白位于胞外编码区的第11位氨基酸、位于TM结构域的第43位氨基酸突变可能导致了新型甲型A/H1N1流感病毒对金刚烷胺类特异性抗病毒药物产生耐药。

[关键词] H1N1甲型流感病毒;M基因;NP基因;进化

[中图分类号] R 373.13 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)06-0622-06

Molecular evolutionary analysis of matrix protein and nucleoprotein genes of novel influenza virus A/H1N1 in 2009 pandemic

HAN Yi-fang, XIE Jia-xin, YIN Jian-hua, LI Shu-hua, ZHANG Hong-wei, HAN Lei, LU Wen-ying, CAO Guang-wen*

Department of Epidemiology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[ABSTRACT] **Objective:** To analyze evolutionary characteristics of the matrix protein (M) and nucleoprotein (NP) genes of influenza virus A/H1N1 in 2009 pandemic. **Methods:** The M and NP genes of A/H1N1 viruses were downloaded from NCBI database. MEGA4.0 software and NJ method were used for sequence alignment, protein sequence alignment, and the phylogenetic tree construction. Meanwhile, Epi Info software was used to analyze the linear trend of evolutionary distance of the M and NP genes of human H1N1 strains isolated during 1918 to 2009. **Results:** The M and NP gene sequences were similar among the novel A/H1N1 viruses, but different from those of the previous influenza H1N1 viruses. Using reference sequences of human H1N1 strains isolated during 1918 to 2008, we found that changes in evolutionary distances of the M genes between novel A/H1N1 strains and each of the reference A/H1N1 strains increased with increasing year intervals ($P_{\text{trend}}=0.001$). Compared with the amino acid sequence of M2 protein of reference human A/H1N1 virus strains isolated during 1918 to 2008, the novel A/H1N1 viruses had the amino acid substitutions at 6 sites: 11, 43, 54, 57, 77, and 78. Compared with swine and avian A/H1N1, the novel A/H1N1 virus only had the amino acid substitutions at 43 and 77. **Conclusion:** The NP gene of novel A/H1N1 virus, which is routinely considered as a conserved sequence, is different from those of the previously isolated human H1N1 influenza viruses; the related mechanisms and consequences on viral activity remain to be elucidated. The substitution to threonine at 11 and 43 amino acids of M2 protein might contribute to amantadine resistance of the novel H1N1 virus pandemic in 2009.

[KEY WORDS] H1N1 subtype influenza A virus; M gene; NP gene; evolution

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(6): 622-627]

甲型流感病毒(A/H1N1)导致的大流行几乎每一次都会造成世界范围内大约50万~100万人死亡,

[收稿日期] 2009-05-21 **[接受日期]** 2009-05-26

[基金项目] 军队“十一五”科技攻关计划(06G65),上海市自然科学基金(07ZR14141),上海市公共卫生“三年行动计划”重点学科项目(08GWZX0201,08GWZX0101)。Supported by Key Research Project of Military “11th 5-year Plan” of China(06G65), Natural Science Foundation of Shanghai (07ZR14141) and the “Three-year G & D Program” on Shanghai Public Health Affairs (08GWZX0201,08GWZX0101)。

[作者简介] 韩一芳, 硕士生。E-mail: hanyifang@yahoo.cn

* 通讯作者(Corresponding author)。Tel: 021-81871060, E-mail: gcao@smmu.edu.cn

并给社会带来巨大的经济负担^[1]。近期流行的 A/H1N1 流感疫情更是引起全世界的恐慌和关注,截至 2009 年 5 月 29 日,已有 53 个国家和地区正式报告 15 510 例甲型 H1N1 流感病例,其中 99 例死亡。此次流感疫情已被确认是由 1 种以前在猪或人身上都没有被发现过的新型 A/H1N1 亚型流感病毒引起的^[2],与猪流感病毒相似,但是进一步检测发现该病毒包含禽流感、猪流感和人流感 3 种流感病毒的 RNA 片段。

甲型流感病毒为负链 RNA 病毒,其基因组由 8 个单独的单链 RNA 片段组成。其中核蛋白(NP)由第 5 基因片段的 NP 基因编码,为单体磷酸化蛋白,与 3 种 RNA 多聚酶成分一起形成核糖核蛋白体(RNP),RNP 与病毒的 RNA 片段形成病毒的核衣壳,而 NP 是与 RNA 结合的主要成分^[3]。基质蛋白 M1 和 M2 由第 7 基因片段的 M 基因编码。M1 是病毒颗粒中含量最丰富的蛋白质,位于双层类脂膜内面,具有稳定和强化胞膜结构的功能。M2 是近年来被证实的病毒的第 3 种膜蛋白,具有离子通道作用,M2 蛋白功能的改变或丧失会直接影响病毒复制过程^[4],其第 26~43 位氨基酸多肽是金刚烷胺类抗流感病毒药物的作用靶位,氨基酸极小的变异都可能导致流感病毒产生抗药性。

本研究通过 NCBI 数据库下载 147 条 A/H1N1 病毒 M 及 NP 基因序列,进行序列比对,构建进化树。对病毒的两个内部基因 NP 和 M 进行进化规律分析,同时对 M2 蛋白的氨基酸序列进行比对,旨在进一步了解该病毒的来源、遗传变异及其分子进化特征,为临床治疗药物应用、疫苗研制及流感预防及控制措施的制定提供依据。

1 资料和方法

1.1 资料 以 1918~2008 年 130 条流感病毒 M 与 NP 基因序列作为参考(FLU/Database/select.cgi),包括人(A/H1N1) 101 条(AI130766、L25814、AF389121、CY009325、CY020446、CY013272、CY009277、CY009453、CY021710、CY009597、CY009613、CY019948、CY019972、CY009333、CY022022、CY021054、CY008989、CY026140、DQ508900、CY020294、CY021718、CY019740、CY010909、CY021030、CY021038、CY020438、AJ298947、CY012889、CY021726、DQ508876、CY019780、CY024926、CY036824、CY009317、U53169、CY010485、CY013846、AF258522、AF342818、CY031337、CY009829、DQ986133、CY003473、AB285946、CY002625、CY007468、AB433831、DQ889688、EU249166、CY025310、FJ265002、CY040235、FJ265000、

CY037338、CY016694、CY035129、CY025926、CY006678、CY003707、EU097854、EU097856、CY017126、CY020264、CY016231、CY036826、AF258517、CY010527、DQ508874、CY019774、AJ628066、CY021728、CY020184、CY021031、CY010367、CY019974、D00601、CY020576、CY010879、CY019950、CY021904、CY008991、CY009343、M63751、M76605、CY021912、CY009455、CY021712、CY009279、M63750、M63749、CY009599、M30746、CY009327、CY020448、AF389119、CY019958、Z54290、AY744935、M63755、L24394、AF342819),猪(A/H1N1) 12 条(CY038018、AJ316056、DQ186974、CY037901、AJ316059、DQ290204、EU604695、FJ638307、EU604694、AF222778、EU004451、AY619958),禽(A/H1N1) 14 条(U49119、CY014628、AB428685、AM157387、FJ432755、CY004547、CY039750、CY005428、CY005430、CY039748、EU980511、CY004506、CY004541、AY619958),禽(A/H5N1) 3 条(DQ321000、FJ784881、DQ997521);同时选择 17 条 2009 年新型甲型 A/H1N1 流感病毒序列(FJ998212、GQ162178、FJ985755、GQ166660、FJ982432、GQ150334、CY040032、GQ131025、GQ150331、FJ966953、GQ150329、GQ132160、FJ985756、GQ132161、CY039987、GQ131024、FJ985805)。

1.2 方法 采用 Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 4.0(MEGA4.0)软件进行基因序列比对,M 基因序列全长 1 027 bp, NP 基因全长 1 565 bp,通过 NJ 法构建进化树(Bootstrap = 1 000),对 M1、M2 蛋白氨基酸序列进行比对。同时以 2009 年新型甲型 H1N1 流行病毒株作参照,通过 MEGA4.0 软件分析 1918~2008 年人 H1N1 序列进化距离,使用 Epi Info 软件(version 3.3.2; <http://www.cdc.gov/epiinfo/epiinfo.htm>)分析 1918~2008 年的人 A/H1N1 序列进化距离的线性趋势。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 新型甲型 A/H1N1 病毒株间的序列同源性分析 比较全球不同地区 2009 年新型甲型 A/H1N1 病毒株间序列同源性,结果显示 M 基因同源性达 99.6%~100.0%, NP 基因同源性达 98.2%~100%。结果表明 2009 年 3 月以来在墨西哥、美国等国家或地区爆发的新型甲型 A/H1N1 流感病毒来自于同一个感染源,病毒突变率较低。

2.2 新型甲型 A/H1N1 病毒 M 基因和 NP 基因进化分析 M 基因(图 1)和 NP 基因(图 2)的系统进化树显示其均可以分成 2 大分支,新型甲型 A/

H1N1 病毒与历史上流行的人 H1N1 流感病毒差异较大,单独构成一支,提示该病毒株为新型变异病毒。同时,M 基因与历史上流行的人 A/H1N1 流感病毒 M 基因同源性较远,仅与 1976、1988、1994、1998、2005 年美国流行的人 A/H1N1 流感病毒 M 基因同源性相近;NP 基因进化分析结果显示其与 1988、1991、1998 年美国流行的人 A/H1N1 流感病毒较为相近。1918~2008 年人(A/H1N1)M 基因和 NP 基因与新型病毒株的进化距离比较(表 1),随着时间的推移,M 基因进化距离趋势性检验结果有统计学意义($P_{trend}=0.001$),而 NP 基因的进化距离趋势性检验无统计学意义($P=0.995$)。

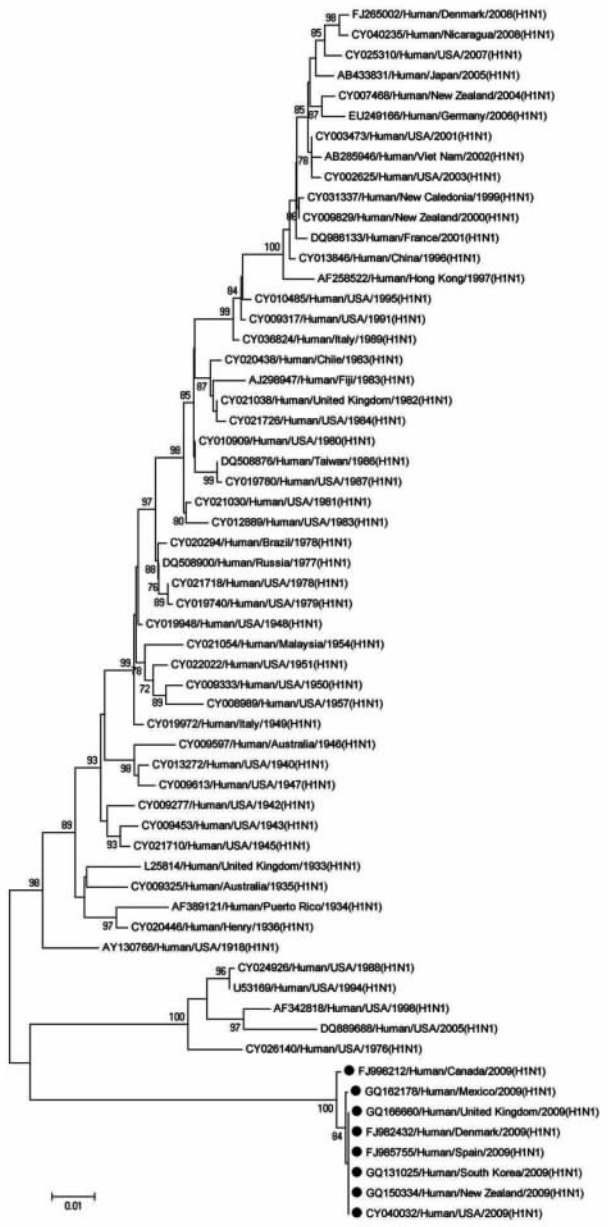


图 1 不同年代人甲型 H1N1 亚型流感病毒 M 基因进化树
Fig 1 Phylogenetic analysis of M gene of human A/H1N1 strains
●: M genes of novel A/H1N1 strains in 2009 pandemic

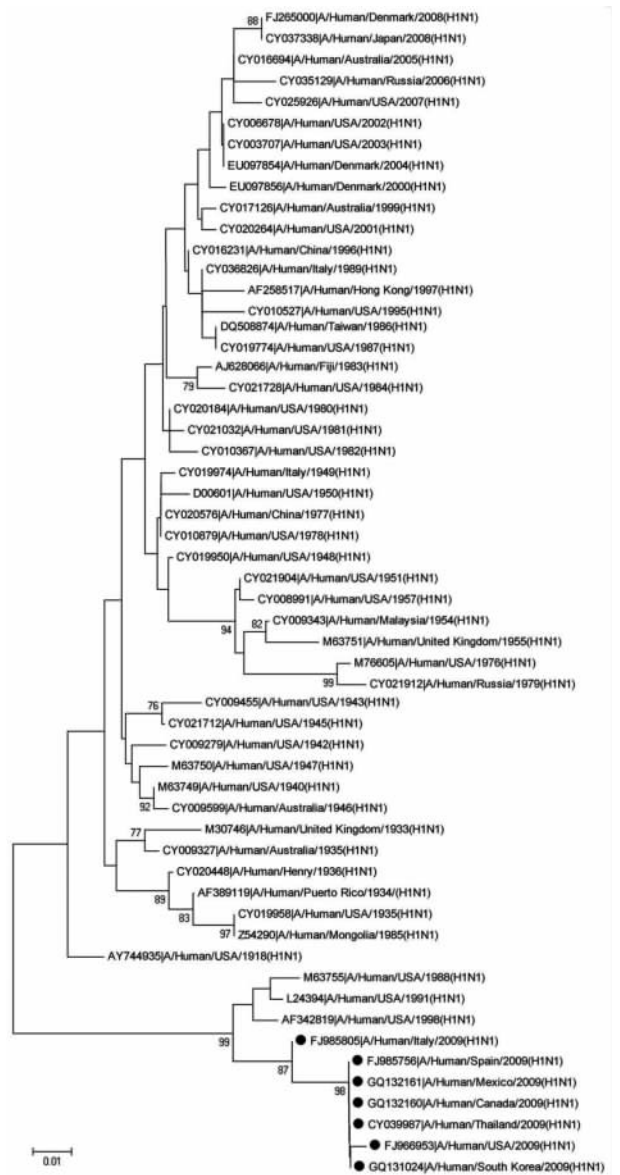


图 2 不同年代人甲型 H1N1 亚型流感病毒 NP 基因进化树
Fig 2 Phylogenetic analysis of NP genes of human A/H1N1 strains
●: NP genes of novel A/H1N1 strains in 2009 pandemic

在不同宿主间,构建人、猪和禽 A/H1N1 M 基因(图 3)和 NP 基因(图 4)的系统进化树,结果显示 2009 年新型甲型 A/H1N1 病毒 M 基因与 1979~1999 年流行的猪流感 A/H1N1 亲缘关系更接近,而与 2000 年之后流行的猪流感 A/H1N1 亲缘关系较远;NP 基因则与 2005~2007 年在美国流行的猪流感 A/H1N1 亲缘关系最接近。另外通过种间比较 M 基因与 1979~1999 年在欧洲(法国、意大利、比利时、德国)流行的 A/H1N1 流感病毒 M 基因同源性接近,NP 基因与 1998、2005、2007 年美国流行的猪 A/H1N1 流感病毒同源性更为接近。

表 1 人 H1N1 流感病毒分离株 M 基因和 NP 基因与新流行株的进化距离

Tab 1 Evolutionary distances of M and NP genes of human H1N1 influenza isolates and novel H1N1 strains

Year of isolation	Evolutionary distances	
	M gene	NP gene
1918-	0.096	0.103
1930-	0.111	0.129
1940-	0.117	0.140
1950-	0.123	0.155
1970-	0.121	0.151
1980-	0.128	0.127
1990	0.132	0.104
2000-2008	0.141	0.127
P_{trend} value	0.001	0.995

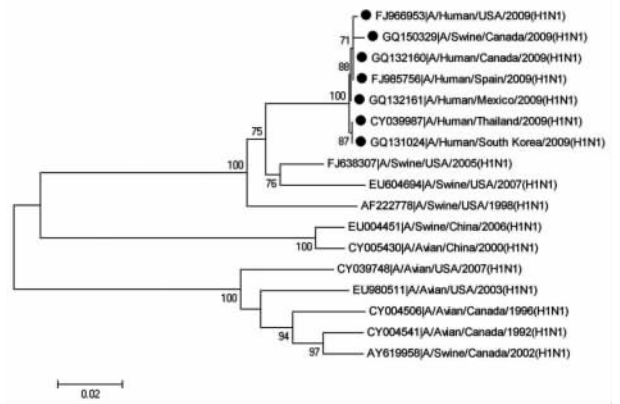


图 4 甲型 H1N1 流感病毒 NP 基因不同种间进化树
Fig 4 Phylogenetic analysis of NP genes from type A/H1N1 influenza viruses of different species

●: NP genes of novel A/H1N1 strains in 2009 pandemic

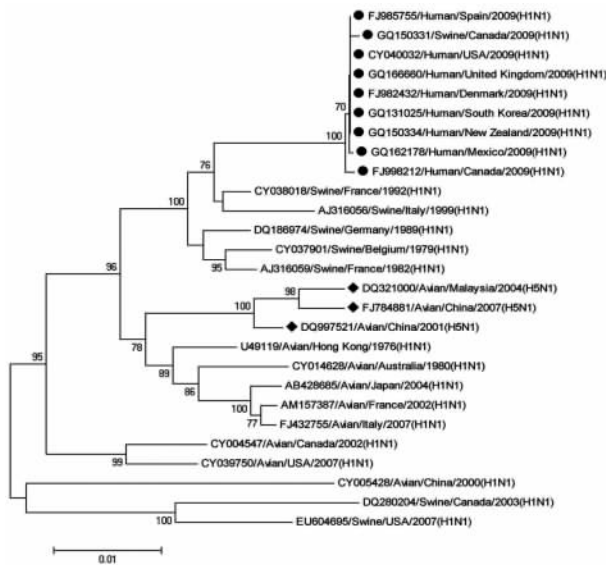


图 3 甲型 H1N1 流感病毒 M 基因不同种间进化树
Fig 3 Phylogenetic analysis of M genes of A/H1N1 influenza viruses of different species

●: M genes of novel A/H1N1 strains in 2009 pandemic; ◆: M genes of A/H5N1 strains

2.3 新型甲型 H1N1 流感病毒 M2 蛋白氨基酸序列变异分析 将 2009 年新型 A/H1N1 流感病毒 M2 蛋白与 1918~2008 年人(A/H1N1)M2 蛋白氨基酸序列进行比对,结果显示在第 11、43、54、57、77 和 78 氨基酸位点发生突变;与猪、禽 A/H1N1 的 M2 蛋白氨基酸序列进行比对,结果显示仅在第 43 和 77 位两个氨基酸位点发生明显突变(表 2)。

3 讨论

A 型流感病毒的 8 条负链 RNA 共编码 10 个多肽,分别为血凝素(HA)、神经氨酸酶(NA)、核蛋白(NP)、RNA 多聚酶复合物 PB1、PB2、PA 以及基质

蛋白 M1、M2 和非结构蛋白 NS1、NS2。虽然流感病毒亚型众多,但其 NP 相对保守,具有型和种属的特异性,是流感病毒型的分类和诊断的基础,也是研究病毒免疫学反应及研制疫苗的重要对象^[5]。本研究结果显示 2009 年新型甲型 H1N1 病毒 NP 基因与历史上流行的大部分人 A/H1N1 流感病毒 NP 基因差异较大,仅与 1988、1991、1998 年在美国流行的人 A/H1N1 流感病毒同源性较接近。这提示编码核蛋白的基因片段较以往流行的人 A/H1N1 流感病毒相比发生了明显改变;但 NP 基因进化距离随时间的推移并未呈现出具有统计学意义的线性变化趋势($P_{trend} > 0.05$),提示 NP 基因在进化上比较保守,其具体机制及作用有待进一步研究证实。

M 基因编码蛋白中的 M2 蛋白是 A 型流感病毒所特有的一种结构保守的非糖基化跨膜蛋白,M2 蛋白 C 末端的 54 个氨基酸位于胞膜内,N 末端 24 个氨基酸残基暴露在胞膜外,中间第 26~43 位氨基酸共 19 个疏水性氨基酸残基跨过脂质双分子层,组成跨膜区(transmembrane domain, TM 结构域)。10 个编码蛋白中 M2 与 HA、NA 同为病毒的 3 种膜蛋白,它们均能诱导机体产生抗体,因此都是甲型流感病毒的保护性抗原^[6]。但是,HA 和 NA 经常发生抗原转变和抗原漂移,使二者抗原性表现出很大的变异。而 M2 蛋白的膜外区氨基酸序列(第 1~25 位)高度保守,且 M2 蛋白的抗血清有抑制流感病毒复制的功能,有可能发展成为具有交叉保护能力流感疫苗的候选抗原。本研究将新型病毒与 1918~2008 年人(A/H1N1)病毒 M2 蛋白氨基酸序列进行

比对,结果显示 M2 蛋白位于胞外编码区的第 11 位氨基酸位点由异亮氨酸(isoleucine)突变为苏氨酸(threonine),提示在疫苗研制过程中应注意 M2 蛋白胞外区氨基酸突变所导致的抗原性改变。同时,

本研究结果亦证实此次流行的新型 A/H1N1 病毒的 M 基因与以前流行的 A/H1N1 流感病毒 M 基因差异较大,其进化距离随时间推移呈线性变化趋势 ($P_{trend}=0.001$)。

表 2 各种群甲型 H1N1 流感病毒 M2 蛋白氨基酸序列的变异分析

Tab 2 Amino acid substitutions of the deduced M2 proteins from H1N1 influenza viruses of different species

Virus strains	Amino acid position					
	11	43	54	57	77	78
Novel H1N1 influenza virus						
FJ998212(2009/Canada)	T	T	R	Y	Q	Q
GQ162178(2009/Mexico)	T	T	R	Y	Q	Q
FJ985755(2009/Spain)	T	T	R	Y	Q	Q
GQ166660(2009/UK)	T	T	R	Y	Q	Q
FJ982432(2009/Denmark)	T	T	R	Y	Q	Q
GQ150334(2009/New Zealand)	T	T	R	Y	Q	Q
CY040032(2009/USA)	T	T	R	Y	Q	Q
GQ131025(2009/South Korea)	T	T	R	Y	Q	Q
Human A/H1N1 references						
AY130766(1918/USA)	T	L	R	Y	R	K
L25814(1933/UK)	I	L	R	Y	R	K
CY009453(1943/USA)	I	L	L	H	R	K
CY019948(1948/USA)	I	L	L	H	R	K
CY008989(1957/USA)	I	L	F	H	R	K
CY026140(1976/USA)	I	L	R	Y	R	Q
CY021038(1982/UK)	I	L	L	H	R	E
CY019780(1987/USA)	I	L	L	H	R	E
CY009317(1991/USA)	I	I	I	H	R	E
CY009829(2000/New Zealand)	I	I	I	H	R	E
AB285946(2002/Viet Nam)	I	I	I	H	R	E
CY002625(2003/USA)	I	I	I	H	R	E
CY007468(2004/New Zealand)	I	I	I	H	R	E
DQ889688(2005/USA)	T	L	H	Y	R	Q
EU249166(2006/Germany)	I	I	I	H	R	E
FJ265002(2008/Nicaragua)	I	I	I	H	R	E
Avian A/H1N1 references						
U49119(1976/Hong Kong)	T	L	R	Y	R	Q
CY014628(1980/Australia)	T	L	R	Y	R	Q
CY005428(2000/China)	I	I	I	H	R	E
CY039750(2007/USA)	T	L	R	Y	R	Q
Swine A/H1N1 references						
CY037901(1979/Belgium)	T	L	R	Y	R	Q
DQ186974(1989/Germany)	T	L	R	Y	Q	Q
AJ316056(1999/Italy)	T	L	R	Y	Q	Q
EU604695(2007/USA)	I	F	R	Y	R	Q

E: Glutamic acid; F: Phenylalanine; H: Histidine; I: Isoleucine; K: Lysine; L: Leucine; Q: Glutamine; R: Arginine; T: Threonine; Y: Tyrosine

金刚烷胺(amantadine)和金刚乙胺(rimantadine)是应用广泛的一类抗甲型流感病毒药物,只具有抗流感A型病毒的活性,而对B型无效,其机制是通过作用于M2蛋白的TM结构域而阻断其离子通道作用来抑制病毒的复制^[7]。临床实验研究发现流感病毒对抗病毒药物所形成的耐药株与敏感株的唯一区别是在M2蛋白的疏水区,耐药株常有一至数个氨基酸残基的突变^[7]。另有研究^[8]显示,金刚烷胺抗性和金刚乙胺抗性H3N2株流感病毒的发生率在过去10年增长惊人。由于M基因的点突变引起M2蛋白跨膜区的氨基酸发生改变,导致产生高水平的耐药性。耐药性的遗传基础是M2离子通道跨膜区的第26、27、30、31、34位的氨基酸发生了突变,突变体的毒力和传染性与野生型病毒株相同。本研究通过将新型病毒与1918~2008年人(A/H1N1)M2蛋白氨基酸序列进行比对,并未发现上述在H3N2中出现的突变,但研究结果显示M2蛋白在第11、43、54、57、77、78位氨基酸位点发生了改变,而与猪、禽流感病毒相比,仅在第43、77位氨基酸位点发生了改变。其中位于金刚烷胺作用区TM结构域的第43位氨基酸不同于以往人、猪、禽流感病毒的该位点,突变为苏氨酸。我们推测可能是由于新型A/H1N1病毒M2蛋白第43位氨基酸发生突变,使金刚烷胺类药物无法阻断其离子通道作用,不能阻断病毒复制,从而导致病毒出现耐药现象。但这还需要相关研究进一步证实。

2009年新型甲型H1N1病毒是一种之前从未在人和猪身上出现过、为不同病毒相遇后交换基因变异形成的新型混种病毒。本研究组已证实该病毒血凝素(H)基因与猪流感(H1)相似,神经氨酸酶(N)大部分与禽流感(N1)相似^[9-10]。由于基因重配,该流行毒株与人群目前免疫状态完全不同,解决这一问题的理想方法是开发对其有保护作用的流感疫苗,同时掌握临床用于治疗的有效药物。尽管新型A/H1N1流感病毒对于针对M2离子通道的金刚烷胺类特异性抗病毒药物已产生耐药性,但M基因在疫苗研发方面仍具备进一步研究的价值。

[参考文献]

- [1] Nelson M I, Viboud C, Simonsen L, Bennett R T, Griesemer S B, St George K, et al. Multiple reassortment events in the evolutionary history of H1N1 influenza A virus since 1918[J]. *PLoS Pathog*, 2008, 4: e1000012.
- [2] Cohen J, Enserink M. Infectious diseases. As swine flu circles globe, scientists grapple with basic questions[J]. *Science*, 2009, 324: 572-573.
- [3] Li O T, Chan M C, Leung C S, Chan R W, Guan Y, Nicholls J M, et al. Full factorial analysis of Mammalian and avian influenza polymerase subunits suggests a role of an efficient polymerase for virus adaptation[J]. *PLoS ONE*, 2009, 4: e5658.
- [4] Higgins R R, Eshaghi A, Burton L, Mazzulli T, Drews S J. Differential patterns of amantadine-resistance in influenza A (H3N2) and (H1N1) isolates in Toronto, Canada[J]. *J Clin Virol*, 2009, 44: 91-93.
- [5] Voeten J T, Groen J, van Alphen D, Claas E C, de Groot R, Osterhaus A D, et al. Use of recombinant nucleoproteins in enzyme-linked immunosorbent assays for detection of virus-specific immunoglobulin A (IgA) and IgG antibodies in influenza virus A- or B-infected patients[J]. *Clin Microbiol*, 1998, 36: 3527-3531.
- [6] Khurana S, Suguitan A L Jr, Rivera Y, Simmons C P, Lanzavecchia A, Sallusto F, et al. Antigenic fingerprinting of H5N1 avian influenza using convalescent sera and monoclonal antibodies reveals potential vaccine and diagnostic targets[J]. *PLoS Med*, 2009, 6: e1000049.
- [7] Monto A S. The role of antivirals in the control of influenza[J]. *Vaccine*, 2003, 21: 1796-1800.
- [8] Jefferson T, Demicheli V, Rivetti D, Jones M, Di Pietrantonj C, Rivetti A. Antivirals for influenza in healthy adults: systematic review[J]. *Lancet*, 2006, 367: 303-313.
- [9] 谢佳新, 殷建华, 李淑华, 鹿文英, 韩一芳, 韩磊, 等. 2009年新型甲型H1N1流感病毒血凝素基因进化分析[J]. *第二军医大学学报*, 2009, 30: 613-617.
Xie J X, Yin J H, Li S H, Lu W Y, Han Y F, Han L, et al. Evolution analysis of hemagglutinin gene of novel influenza virus A/H1N1 in 2009 pandemic[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2009, 30: 613-617.
- [10] 苏彤, 李淑华, 常文军, 刘世建, 鹿文英, 韩一芳, 等. 2009年新型甲型H1N1流感病毒神经氨酸酶基因进化分析[J]. *第二军医大学学报*, 2009, 30: 618-621.
Su T, Li S H, Chang W J, Liu S J, Lu W Y, Han Y F, et al. Genetic characterization of neuraminidase gene of novel influenza virus A/H1N1 in 2009 pandemic[J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2009, 30: 618-621.

[本文编辑] 孙岩