



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년10월08일
(11) 등록번호 10-1187955
(24) 등록일자 2012년09월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 39/12 (2006.01) C12N 7/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2005-7020308

(22) 출원일자(국제) 2004년04월23일

심사청구일자 2009년04월23일

(85) 번역문제출일자 2005년10월25일

(65) 공개번호 10-2006-0022234

(43) 공개일자 2006년03월09일

(86) 국제출원번호 PCT/US2004/012723

(87) 국제공개번호 WO 2005/027825

국제공개일자 2005년03월31일

(30) 우선권주장

60/466,181 2003년04월25일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

Journal of Virology, Vol.75. No.10,
p4594-p4603 (2001)*

Emerging Infectious Diseases, Vol. 9, No.3,
p372-p375 (2003.03)*

Virus Research, Vol. 93, p51-p62
(2003.04.03)*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

비로노바티브 비브이

네덜란드 엔엘-3000 디알 로테르담 피.오. 박스
1738

메디문 엘엘씨

미국 20878 메릴랜드주 게이테르스부르크 원 메디
문 웨이

(72) 발명자

포우치에르, 로날두스, 아드리아누스, 마리아

네덜란드 엔엘-3021 에이알 로테르담 에센부르크
신겔 44에이

반 덴 후겐, 베르나데타, 게라르다

네덜란드 엔엘-3021 에이알 로테르담 에센부르크
신겔 44에이

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김영, 장수길

전체 청구항 수 : 총 17 항

심사관 : 이수정

(54) 발명의 명칭 메타뉴모바이러스 유래 이중 항원을 포함하는 재조합파라인플루엔자 바이러스 발현 시스템 및 백신

(57) 요약

본 발명은 적절한 숙주 세포계에서 이중 유전자 생성물을 발현하는데 사용될 수 있고(있거나) 상기 이중 유전자 생성물을 발현하고, 패키징하고(하거나) 제공하는 네가티브 가닥 RNA 재조합 바이러스를 복구하는데 사용될 수 있는 재조합 소 파라인플루엔자 바이러스 (bPIV) cDNA 또는 RNA에 관한 것이다. 특히, 상기 이중 유전자 생성물에는 PIV 또는 또다른 네가티브 가닥 RNA 바이러스 (예를 들어 인플루엔자 바이러스, 호흡기 신시티아 바이러스, 인간 메타뉴모바이러스 및 조류의 뉴모바이러스가 있으나, 이로 한정되지 않음)로부터의 또다른 종의 유전자 생성물이 포함된다. 키메라 바이러스 및 발현 산물은 유리하게는 광범위한 병원균 및 항원에 대한 백신을 비롯한 백신 제제에 사용될 수 있다.

대표도 - 도1

```

인간 1 MSKVVVLIPLITPQWGLKSEVLESSTITETGYSVLRTGHTTNTVTLSEVGVENLTC 60
MSKVVV++ LL TP GL+ESVLESST+T GYSVLRTGHTTNTVTLSEVGVENLTC
종류 1 MSKVVVLLVLLATPTGGLSEVLESSTVTRGYSVLRTGHTTNTVTLSEVGVENLTC 60

인간 61 ADGPSLIIRTELDTKSAIRLELVTSADQLAREQIENPRQSFVLGAIALGVATAAATA 120
DGPSTLI+TEL+LTK+AL EL+TV AQLA+E +I +PR++RFLGAIALGVAT AATA
종류 61 TDGPSLIIRTELDTKSAIRLELVTSADQLAREQIENPRQSFVLGAIALGVATAAATA 120

인간 121 GVAIAKTIRESSEVTAIKNAKKTNEAVSTLNGSVRLATAVRELDFVSENLTAJNKN 180
GVAIAKTIRES EV Ai+ AL+ INEAVSTLNGSVRLATAV +LNDFF+SK LT AJNKN
종류 121 GVAIAKTIRESSEVTAIRGALRKTNEAVSTLNGSVRLATAVNDLDFISKK/TAJNKN 180

인간 181 KCDIADLDMAVSFQPNRRFLNVVRCFBNAGITPAISLDLMDARAVSNMPPBSAQ 240
KCDI+DLDMAVSF Q+NRRLFLNVVRCFBNAGITPAISLDLMDARL RAVSNMPPS+GQ
종류 181 KCDISELDGAVSFQPNRRFLNVVRCFBNAGITPAISLDLMDARAVSNMPPBSAQ 240

인간 241 IKMLLENRANVRKRGDFGLGVGSSSVLYMQLPIGVIDTFQWIVKAASCSCKKNYA 300
T LMLLENRANVRKRGDF GLGVG SV+MYQLPIGVIDTFQW VRAAP CSKK G+TA.
종류 241 INLMLLENRANVRKRGDFGLGVGSSSVLYMQLPIGVIDTFQWIVKAELCSCKDSFTA 300

인간 301 CLREDDQGWYQCNAGSTVYYTNE+DC R DRVFCDYAGINVA++S+KCN NISTT SP 360
C LREDDQGWYQCNAGSTVYYTNE+DC R DRVFCDYAGINVA++S+KCN NISTT SP
종류 301 CLREDDQGWYQCNAGSTVYYTNE+DCVRSRHFCDYAGINVAKSEECNRNISTTKYP 360

인간 361 CKVSTGRHPIEMVALSPLGALVACYGVSCSTGNSVGLIKLKECSITINQDADTVII 420
CKVSTGRHPIEMVALSPLGALVACY GVSCTGNS+VGLI+ L KICSVI+NQDADTVII
종류 361 CKVSTGRHPIEMVALSPLGALVACYGVSCSTGNSVGLIKLKECSITINQDADTVII 420

인간 421 DNTVYQLSKVEGEHQVIGKRPVSSSDFVKEFBDQFNVALDQVFSINSGALNDQNRV 480
DNTVYQLSKVEGEHQV IEG+PVSS+FD++PFBDQFN+ALDQVFS+R S+ L+DQSN+I
종류 421 DNTVYQLSKVEGEHQVIGKRPVSSSDFVKEFBDQFN+ALDQVFSINSGALNDQNRV 480

인간 481 LSSAEKNTGFIIVILALVGLSTMLVSVFIILKKTRPTGAPPELGGVTN 532
L S EKN GF+IVI LL +L +V +F ++KK K 'p E++GV N
종류 481 IDSTERGAGFIVIALIVLMLAAVGVIFVFFVKKRKAAPKPFMRMGVTN 532

```

(72) 발명자

**오스테르하우스, 알베르투스, 도미니쿠스, 마르셀
리누스, 에라스무스**

네덜란드 엔엘-3981 씨에이치 분니크 디알. 브레비
스트라트 16

할러, 아우렐리아

미국 80301 콜로라도주 보울더 콘코드 드라이브
7661

탕, 로더리크

미국 94403 캘리포니아주 산 마테오 알라메다 데
라스 폴가스 #371919

(30) 우선권주장

60/499,274 2003년08월28일 미국(US)

60/550,931 2004년03월05일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

인간 메타뉴모바이러스의 F 또는 G 단백질인 인간 메타뉴모바이러스 폴리펩티드를 코딩하는 인간 메타뉴모바이러스 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 키메라 소 파라인플루엔자 바이러스/인간 파라인플루엔자 바이러스 제3형의 증식 방법으로서,

(i) 바이러스로 감염시키기 전에 제1 온도에서 세포를 배양하고;

(ii) 세포를 바이러스로 감염시키고;

(iii) 바이러스로 세포를 감염시킨 후 제2 온도에서 세포를 배양하는 것

을 포함하고,

상기 제1 온도는 세포 성장의 최적 온도이고, 상기 제2 온도는 상기 제1 온도보다 낮은 온도이고, 바이러스로 감염된 세포를 혈청의 부재 하에 배양하며,

상기 인간 메타뉴모바이러스 뉴클레오타이드 서열이

(i) 파라인플루엔자 바이러스 게놈의 뉴클레오타이드 104번 위치, 또는 전사될 바이러스 게놈의 제1 유전자의 위치;

(ii) 파라인플루엔자 바이러스 게놈의 뉴클레오타이드 1774번 위치, 또는 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제1 오픈 리딩 프레임과 제2 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 전사될 바이러스 게놈의 제2 유전자의 위치;

(iii) 파라인플루엔자 바이러스 게놈의 뉴클레오타이드 3724번 위치, 또는 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제2 오픈 리딩 프레임과 제3 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 전사될 바이러스 게놈의 제3 유전자의 위치;

(iv) 파라인플루엔자 바이러스 게놈의 뉴클레오타이드 5042번 위치, 또는 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제3 오픈 리딩 프레임과 제4 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 전사될 바이러스 게놈의 제4 유전자의 위치;

(v) 파라인플루엔자 바이러스 게놈의 뉴클레오타이드 6790번 위치, 또는 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제4 오픈 리딩 프레임과 제5 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 전사될 바이러스 게놈의 제5 유전자의 위치;

(vi) 파라인플루엔자 바이러스 게놈의 뉴클레오타이드 8631번 위치, 또는 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제5 오픈 리딩 프레임과 제6 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 전사될 바이러스 게놈의 제6 유전자의 위치

로부터 선택된 위치에 삽입된 것인,

키메라 소 파라인플루엔자 바이러스/인간 파라인플루엔자 바이러스 제3형 증식 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 인간 메타뉴모바이러스가 파라믹소비리대(Paramyxoviridae) 과의 뉴모비리내(Pneumovirinae) 아과에 속하는 네가티브-센스 단일 가닥 RNA 바이러스이고, 칠면조 비기관염 바이러스 (TRTV)에 비해 파리의 CNCM에 I-2614로서 기탁된 바이러스 단리체와 계통유전학적으로 더욱 밀접한 것인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 인간 메타뉴모바이러스 폴리펩티드가 서열 18, 서열 26, 서열 28, 서열 20, 서열 29, 서열 21 또는 서열 27인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 인간 메타뉴모바이러스 뉴클레오타이드 서열이 서열 22 내지 25, 서열 30 내지 33, 서열 98 내지 132, 및 서열 168 내지 247로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 방법.

청구항 5

제3항 또는 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

- (i) 바이러스로 감염시키기 전에 혈청의 존재 하에 세포를 배양하고;
- (ii) 세포를 바이러스로 감염시키고;
- (iii) 바이러스로 세포를 감염시킨 후 혈청의 부재 하에 세포를 배양하는 것을 포함하는 방법.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 세포 성장의 최적 온도보다 낮은 온도에서 혈청의 부재 하에 바이러스로 감염된 세포를 배양하는 것을 포함하는 방법.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 베로(Vero) 세포인 방법.

청구항 8

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 무혈청 배지에서 성장하도록 적응된 것인 방법.

청구항 9

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 온도가 36-38℃인 방법.

청구항 10

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 온도가 32-34℃인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 시딩 후 3일 또는 5일째에 바이러스로 감염된 것인 방법.

청구항 12

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 0.1, 0.01 또는 0.001의 감염다중도로 감염된 것인 방법.

청구항 13

인간 메타뉴모바이러스의 F 또는 G 단백질인 인간 메타뉴모바이러스 폴리펩티드를 코딩하는 인간 메타뉴모바이러스 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 상기 인간 메타뉴모바이러스 뉴클레오티드 서열이

- (i) 파라인플루엔자 바이러스 게놈의 뉴클레오티드 104번 위치, 또는 전사될 바이러스 게놈의 제1 유전자의 위치;
- (ii) 파라인플루엔자 바이러스 게놈의 뉴클레오티드 1774번 위치, 또는 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제1 오픈 리딩 프레임과 제2 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 전사될 바이러스 게놈의 제2 유전자의 위치;
- (iii) 파라인플루엔자 바이러스 게놈의 뉴클레오티드 3724번 위치, 또는 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제2 오픈 리딩 프레임과 제3 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 전사될 바이러스 게놈의 제3 유전자의 위치;
- (iv) 파라인플루엔자 바이러스 게놈의 뉴클레오티드 5042번 위치, 또는 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제3 오픈 리딩 프레임과 제4 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 전사될 바이러스 게놈의 제4 유전자의 위치;
- (v) 파라인플루엔자 바이러스 게놈의 뉴클레오티드 6790번 위치, 또는 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제4 오픈 리딩 프레임과 제5 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 전사될 바이러스 게놈의 제5 유전자의 위치;
- (vi) 파라인플루엔자 바이러스 게놈의 뉴클레오티드 8631번 위치, 또는 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제5 오픈 리딩 프레임과 제6 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 전사될 바이러스 게놈의 제6 유전자의 위치

로부터 선택된 위치에 삽입된 것인, 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 방법을 사용하여 제조된 키메라 소 파라인플루엔자 바이러스/인간 파라인플루엔자 바이러스 제3형, 및

제약상 허용되는 부형제

를 포함하는 백신 제제.

청구항 14

제13항에 있어서, 인간 메타뉴모바이러스 뉴클레오티드 서열이 파라인플루엔자 뉴클레오티드 서열을 치환하거나 파라인플루엔자 바이러스 게놈에 삽입된 것인 백신 제제.

청구항 15

제13항에 있어서, 키메라 소 파라인플루엔자 바이러스/인간 파라인플루엔자 바이러스 제3형이 RSV 뉴클레오티드 서열을 추가로 포함하는 백신 제제.

청구항 16

제13항에 있어서, 인간 메타뉴모바이러스 폴리펩티드가 서열 18, 26, 28, 20, 29, 21 또는 27인 백신 제제.

청구항 17

제13항에 있어서, 인간 메타뉴모바이러스 뉴클레오티드 서열이 서열 22-25, 서열 30-33, 서열 98-132, 및 서열 168-247로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 백신 제제.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

명세서

[0001] 본 출원은 2003년 4월 25일자로 출원된 미국 가출원 제60/466,181호, 2003년 8월 28일자로 출원된 미국 가출원 제60/499,274호, 및 2004년 3월 5일자로 출원된 미국 가출원 제60/550,931호를 우선권 주장하며, 상기 각 출원은 그 전문이 본원에 참고로 도입된다.

[0002] 1. 도입부

[0003] 본 발명은 적절한 숙주 세포 시스템에서 이중 유전자 생성물을 발현시키고(거나) 이중 유전자 생성물을 발현, 패키징(packaging) 및(또는) 제시하는 네가티브 가닥 RNA 재조합 바이러스를 생성하는데 사용될 수 있는 재조합 파라인플루엔자 바이러스 (PIV) cDNA 또는 RNA에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 바람직하게는 항원성 캡티드 또는 폴리캡티드인 이중 유전자 생성물을 발현하는 키메라 PIV를 포함하는 백신 제제를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 PIV 벡터는 동일하거나 상이한 바이러스에 의해 코딩될 수 있는 1종, 2종 또는 3종의 이중 유전자 생성물을 발현한다. 바람직한 실시양태에서, 이중 서열은 PIV의 또다른 종 또는 인플루엔자 바이러스, 호흡기 합포체 바이러스 (RSV), 포유동물 메타뉴모바이러스, 및 조류 뉴모바이러스를 포함하나 이에 제한되지 않는 또다른 네가티브 가닥 RNA 바이러스로부터의 항원성 폴리캡티드인 이중 유전자 생성물을 코딩한다. 본 발명의 백신 제제는 2가 및 3가 백신 제제를 비롯한 다가 백신을 포함한다. 본 발명의 다가 백신은 하나의 PIV 벡터가 각각의 이중 항원성 서열을 발현하거나 또는 2종 이상의 PIV 벡터 각각이 상이한 이중 항원성 서열을 코딩하는 형태로 투여될 수 있다. 본 발명의 백신 제제는 단독으로 투여될 수도 있고, 또는 다른 백신, 예방제 또는 치료제와 조합으로 투여될 수도 있다.

[0004] 2. 발명의 배경

[0005] 파라인플루엔자 바이러스 감염은 유아 및 아동에서 중증 기도 질환을 초래한다 (문헌 [Tao et al., 1999, Vaccine 17:1100-08]). 감염성 파라인플루엔자 바이러스 감염은 전세계적으로 기도 감염을 앓고 있는 소아과 환자의 총 입원의 대략 20%의 원인이 된다 (동 문헌). PIV 관련 질환을 치료하는데 이용할 수 있는 효과적인 항바이러스 요법은 없으며, PIV 감염 예방용 백신은 아직 승인되지 않았다.

[0006] PIV는 파라믹소비리데(paramyxoviridae) 과의 레스피로바이러스(respirovirus) 속 (PIV1, PIV3) 또는 루블라바이러스(rubulavirus) 속 (PIV2, PIV4)의 구성원이다. PIV는 (1) 바이러스 게놈을 함유하는 내부 리보핵산단백질 코어, 또는 뉴클레오캡시드, 및 (2) 구형 형상의 외부 리포단백질 외피의 2가지 구조 단위로 이루어져 있다. 이의 게놈은 대략 15,456개 뉴클레오타이드 길이이며 8개 이상의 폴리캡티드를 코딩하는 단일 가닥의 네가티브 센스 RNA로 이루어진다. 상기 단백질은 뉴클레오캡시드 구조 단백질 (속에 따라 NP, NC 또는 N), 인단백질 (P), 매트릭스 단백질 (M), 융합 당단백질 (F), 적혈구응집소-뉴라미니다제 당단백질 (HN), 대형(large) 중합효소 단백질 (L), 및 기능이 알려지지 않은 C 및 D 단백질을 포함한다 (동 문헌).

[0007] 파라인플루엔자 뉴클레오캡시드 단백질 (NP, NC 또는 N)은 각각의 단백질 단위 내에 2개의 도메인을 함유한다. 상기 도메인은 분자의 약 2/3를 차지하며 RNA와 직접 상호작용하는 아미노-말단 도메인, 및 조립된 뉴클레오캡시드의 표면 상에 있는 카르복실-말단 도메인을 포함한다. 힌지가 상기 2개의 도메인의 접합부에 존재하여 상기 단백질에 약간의 유연성을 부여하는 것으로 여겨진다 (문헌 [Fields et al. (ed.), 1991, FUNDAMENTAL VIROLOGY, 2nd ed, Raven Press, New York] 참조, 상기 문헌은 그 전문이 본원에 참고로 도입됨). 매트릭스 단백질 (M)은 명백히 바이러스 조립에 관여하며, 이는 바이러스 막과 뉴클레오캡시드 단백질 둘다와 상호작용한다. 인단백질 (P)은 인산화되고 전사 조절, 메틸화, 인산화 및 폴리아데닐화에 관련된다. 처음부터 불활성 전구체로서 생산되는 융합 당단백질 (F)은 번역된 후에 절단되어 2개의 디설피드 연결된 폴리캡티드를 생성한다. 활성 F 단백질은 바이러스 막과 상호작용하며, 여기서 바이러스 외피와 숙주 세포 원형질막의 융합을 촉진시킴으로써 파라인플루엔자 비리온이 숙주 세포 내로 침투하는 것을 용이하게 한다 (동 문헌). 당단백질인 적혈구응집소-뉴라미니다제 (HN)는 외피로부터 돌출되며 바이러스에 적혈구응집소 및 뉴라미니다제 활성을 부여한다. HN은 지질 이중층 내로 HN 단백질을 고정시키는 기능을 하는 강한 소수성의 아미노 말단을 갖는다 (동 문헌). 마지막으로, 대형 중합효소 단백질 (L)은 전사 및 복제 둘다에서 중요한 역할을 한다 (동 문헌).

- [0008] 소 파라인플루엔자 바이러스는 1959년에 수송열의 징후를 나타내는 송아지로부터 처음 분리되었다. 그 이래로 이것은 정상적인 소, 낙태된 태아, 및 호흡기 질환의 징후를 나타내는 소로부터 분리되었다 (문헌 [Breker-Klassen et al., 1996, Can. J. Vet. Res. 60:228-236] 참조. 또한, 문헌 [Shibuta, 1977, Microbiol. Immunol. 23(7), 617-628] 참조). 인간 및 소 PIV3은 중화 에피토프를 공유하지만 별개의 항원 특성을 나타낸다. 인간 및 소 바이러스 균주 사이에 유의한 차이는 HN 단백질에서 존재한다. 사실, 소 균주는 hPIV 감염에 대해 약간의 중화 항체를 유도하는 반면, 인간 균주는 인간 PIV3에 대해 보다 넓은 범위의 중화 항체를 유도하는 것으로 보인다 (문헌 [Van Wyke Coelingh et al., 1990, J. Virol. 64:3833-3843]).
- [0009] PIV를 비롯한 모든 네가티브-가닥 RNA 바이러스의 복제는 RNA를 복제하는데 필요한 세포 기구가 없으면 수행되기 어렵다. 또한, 네가티브-가닥 게놈은 포지티브-가닥 (mRNA) 카피로 전사된 후 번역될 수 있어야 한다. 결과적으로, 게놈 RNA 단독으로는 세포 내로의 진입시 필요한 RNA-의존성 RNA 중합효소를 합성할 수 없다. L, P 및 N 단백질은 게놈 RNA와 함께 숙주 세포로 진입해야 한다.
- [0010] PIV mRNA를 전사하는 대부분 또는 모든 바이러스 단백질은 게놈 복제까지 수행한다고 가정되어 있다. 단백질의 동일한 상보체가 다르게 사용되는 것 (즉, 전사 또는 복제)을 조절하는 메카니즘은 명백히 확인되지는 않았지만, 이 과정은 1종 이상의 뉴클레오펜사이드 단백질의 유리 형태를 풍부하게 포함하는 것으로 보인다. 바이러스의 침투 직후, 뉴클레오펜사이드 내의 네가티브-센스 RNA를 주형으로서 사용하여 L 단백질에 의해 전사가 개시된다. 바이러스 RNA 합성은 전사 동안 단일시스트론 mRNA를 생산하도록 조절된다.
- [0011] 전사 후의 바이러스 게놈 복제는 네가티브-가닥 RNA 바이러스에 의한 감염에서의 두번째 필수적 사건이다. 다른 네가티브-가닥 RNA 바이러스와 마찬가지로, PIV에서의 바이러스 게놈 복제는 바이러스-특이화된 단백질에 의해 매개된다. 복제 RNA 합성의 첫번째 생성물은 PIV 게놈 RNA의 상보성 카피 (즉, 플러스-극성) (cRNA)이다. 상기 플러스-가닥 카피 (항-게놈)는 그 말단 구조에 있어서 플러스-가닥 mRNA 전사체와 다르다. mRNA 전사체와는 달리, 항-게놈 cRNA는 5' 말단에서 캡핑되거나 메틸화되지 않으며, 3' 말단에서 말단절단(truncate)되거나 폴리아데닐화되지 않는다. cRNA는 그의 네가티브 가닥 주형과 공동말단이며, 모든 게놈 정보를 상보성 형태에 함유한다. cRNA는 PIV 네가티브-가닥 바이러스 게놈 (vRNA)의 합성을 위한 주형으로서 기능한다.
- [0012] bPIV 네가티브 가닥 게놈 (vRNA) 및 항게놈 (cRNA)은 뉴클레오펜사이드 단백질에 의해 캡시드화되며, 캡시드화되지 않는 유일한 RNA 종이 바이러스 mRNA이다. bPIV RNA의 복제 및 전사는 숙주 세포의 세포질에서 일어난다. 바이러스 성분의 조립은 성숙 바이러스가 버딩(budding)에 의해 방출되는 숙주 세포 원형질막에서 일어나는 것으로 보인다.
- [0013] **2.1. 파라믹소바이러스**
- [0014] 전통적으로, 질환의 처치제로서, 파라믹소바이러스는 매년 전세계적으로 많은 동물 및 인간의 사망 원인이 된다. 파라믹소비리대는 모노네가비랄레스(Mononegavirales) (네가티브-센스 단일 가닥 RNA 바이러스) 목 내의 과를 형성하며, 파라믹소비리내(Paramyxovirinae) 및 뉴모비리내(Pneumovirinae) 아과로 이루어진다. 뉴모비리내 아과는 현재 분류학적으로 뉴모바이러스(Pneumovirus) 및 메타뉴모바이러스(Metapneumovirus) 속으로 나뉘어진다 (문헌 [Pringle, 1999, Arch. Virol. 144/2, 2065-2070]). 뉴모바이러스 속의 일 종인 인간 호흡기 합포체 바이러스 (hRSV)는 전세계적으로 유아기 및 초기 아동기 동안 하기도 감염의 가장 중요한 단독 원인이다 (문헌 [Domachowske, & Rosenberg, 1999, Clin. Microbio. Rev. 12(2):298-309]). 뉴모바이러스 속의 다른 구성원으로는 소 및 양 호흡기 합포체 바이러스 및 마우스 폐렴 바이러스 (PVM)를 들 수 있다.
- [0015] 지난 수 십년 동안, 포유동물 질환, 특히 인간에서의 기도 질병 (RTI)의 몇 가지 병인체가 확인되었다 (문헌 [Evans, In: Viral Infections of Humans, Epidemiology and Control. 3th ed. (ed. Evans, A.S) 22-28 (Plenum Publishing Corporation, New York, 1989)]. 포유동물의 RTI의 전통적인 병인체는 인간에서 발견된 뉴모바이러스 속에 속하는 호흡기 합포체 바이러스 (hRSV) 및 소 및 양과 같은 반추동물에서 발견된 뉴모바이러스 속에 속하는 호흡기 합포체 바이러스 (bRSV 및(또는) oRSV)이다. 인간 RSV에서, 상호 교배 중화 검정법에서의 차이점, 면역 검정법에서의 G 단백질의 반응성 및 G 유전자의 뉴클레오티드 서열은 2가지 hRSV 항원 아군을 한정하는데 사용된다. 아군 내에서는 아미노산 서열이 94% (아군 A) 또는 98% (아군 B)의 동일성을 나타내는 반면, 아군 간에서는 단지 53%의 아미노산 서열 동일성이 있는 것으로 밝혀졌다. 모노클로날 항체, RT-PCR 검정법 및 RNase 보호 검정법을 기초로 추가의 가변성이 아군 내에서 관찰된다. 아군 둘다로부터의 바이러스는 전세계적인 분포를 가지며 단독 계절 동안 일어날 수 있다. 감염은 기존의 면역성의 존재하에서 일어날 수 있으며, 항원 변이가 재감염을 허용하는데 반드시 필요한 것은 아니다. 예를 들어 문헌 [Sullender, 2000, Clinical Microbiology Reviews 13(1):1-15]; [Collins et al. Fields Virology, ed. B. N. Knipe, Howley,

P.M. 1996, Philadelphia: Lippencott-Raven. 1313-1351]; [Johnson et al., 1987, (Proc Natl Acad Sci USA, 84(16):5625-9]; [Collins, in The Paramyxoviruses, D.W. Kingsbury, Editor. 1991, Plenum Press: New York. p. 103-153]을 참조한다.

[0016] 또다른 전통적인 뉴모바이러스는 일반적으로 실험용 마우스에서만 발견되는 마우스 폐렴 바이러스 (PVM)이다. 그러나, 포유동물 사이에서 관찰되는 질병의 일정 비율은 여전히 공지된 병원균 때문이 아니다.

[0017] 2.2. RSV 감염

[0018] 호흡기 합포체 바이러스 (RSV)는 유아 및 아동에서의 중증 하기도 질환의 주요 원인이다 (문헌 [Feigen et al., eds., 1987, In: Textbook of Pediatric Infectious Diseases, WB Saunders, Philadelphia at pages 1653-1675]; [New Vaccine Development, Establishing Priorities, Vol. 1, 1985, National Academy Press, Washington DC at pages 397-409]; 및 [Ruuskanen et al., 1993, Curr. Probl. Pediatr. 23:50-79]). RSV 감염의 매년의 유행성은 전세계적으로 명백하지만, 주어진 계절에서 RSV 질환의 발병률 및 중증도는 지역별로 다양하다 (문헌 [Hall, 1993, Contemp. Pediatr. 10:92-110]). 북반구의 온대 지역에서, 이는 통상적으로 늦가을에 시작되어 늦봄에 끝난다. 일차 RSV 감염은 6주 내지 2세의 유아에서 가장 빈번히 일어나며, 드물게는 병원 전염 동안의 첫 4주에 일어난다 (문헌 [Hall et al., 1979, New Engl. J. Med. 300: 393-396]). RSV 감염에 대한 위험이 증가된 아동은 조산아 (문헌 [Hall et al., 1979, New Engl. J. Med. 300:393-396]) 및 기관지폐 형성이상 (문헌 [Groothuis et al., 1988, Pediatrics 82:199-203]), 선천성 심장병 (문헌 [MacDonald et al., New Engl. J. Med. 307:397-400]), 선천성 또는 후천성 면역결핍증 (문헌 [Ogra et al., 1988, Pediatr. Infect. Dis. J. 7:246-249]; 및 [Pohl et al., 1992, J. Infect. Dis. 165:166-169]), 및 남성 섬유증 (문헌 [Abman et al., 1988, J. Pediatr. 113:826-830])을 갖는 아동 등을 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. RSV 감염으로 입원한 심장 또는 폐 질환을 갖는 유아의 사망률은 3% 내지 4%이다 (문헌 [Navas et al., 1992, J. Pediatr. 121:348-354]).

[0019] RSV는 유아 및 아동 뿐만 아니라 성인도 감염시킨다. 건강한 성인에서 RSV는 주로 상기도 질환을 유발한다. 일부 성인, 특히 노인은 이전에 보고되었던 것보다 더 빈번히 증상성 RSV 감염을 갖는다는 것이 최근 명백해 졌다 (문헌 [Evans, A.S., eds., 1989, Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control, 3rd ed., Plenum Medical Book, New York at pages 525-544]). 또한, 몇 가지 유행병이 요양원 환자와 시설에 수용된 젊은 성인 중에서 보고되었다 (문헌 [Falsey, A.R., 1991, Infect. Control Hosp. Epidemiol. 12:602-608]; 및 [Garvie et al., 1980, Br. Med. J. 281:1253-1254]). 마지막으로, RSV는 면역저해된 사람, 특히 골수 이식 환자에서 중증 질환을 유발할 수 있다 (문헌 [Hertz et al., 1989, Medicine 68:269-281]).

[0020] 수립된 PSV 질환에 대한 치료법의 선택에는 제한이 있다. 하기도의 중증 RSV 질환은 종종 습화 산소의 투여 및 호흡 보조물을 비롯한 상당한 지원적인 보호를 필요로 한다 (문헌 [Fields et al., eds, 1990, Fields Virology, 2nd ed., Vol. 1, Raven Press, New York at pages 1045-1072]).

[0021] 백신은 RSV 감염 및(또는) RSV-관련 질환을 예방할 수 있지만, 이러한 증상에 대해 허가된 백신은 아직 없다. 백신 개발의 주요한 장애물은 안전성이다. 포르말린-불활성화 백신은 면역원성이지만, 이것으로 면역화된 유아에서는 예기치 않게도 유사하게 제조된 3가 파라인플루엔자 백신으로 면역화된 유아에서보다 RSV에 기인한 더 높고 더 중증인 하기도 질환의 발병을 유발했다 (문헌 [Kim et al., 1969, Am. J. Epidemiol. 89:422-434]; 및 [Kapikian et al., 1969, Am. J. Epidemiol. 89:405-421]). 몇 가지 후보 RSV 백신은 포기되었으며, 다른 것들이 개발중이지만 (문헌 [Murphy et al., 1994, Virus Res. 32:13-36]), 안전성 문제가 해결된다 하더라도 백신 효율성이 또한 개선되어야 한다. 수많은 문제점이 미해결된 채 남아 있다. 면역화는 극신생아 기간 (immediate neonatal period)에 필요할 것인데, 이는 하기도 질환의 최대 발병이 생후 2 내지 5개월에 일어나기 때문이다. 모체에서 획득된 RSV 항체의 역가가 높은 신생아 면역 반응의 미성숙은 신생아 기간에 백신 면역원성을 감소시킬 것으로 예상될 수 있다 (문헌 [Murphy et al., 1988, J. Virol. 62:3907-3910]; 및 [Murphy et al., 1991, Vaccine 9:185-189]). 마지막으로, 1차 RSV 감염 및 질환은 이후의 RSV 질환에 대해 잘 보호되지 않는다 (문헌 [Henderson et al., 1979, New Engl. J. Med. 300: 530-534]).

[0022] 현재, RSV 질환의 예방에 대한 유일한 입증된 접근법은 수동 면역화이다. IgG의 보호 역할을 시사하는 초기 증거는 흰죽제비 (문헌 [Prince, G.A., Ph.D. diss., University of California, Los Angeles, 1975]) 및 인간 (문헌 [Lambrecht et al., 1976, J. Infect. Dis. 134:211-217]; 및 [Glezen et al., 1981, J. Pediatr. 98:708-715])에서의 모체 항체와 관련된 관찰로부터 얻어졌다. 헤밍(Hemming) 등 (문헌 [Morell et al., eds., 1986, Clinical Use of Intravenous Immunoglobulins, Academic Press, London at pages 285-294])은

신생아 패혈증을 갖는 것으로 의심되는 신생아에서 정맥 면역 글로불린 (IVIG)의 약물동력학에 관해 연구하는 동안 RSV 감염의 치료 또는 예방에서의 RSV 항체의 가능한 유용성을 인식했다. 상기 연구에서, 호흡기 분비물에 RSV가 발견되었던 한 유아는 IVIG 주입 후에 급속히 회복되었음을 주목했다. IVIG 로트(lot)의 후속 분석은 유달리 높은 역가의 RSV 중화 항체를 밝혀내었다. 그 후, 상기 동일한 그룹의 연구자들은 RSV 중화 항체가 풍부한 과면역 혈청 또는 면역 글로불린에 대하여 RSV 감염으로부터 면화 래트 및 영장류를 보호하는 능력을 조사했다 (문헌 [Prince et al., 1985, Virus Res. 3:193-206]; [Prince et al., 1990, J. Virol. 64:3091-3092]; [Hemming et al., 1985, J. Infect. Dis. 152:1083-1087]; [Prince et al., 1983, Infect. Immun. 42:81-87]; 및 [Prince et al., 1985, J. Virol. 55:517-520]). 상기 연구의 결과는 IVIG가 RSV 감염의 예방 뿐만 아니라 RSV-관련 장애의 치료 또는 예방에도 사용될 수 있음을 나타낸다.

[0023] 최근의 임상 연구는, 상기 수동 투여된 RSV 과면역 글로불린 (RSV IVIG)에 RSV에 의한 중증 하기도 감염 위험이 있는 아동을 보호하는 능력이 있음을 입증했다 (문헌 [Groothuis et al., 1993, New Engl. J. Med. 329:1524-1530]; 및 [The PREVENT Study Group, 1997, Pediatrics 99:93-99]). 이것은 RSV 감염을 예방하는데 있어서 주요한 진보이기는 하지만, 이러한 치료 태도는 광범위하게 사용되는데 한계가 있다. 첫째, RSV IVIG는 유효 투여량을 달성하려면 수 시간에 걸쳐 정맥내로 주입되어야 한다. 둘째, 과면역 글로불린 내의 활성 물질의 농도는 심폐 기능이 약화된 위험이 있는 성인 또는 대부분의 아동을 치료하는데 불충분하다. 셋째, 정맥내 주입은 RSV 계절 동안 매달 병원 방문을 필요로 한다. 마지막으로, RSV에 대한 과면역 글로불린을 생성하는 충분한 공여자를 선택하여 이러한 생성물에 대한 요구를 충족시키는 것은 어려운 것일 수 있다. 현재, 정상 공여자의 대략 8%만이 과면역 글로불린의 생산에 적절한 충분히 높은 RSV 중화 항체 역가를 갖는다.

[0024] 면역글로불린의 특이적 활성을 개선시키는 한 가지 방법은 1종 이상의 매우 강력한 RSV 중화 모노클로날 항체 (MAb)의 개발일 것이다. 이러한 MAb는 RSV 계절 전반에 걸쳐 반복 투여가 요구되기 때문에, 바람직한 약물동력학을 보유하고 인간 항-마우스 항체 반응의 발생을 피하기 위해서는 이것이 인간의 것이거나 인간화되어야 한다. RSV 표면 상의 2가지 당단백질인 F 및 G는 중화 항체의 표적인 것으로 나타났다 ([Fields et al., 1990, 상기 문헌]; 및 [Murphy et al., 1994, 상기 문헌]).

[0025] RSV의 F 단백질의 A 항원 부위 내의 에피토프에 대한 인간화 항체인 시나지스(SYNAGIS) (등록상표)는 RSV에 의해 유발되는 중증 하기도 질환의 예방을 위해 RSV 계절 (북반구에서는 11월 내지 4월) 전반에 걸쳐 15 mg/체중 kg의 권장 윌 투여량으로 소아과 환자에게 근육내 투여가 승인되어 있다. 시나지스 (등록상표)는 인간 (95%) 및 무린 (5%) 항체 서열의 복합체이다. 문헌 [Johnson et al., 1997, J. Infect. Diseases 176:1215-1224] 및 미국 특허 제5,824,307호를 참조하며, 상기 내용 전체는 본원에 참고로 도입된다. 인간 중쇄 서열은 인간 TgG1의 불변 도메인 및 Cor (문헌 [Press et al., 1970, Biochem. J. 117:641-660]) 및 Cess (문헌 [Takashi et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:194-198])의 VH 유전자의 가변 프레임워크(framework) 영역으로부터 유래되었다. 인간 경쇄 서열은 C의 불변 도메인, 및 J-4를 갖는 VL 유전자 K104의 가변 프레임워크 영역으로부터 유래되었다 (문헌 [Bentley et al., 1980, Nature 288:5194-5198]). 무린 서열은 무린 모노클로날 항체인 Mab 1129 (문헌 [Beeler et al., 1989, J. Virology 63:2941-2950])로부터 유래되었으며, 이 과정은 무린 상보성 결정 영역을 인간 항체 프레임워크 내로 이식시키는 단계를 포함하였다.

[0026] 2.3. 조류 뉴모바이러스

[0027] 조류 뉴모바이러스 (APV)에 의해 유발되는 호흡기 질환은 1970년대 후반에 남아프리카에서 처음으로 기재되어, 그 지역의 칠면조 산업을 폐쇄화시켰다 (문헌 [Buys et al., 1980, Turkey 28:36-46]). 칠면조에서의 질환은 동염 및 비염을 특징으로 하였으며, 칠면조 비기관염 (TRT)로 불려졌다. APV의 유럽형 단리체는 또한 닭에서 두부 팽창 증후군 (SHS)의 요인으로서 밀접한 관련이 있었다 (문헌 [O'Brien, 1985, Vet. Rec. 117:619-620]). 원래, 이 질환은 뉴캐슬병 바이러스 (NDV)로 감염된 영계 무리에서 나타났으며, 뉴캐슬병 (ND)과 관련된 2차적 문제인 것으로 생각되었다. 유럽형 APV에 대한 항체는 SHS의 발병 후 감염된 닭에서 검출되었으며 (문헌 [Cook et al., 1988, Avian Pathol. 17:403-410]), 따라서 APV가 그 원인으로 관련되어 있다.

[0028] 칠면조의 상기도 감염인 조류 비기관염의 병인체인 칠면조 비기관염 바이러스 (TRTV)로도 알려진 (문헌 [Giraud et al., 1986, Vet. Res. 119: 606-607]) 조류 뉴모바이러스 (APV)는 최근에 부여된 메타뉴모바이러스 속의 단독 구성원이며, 이 속은 지금까지는 감염과 관련되지 않았거나 더욱이 포유동물의 질환과 관련되지 않았다. APV의 혈청학적 아군은 G 당단백질의 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열, 및 또한 G 당단백질을 인식하는 모노클로날 항체를 사용한 중화 시험을 기초로 분류될 수 있다. 그러나, 뉴클레오티드와 아미노산 서열에서의 다른 차이점들도 APV의 혈청학적 아군을 구별하는데 사용될 수 있다. 아군 A, B 및 D 내에서, G 단백질은 아군 내에

서는 98.5 내지 99.7%의 아미노산 동일성을 나타내는 반면, 아군 간에서는 단지 31.2 내지 38%의 아미노산 동일성이 관찰된다. 예를 들어 문헌 [Collins et al., 1993, Avian Pathology, 22: p. 469-479]; [Cook et al., 1993, Avian Pathology, 22:257-273]; [Bayon-Auboyer et al., J Gen Virol, 81(Pt 11):2723-33]; [Seal, 1998, Virus Res, 58(1-2):45-52]; [Bayon-Auboyer et al., 1999, Arch Virol, 144(6):91-109]; [Juhasz, et al., 1994, J Gen Virol, 75 (Pt11):2873-80]을 참조한다.

[0029] APV의 추가의 혈청형은 본원에 참고로 도입된 WO 00/20600에 제공되어 있으며, 여기에는 APV의 콜로라도 (Colorado) 단리체가 기재되어 있고 이것을 공지된 APV 또는 TRT 균주와 시험관내 혈청 중화 시험으로 비교하였다. 먼저, 콜로라도 단리체를 인식되는 TRT 단리체에 단일특이적인 폴리클로날 항혈청에 대해 시험하였다. 콜로라도 단리체는 어떠한 TRT 균주에 대한 단일특이적 항혈청에 의해서도 중화되지 않았다. 그러나, 이것은 아군 A 균주에 대해 배양된 과면역 항혈청에 의해 중화되었다. 상기 항혈청은 동종 바이러스를 1:400의 역가로 중화하였으며, 콜로라도 단리체를 1:80의 역가로 중화하였다. 상기 방법을 사용하여, 콜로라도 단리체를 그 후 TRT 모노클로날 항체에 대해 시험하였다. 각각의 경우, 상호 중화 역가는 10 미만이었다. 콜로라도 단리체에 대해 배양된 단일특이적 항혈청을 또한 아군 둘다의 TRT 균주에 대해 시험하였다. 시험된 어떠한 TRT 균주도 콜로라도 단리체에 대한 항혈청에 의해 중화되지 않았다.

[0030] APV의 콜로라도 균주는 TRT 바이러스의 아군 A 또는 아군 B를 사용한 항원투여(challenge)에 대해 SPF 병아리를 보호하지 않는다. 이러한 결과는 콜로라도 단리체가 조류 뉴모바이러스의 추가의 혈청형의 첫번째 예일 수 있음을 시사한다 (문헌 [Bayon-Auboyer et al., 2000, J. Gen. Vir. 81:2723-2733] 참조).

[0031] 조류 뉴모바이러스는 파라믹소비리대 과의 뉴모비리내 아과, 메타뉴모바이러스 속에 속하는 단일 가닥 비-절편화된 RNA 바이러스이다 (문헌 [Cavanagh and Barrett, 1988, Virus Res. 11:241-256]; [Ling et al., 1992, J. Gen. Virol. 73:1709-1715]; [Yu et al., 1992, J. Gen. Virol. 73:1355-1363]). 파라믹소비리대 과는 파라믹소비리내 및 뉴모비리내의 2개의 아과로 나뉘어진다. 파라믹소비리내 아과는 파라믹소바이러스, 루볼라바이러스, 및 모르빌리바이러스(Morbillivirus) 속 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 최근, 뉴모비리내 아과는 유전자 순서 및 서열 상동성을 근거로 2개의 속, 즉 뉴모바이러스 및 메타뉴모바이러스로 나뉘어졌다 (문헌 [Naylor et al., 1998, J. Gen. Virol., 79:1393-1398]; [Pringle, 1998, Arch. Virol. 143:1449-1159]). 뉴모바이러스 속은 인간 호흡기 합포체 바이러스 (hRSV), 소 호흡기 합포체 바이러스 (bRSV), 양 호흡기 합포체 바이러스, 및 마우스 뉴모바이러스 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 메타뉴모바이러스 속은 hRSV와 구별되며 뉴모바이러스 속에 대한 형태종인 유럽형 조류 뉴모바이러스 (아군 A 및 B)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다 (문헌 [Naylor et al., 1998, J. Gen. Virol., 79: 1393-1398]; [Pringle, 1998, Arch. Virol. 143: 1449-1159]). APV의 미국형 단리체는 메타뉴모바이러스 속 내의 세번째 아군 (아군 C)을 대표하는데, 그 이유는 이것이 항원성과 유전적 면에서 유럽형 단리체와 다름이 밝혀졌기 때문이다 (문헌 [Seal, 1998, Virus Res. 58:45-52]; [Senne et al., 1998, In: Proc. 47th WPDC, California, pp. 67-68]).

[0032] 음성 염색된 APV의 전자 현미경적 조사로 인해, 길이 1000 내지 2000 nm 범위의 긴 필라멘트를 가지며 직경이 80 내지 200 nm 범위이고 다형성, 때때로 구형인 비리온이 밝혀졌다 (문헌 [Collins and Gough, 1988, J. Gen. Virol. 69:909-916]). 외피는 길이 13 내지 15 nm의 스파이크가 박힌 막으로 이루어진다. 그의 뉴클레오캡시드는 직경 14 nm의 나선형이며 7 nm의 피치를 갖는다. 뉴클레오캡시드 직경은 통상적으로 직경이 약 18 nm인 파라믹소바이러스 및 모르빌리바이러스 속보다 작다.

[0033] 조류 뉴모바이러스 감염은 수 해 동안 세계 도처의 가금류에 존재했음에도 불구하고, 미국에서는 새로운 질환이다. 1996년 5월에, 칠면조의 고전염성 호흡기 질환이 콜로라도주에서 나타났으며, 이어서 APV는 아이오와주 아미스에 소재한 미연방 수의 사업 실험실(National Veterinary Services Laboratory (NVSL))에서 단리되었다 (문헌 [Senne et al., 1997, Proc. 134th Ann. Mtg., AVMA, pp. 190]). 그 전까지는, 미국과 캐나다는 조류 뉴모바이러스에 대해 자유롭다고 생각되고 있었다 (문헌 [Pearson et al., 1993, In: Newly Emerging and Re-emerging Avian Diseases: Applied Research and Practical Applications for Diagnosis and Control, pp. 78-83]; [Hecker and Myers, 1993, Vet. Rec. 132:172]). 1997년 초 미테스타주에서, APV의 존재가 칠면조에서 혈청학적으로 검출되었다. 최초로 확인된 진단이 나왔을 때, APV 감염은 이미 많은 농장에 퍼져 있었다. 이 질환은 상기도에서의 임상적 징후, 즉 거품성 눈(foamy eye), 콧물 및 동 팽창을 수반한다. 이것은 2차 감염에 의해 악화된다. 감염된 조류의 이환율은 100%만큼 높을 수 있다. 사망률은 1 내지 90% 범위일 수 있으며 6 내지 12주 가금류 새끼에서 가장 높다.

[0034] 조류 뉴모바이러스는 접촉에 의해 증식된다. 콧물, 감염된 조류의 이동, 오염된 물, 오염된 환경, 오염된 음식

물 트럭 및 출하 활동은 바이러스 증식의 원인이 될 수 있다. 회복된 칠면조는 보균체인 것으로 여겨진다. 바이러스는 알을 낳는 칠면조의 수란관 상피를 감염시키는 것으로 보이며 APV는 어린 가금류 새끼에서 검출되기 때문에, 난에 의한 증식이 하나의 가능성으로 여겨진다.

[0035] 인간 호흡기 질환의 상당 부분은 파라믹소비리내 및 뉴모비리내 바이러스 아과의 구성원에 의해 유발되며, 기도 감염을 초래하는 다양한 바이러스에 대한 보호를 제공하는 효과적인 백신에 대한 요구가 여전히 남아 있다.

[0036] 본원에서 참고 문헌을 인용하고 논의하는 것이, 이들을 본 발명에 대한 선행 기술이라고 인정한다고 해석되어선 안된다.

[0037] 3. 발명의 요약

[0038] 본 발명은, 이중 또는 비-천연 유전자 생성물을 발현하도록, 특히 항원성 폴리펩티드 및 펩티드를 발현하도록 유전자조작될 수 있는 재조합 파라인플루엔자 바이러스 cDNA 및 RNA에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 이중 항원 또는 이중 항원의 면역원성 및(또는) 항원성 단편을 발현하도록 유전자조작된 재조합 소 또는 인간 파라인플루엔자 바이러스에 관한 것이다. 본 발명의 또다른 실시양태에서, 재조합 소 또는 인간 파라인플루엔자 바이러스는 돌연변이된 PIV 뉴클레오티드 서열을 비롯하여 PIV 계통에 대하여 비-천연인 서열을 발현하도록 유전자조작된다. 특히, 본 발명은 재조합 캔자스-균주 소 파라인플루엔자 제3형 바이러스 및 이를 코딩하는 cDNA 및 RNA 분자에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 백신 제제에 사용하기에 보다 적합한 표현형을 갖는 키메라 바이러스를 생성시키는 변형체를 함유하는 재조합 PIV에 관한 것이다.

[0039] 본 발명은 각종 바이러스의 감염, 특히 기도 감염을 일으키는 바이러스에 대한 보호를 부여할 수 있는 백신으로서 제제화된 키메라 PIV를 최초로 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 파라인플루엔자, 인플루엔자 또는 호흡기 합포체 바이러스 감염에 대한 보호를 부여할 수 있는 백신을 제공한다. 본 발명은 포유동물 숙주에서의 메타뉴모바이러스 감염에 대한 보호를 제공할 수 있는 백신을 최초로 제공한다.

[0040] 본 발명에 따르면, 재조합 바이러스는 내인성 또는 천연 계통 서열 또는 비-천연 계통 서열에 의해 코딩되는 소 파라인플루엔자 바이러스 또는 인간 파라인플루엔자 바이러스로부터 유래된 것이다. 본 발명에 따르면, 비-천연 서열은, 표현형 변화를 일으킬 수 있거나 일으킬 수 없는 계통 서열에 대한 점 돌연변이, 재배열, 삽입 및 결실 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 1종 이상의 돌연변이로 인한 천연 또는 내인성 계통 서열과 상이한 것이다.

[0041] 본 발명에 따르면, 본 발명의 키메라 바이러스는 1종 이상의 이중 뉴클레오티드 서열을 추가로 포함하는 재조합 bPIV 또는 hPIV이다. 본 발명에 따르면, 키메라 바이러스는 이중 뉴클레오티드 서열이 계통에 부가되거나 또는 뉴클레오티드 서열이 이중 뉴클레오티드 서열로 대체된 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있다.

[0042] 또한, 본 발명은 PIV, 인플루엔자 바이러스, 호흡기 합포체 바이러스, 포유동물 메타뉴모바이러스 (예를 들어, 인간 메타뉴모바이러스), 조류 뉴모바이러스, 홍역, 볼거리, 기타 바이러스, 병원체, 세포 유전자, 종양 항원 또는 이들의 조합의 상이한 균주로부터의 유전자를 포함하나 이에 제한되지는 않는 유전자 생성물을 코딩하는 이중 서열의 조합을 코딩하는 유전자조작된 재조합 파라인플루엔자 바이러스 및 바이러스 벡터에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 호흡기 합포체 바이러스로부터 유래된 뉴클레오티드 서열과 조합되고, 추가로 인간 파라인플루엔자 바이러스로부터 유래된 뉴클레오티드 서열과 조합된 메타뉴모바이러스로부터 유래된 뉴클레오티드 서열을 함유하는 유전자조작된 재조합 파라인플루엔자 바이러스에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 인간 PIV3의 F 및 HN 유전자를 비롯하여 파라인플루엔자 바이러스의 상이한 종 및 균주로부터의 유전자를 코딩하도록 유전자조작된 재조합 파라인플루엔자 벡터 및 바이러스를 포함한다.

[0043] 한 실시양태에서, 본 발명의 PIV 벡터는, 바람직하게는 항원성 유전자 생성물인 유전자 생성물을 코딩하는 1종 이상의 이중 서열을 발현하도록 유전자조작된다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 PIV 벡터는 항원성 폴리펩티드 및 펩티드를 코딩하는 1, 2 또는 3종의 이중 서열을 발현한다. 일부 실시양태에서, 이중 서열은 동일한 바이러스 또는 상이한 바이러스로부터 유래된다. 바람직한 실시양태에서, 이중 서열은 또다른 종의 PIV, 예컨대 인간 PIV, PIV의 돌연변이 균주로부터의 항원성 폴리펩티드이거나, 또는 인플루엔자 바이러스, 호흡기 합포체 바이러스 (RSV), 포유동물 메타뉴모바이러스 (예를 들어, 인간 메타뉴모바이러스 (hMPV)) 및 조류 뉴모바이러스를 포함하나 이에 제한되지는 않는 또다른 네가티브 가닥 RNA 바이러스로부터의 항원성 폴리펩티드인 이중 유전자 생성물을 코딩한다. 한 실시양태에서, 이중 서열은 이중 유전자 생성물의 면역원성 및(또는) 항원성 단편을 코딩한다.

[0044] 바람직한 실시양태에서, 재조합 PIV는 소 PIV 제3형, 또는 약독화된 인간 PIV 제3형이다. 한 실시양태에서, 용

합 (F) 단백질, 혈구응집소 (HN) 당단백질, 또는 PIV 계놈의 다른 비필수 유전자를 코딩하는 서열이 결실되고 이중 항원성 서열로 치환된다. 또다른 실시양태에서, PIV 계놈은 이중 뉴클레오티드 서열 뿐만 아니라 돌연변이체 또는 변형체도 함유하며, 이로 인해 백신 제제에 사용하기에 보다 적합한 표현형, 예를 들어 약독화된 표현형 또는 항원성이 향상된 표현형을 갖는 키메라 바이러스가 생성된다.

[0045] 특정 실시양태에서, PIV 계놈에 삽입될 이중 뉴클레오티드 서열은 F 단백질, G 단백질 또는 HN 단백질을 코딩하는 뉴클레오티드 서열로부터 유래된다. 특정 실시양태에서, 삽입될 뉴클레오티드 서열은 키메라 F 단백질, 키메라 G 단백질 또는 키메라 HN 단백질을 코딩한다. 특정 실시양태에서, F 단백질은 메타뉴모바이러스의 F 단백질의 엑토도메인(ectodomain), 파라인플루엔자 바이러스의 F 단백질의 막형단 도메인 및 파라인플루엔자 바이러스의 F 단백질의 루미날(luminal) 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, 삽입될 뉴클레오티드 서열은 F 단백질의 막형단 도메인이 결실되어 가용성 F 단백질이 발현됨으로써 F 단백질을 코딩한다.

[0046] 또다른 특정 실시양태에서, 본 발명은 메타뉴모바이러스로부터 유래된 이중 뉴클레오티드 서열을 포함하는 PIV 계놈을 포함하는 키메라 바이러스를 제공한다. 특정 실시양태에서, PIV 바이러스는 캔자스-균주 소 파라인플루엔자 제3형 바이러스이다. 다른 실시양태에서, PIV 바이러스는 약독화된 표현형을 갖는 인간 파라인플루엔자 바이러스이다. 또다른 실시양태에서, 본 발명은 소 파라인플루엔자 주쇄내에 인간 파라인플루엔자 F 및 HN 유전자를 함유하도록 유전자조작된 키메라 소 파라인플루엔자 바이러스 제3형/인간 파라인플루엔자 바이러스를 제공한다. 키메라 바이러스는 메타뉴모바이러스로부터 유래된 이중 뉴클레오티드 서열을 추가로 포함할 수 있고 (있거나), 호흡기 합포체 바이러스로부터 유래된 이중 뉴클레오티드 서열을 추가로 포함할 수 있다.

[0047] 특정 실시양태에서, 본 발명의 바이러스는 메타뉴모바이러스의 2종 이상의 상이한 유전자로부터 유래된 이중 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중 서열은 메타뉴모바이러스, 예를 들어 조류 뉴모바이러스 및 인간 메타뉴모바이러스로부터 유래된다. 보다 구체적으로, 이중 서열은 조류 뉴모바이러스 A형, B형, C형 또는 D형, 바람직하게는 C형을 비롯한 조류 뉴모바이러스로부터 유래된다.

[0048] 또한, 본 발명은 1종 이상의 이중 항원성 서열을 발현하는 키메라 PIV를 포함하는 백신 제제 및 면역원성 조성물을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 2가 및 3가 백신을 비롯한 다가 백신을 제공한다. 본 발명의 다가 백신은 1종의 PIV 벡터가 각각의 이중 항원성 서열을 발현하거나 또는 2종 이상의 PIV 벡터 각각이 상이한 이중 항원성 서열을 코딩하는 형태로 투여할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 백신 제제는 동일한 바이러스의 하나의 균주, 동일한 바이러스의 상이한 균주 또는 상이한 바이러스로부터 유래된 서열에 의해 코딩될 수 있는 1, 2 또는 3종의 이중 폴리펩티드를 발현하는 키메라 PIV를 포함한다. 바람직하게는, 이중 항원성 서열은 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 호흡기 합포체 바이러스 (RSV), 포유동물 메타뉴모바이러스 (예를 들어, 인간 메타뉴모바이러스 (hMPV)) 및 조류 뉴모바이러스 (APV)를 포함하나 이에 제한되지는 않는 네가티브 가닥 RNA 바이러스로부터 유래된다. 이중 항원성 서열은 인간 파라인플루엔자 바이러스 F 또는 HN 단백질, RSV의 F 단백질, 인플루엔자 바이러스 A형, B형 및 C형의 HA 단백질, 및 인간 MPV 및 조류 뉴모바이러스의 F 단백질을 코딩하는 서열을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 보다 바람직하게는, 본 발명의 백신 제제는 살아있고 감염성인 약독화된 키메라 바이러스를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 재조합 PIV는 소 PIV 제3형이거나, 또는 인간 PIV의 약독화된 균주이다.

[0049] 한 실시양태에서, 백신 제제는 PIV 계놈의 F, HN 또는 일부 다른 비필수 유전자가 치환되거나 결실된 본 발명의 키메라 바이러스를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 백신 제제는 의도된 숙주내에서 약독화된 표현형을 갖는 PIV 균주를 유전자조작함으로써 제조된다. 또다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 백신 제제는 PIV의 약독화된 균주를 유전자조작함으로써 제조된다.

[0050] 또다른 실시양태에서는, 이중 뉴클레오티드 서열이 완전 PIV 계놈에 추가된다. 특정 실시양태에서, PIV 계놈을 이중 서열이 1, 2, 3, 4, 5 또는 6번 위치에 삽입되도록 유전자조작하여, 이중 서열이 바이러스 계놈의 제1, 제2, 제3, 제4, 제5 또는 제6 유전자로서 발현되도록 한다. 특정 실시양태에서는, 이중 서열이 바이러스 계놈의 1, 2 또는 3번 위치에 삽입된다. 특정 실시양태에서는, 삽입된 이중 유전자의 코딩 서열의 말단과 하류 유전자의 코딩 서열의 출발부 사이의 유전자간 영역을 바람직한 길이로 변경하여 이중 서열의 발현을 향상시키거나 또는 키메라 바이러스의 성장을 향상시킨다. 별법으로, 유전자간 영역을 이중 서열의 발현 또는 재조합 또는 키메라 바이러스, 예를 들어 약독화된 표현형의 성장을 변경시킬 잠재력을 갖는 바람직한 길이로 변경한다. 일부 실시양태에서는, 이중 서열의 바람직한 발현 수준 및 바람직한 바이러스 성장 특징을 갖는 재조합 또는 키메라 바이러스가 선택되도록, 이중 뉴클레오티드 서열을 플랭킹(flanking)하는 유전자간 영역의 길이와 삽입 위치 모두를 유전자조작한다.

[0051]	특정 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 재조합 또는 키메라 바이러스 및 제약상 허용가능한 부형제를 포함하는 백신 제제를 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 백신 제제는 대상체, 예컨대 인간, 영장류, 말, 소, 양, 돼지, 염소, 개, 고양이, 설치류 또는 조류 대상체의 면역 반응을 조정하는 데 사용된다. 보다 특정한 실시양태에서는, 백신은 인간 유아 또는 아동의 면역 반응을 조정하는 데 사용된다. 또다른 실시양태에서, 본 발명은 수의학용 백신 제제에 관한 것이다. 본 발명의 백신 제제는 단독으로 투여될 수도 있고, 또는 다른 백신 또는 다른 예방제 또는 치료제와 조합하여 투여될 수도 있다.
[0052]	3.1. 관용어 및 약어
[0053]	cDNA: 상보적 DNA
[0054]	CPE: 세포병변 효과
[0055]	L: 대형 단백질
[0056]	M: 매트릭스 단백질 (외피 내부의 라인)
[0057]	F: 융합 당단백질
[0058]	HN: 혈구응집소-뉴라미니다제 당단백질
[0059]	N, NP 또는 NC: 핵산단백질 (RNA와 회합되며 중합효소 활성화에 요구됨)
[0060]	P: 인단백질
[0061]	MOI: 감염다중도
[0062]	NA: 뉴라미니다제 (외피 당단백질)
[0063]	PIV: 파라인플루엔자 바이러스
[0064]	bPIV: 소 파라인플루엔자 바이러스
[0065]	bPIV3: 소 파라인플루엔자 바이러스 제3형
[0066]	hPIV: 인간 파라인플루엔자 바이러스
[0067]	hPIV3: 인간 파라인플루엔자 바이러스 제3형
[0068]	bPIV/hPIV 또는 b/h PIV: hPIV 서열을 갖는 재조합 bPIV
[0069]	b/h PIV3 또는 bPIV3/hPIV3: hPIV 제3형 서열을 갖는 재조합 bPIV 제3형
[0070]	nt: 뉴클레오타이드
[0071]	RNP: 리보핵산단백질
[0072]	rRNP: 재조합 RNP
[0073]	vRNA: 게놈 바이러스 RNA
[0074]	cRNA: 항게놈 바이러스 RNA
[0075]	hMPV: 인간 메타뉴모바이러스
[0076]	APV: 조류 뉴모바이러스
[0077]	dpi: 감염후 일수
[0078]	HAI: 혈구응집 억제
[0079]	hpi: 감염후 시간
[0080]	POI: 감염 지점
[0081]	RSV: 호흡기 합포체 바이러스
[0082]	SFM: 혈청-무함유 배지

- [0083] TCID₅₀: 50% 조직 배양물 감염 투여량
- [0084] 위치: "위치"가 임의의 바이러스의 유전자조작과 관련하여 사용되는 경우, 이는 바이러스 게놈에서 전사될 유전자의 위치를 지칭함. 예를 들어, 유전자가 1번 위치에 위치하는 경우에는 바이러스 게놈의 제1 유전자가 전사될 것이고, 유전자가 2번 위치에 위치하는 경우에는 바이러스 게놈의 제2 유전자가 전사될 것임.
- [0085] bPIV3, b/h PIV3 및 이들 유도체의 1번 위치: 게놈의 뉴클레오티드 104번 위치, 또는 다르게는, 전사될 바이러스 게놈의 제1 유전자의 위치
- [0086] bPIV3, b/h PIV3 및 이들 유도체의 2번 위치: 게놈의 뉴클레오티드 1774번 위치, 또는 다르게는, 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제1 오픈 리딩 프레임과 제2 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 다르게는, 전사될 바이러스 게놈의 제2 유전자의 위치
- [0087] bPIV3, b/h PIV3 및 이들 유도체의 3번 위치: 게놈의 뉴클레오티드 3724번 위치, 또는 다르게는, 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제2 오픈 리딩 프레임과 제3 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 다르게는, 전사될 바이러스 게놈의 제3 유전자의 위치
- [0088] bPIV3, b/h PIV3 및 이들 유도체의 4번 위치: 게놈의 뉴클레오티드 5042번 위치, 또는 다르게는, 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제3 오픈 리딩 프레임과 제4 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 다르게는, 전사될 바이러스 게놈의 제4 유전자의 위치
- [0089] bPIV3, b/h PIV3 및 이들 유도체의 5번 위치: 게놈의 뉴클레오티드 6790번 위치, 또는 다르게는, 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제4 오픈 리딩 프레임과 제5 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 다르게는, 전사될 바이러스 게놈의 제5 유전자의 위치
- [0090] bPIV3, b/h PIV3 및 이들 유도체의 6번 위치: 게놈의 뉴클레오티드 8631번 위치, 또는 다르게는, 천연 파라인플루엔자 바이러스의 제5 오픈 리딩 프레임과 제6 오픈 리딩 프레임 사이의 위치, 또는 다르게는, 전사될 바이러스 게놈의 제6 유전자의 위치

발명의 상세한 설명

[0116] 5. 발명의 설명

- [0117] 본 발명은 이종 또는 비천연 서열을 발현하기 위해 사용될 수 있는, 제조할 소 및 인간 PIV cDNA 및 RNA 구조물을 포함한, 그러나 이에 제한되지는 않는 제조할 파라인플루엔자 cDNA 및 RNA 구조물에 관한 것이다.
- [0118] 본 발명에 따라, 제조할 바이러스는 내인성 또는 천연 게놈 서열 또는 비천연 게놈 서열에 의해 코딩되는 소 파라인플루엔자 바이러스 또는 인간 파라인플루엔자 바이러스로부터 유래된 것이다. 본 발명에 따라, 비천연 서열은 표현형 변화를 일으킬 수 있거나 일으키지 않을 수 있는 게놈 서열의 점 돌연변이, 재배열, 삽입, 결실 등을 포함한, 그러나 이에 제한되지는 않는 하나 이상의 돌연변이 때문에 천연 또는 내인성 게놈 서열과는 상이한 것이다.
- [0119] 본 발명에 따라, 본 발명의 키메라 바이러스는 하나 이상의 이종 뉴클레오티드 서열을 추가로 포함하는 제조할 bPIV 또는 hPIV이다. 본 발명에 따라, 키메라 바이러스는 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있으며, 여기서 이종 뉴클레오티드 서열은 게놈에 부가되거나 또는 뉴클레오티드 서열은 이종 뉴클레오티드 서열로 대체된다. 이들 제조할 및 키메라 바이러스 및 발현 생성물은 인간 또는 동물에게 투여하기에 적합한 백신으로 사용될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 키메라 바이러스는 백신 제제에 사용되어, 뉴모바이러스, 호흡기 합포체 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스 또는 인플루엔자 바이러스 감염을 예방할 수 있다.
- [0120] 일 실시양태에서, 본 발명은 인간 또는 소 PIV 변이체로부터 유래하고, 1개, 2개 또는 3개의 이종 서열, 바람직하게는 외래 항원, 및 다양한 병원체, 세포 유전자, 종양 항원 및 바이러스로부터의 다른 생성물을 코딩하는 이종 유전자를 발현하도록 조작되는 PIV cDNA 및 RNA 구조물에 관한 것이다. 특히, 이종 서열은 인플루엔자 바이러스, 호흡기 합포체 바이러스 (RSV), 포유동물 메타뉴모바이러스 (예들 들면, 인간 메타뉴모바이러스 변이체 A1, A2, B1 및 B2) 및 조류 뉴모바이러스 아군 (subgroup) A, B, C 및 D를 포함하나, 이에 제한되는 것은 아닌 음성 가닥 RNA 바이러스 또는 모르빌리바이러스로부터 유래된다. 포유동물 MPV는 변이체 A1, A2, B1 또는 B2 포유동물 MPV일 수 있다. 그러나, 본 발명의 포유동물 MPV는 여전히 확인하고자 하는 MPV의 또다른 변이체를 포함할 수 있으며, 변이체 A1, A2, B1 또는 B2에 한정되지 않는다. 본 발명의 또다른 실시양태에서, 이종 서열은 돌연변이된 PIV 서열을 비롯한 비천연 PIV 서열이다. 일부 실시양태에서, 이종 서열은 동일하거나 또는 상

이한 바이러스로부터 유래된다.

- [0121] 일 특정 실시양태에서, 본 발명의 바이러스는 인간 메타뉴모바이러스 또는 조류 뉴모바이러스로부터 유래된 이중 뉴클레오티드 서열을 포함하는 재조합 PIV이다. PIV 게놈에 삽입될 이중 서열은 인간 메타뉴모바이러스 변이체 A1, A2, B1 또는 B2의 F, G 및 HN 유전자를 코딩하는 서열, 조류 뉴모바이러스 유형 A, B, C 또는 D의 F, G 및 HN 유전자를 코딩하는 서열, 및 이들의 면역성 및(또는) 항원성 단편을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0122] 일부 실시양태에서, 이중 뉴클레오티드 서열은 바이러스 게놈에 추가된다. 별법의 실시양태에서, 이중 뉴클레오티드 서열은 내인성 뉴클레오티드 서열과 교환된다. 이중 뉴클레오티드 서열은 PIV 게놈의 다양한 위치에서, 예를 들면 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 위치에서 추가되거나 또는 삽입될 수 있다. 일 바람직한 실시양태에서, 이중 뉴클레오티드 서열은 1 위치에서 추가되거나 또는 삽입된다. 또다른 바람직한 실시양태에서, 이중 뉴클레오티드 서열은 2 위치에서 추가되거나 또는 삽입된다. 또다른 바람직한 실시양태에서, 이중 뉴클레오티드 서열은 3 위치에서 추가되거나 또는 삽입된다. 바이러스의 낮은 번호 위치에서의 이중 뉴클레오티드 서열의 삽입 또는 부가는 보다 높은 번호 위치에서의 삽입과 비교하여 일반적으로 보다 강한 이중 뉴클레오티드 서열의 발현을 유발한다. 이는 바이러스의 게놈 전역에서 일어나는 전사 구배 때문이다. 그러나, 바이러스 복제 효율을 또한 고려하여야 한다. 예를 들면, 본 발명의 b/h PIV3 키메라 바이러스에서, 1 위치에서의 이중 유전자의 삽입은 시험관내에서 복제 속도를 지연시키고, 또한 보다 작은 정도로 생체내에서 복제 속도를 지연시킨다 (단락 8, 실시예 3 및 도 5 뿐만 아니라, 단락 26, 실시예 21 참조). 따라서, 낮은 번호 위치에서의 이중 뉴클레오티드 서열의 삽입은 이중 뉴클레오티드 서열의 강한 발현을 목적할 경우 본 발명의 바람직한 실시양태이다. 가장 바람직하게는, 이중 서열의 강한 발현을 목적할 경우, 이중 서열은 b/h PIV3 게놈의 2 위치에서 삽입된다 (단락 5.1.2. 이하 및 단락 8, 실시예 3 참조).
- [0123] 일부 다른 실시양태에서, 재조합 또는 키메라 PIV 게놈은 이중 유전자의 코딩 서열의 종결부와 하류 유전자의 코딩 서열의 개시부 사이의 유전자간 영역이 변경되도록 조작된다. 일부 다른 실시양태에서, 본 발명의 바이러스는 이중 뉴클레오티드 서열이 1, 2, 3, 4, 5 및 6 위치로 이루어진 군으로부터 선택된 한 위치에서 삽입되고 이중 뉴클레오티드 서열 및 이웃하는 하류 유전자 사이의 유전자간 영역이 변경되도록 조작된 재조합 또는 키메라 PIV 게놈을 포함한다. 적절한 검정을 이용하여, 적절한 정도의 유전자 발현 및 바이러스 생장 특성을 달성하기 위한 최선 방식의 삽입 (즉, 삽입 위치 및 유전자간 영역의 길이)을 결정할 수 있다. 상세한 내용은 단락 5.1.2. 이하를 참조하기 바란다.
- [0124] 일부 실시양태에서, 본 발명의 키메라 바이러스는 2개의 상이한 이중 뉴클레오티드 서열을 함유한다. 상이한 이중 뉴클레오티드 서열은 PIV 게놈의 다양한 위치에 삽입될 수 있다. 일 바람직한 실시양태에서, 하나의 이중 뉴클레오티드 서열은 위치 1에서 삽입되고, 또다른 이중 뉴클레오티드 서열은 위치 2 또는 3에서 추가되거나 또는 삽입된다. 본 발명의 다른 실시양태에서, 추가의 이중 뉴클레오티드 서열은 PIV 게놈의 보다 높은 번호 위치에서 삽입된다. 본 발명에 따라, 이중 서열의 위치는 서열이 바이러스 게놈으로부터 전사되는 순서를 칭하며, 예를 들면 위치 1에서의 이중 서열은 게놈으로부터 전사될 제1 유전자 서열이다.
- [0125] 본 발명의 일부 실시양태에서, 본 발명의 바이러스의 게놈에 삽입될 이중 뉴클레오티드 서열은 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 호흡기 합포체 바이러스, 포유동물 메타뉴모바이러스 및 조류 뉴모바이러스를 포함한, 그러나 이에 제한되는 것은 아닌 음성 가닥 RNA로부터 유래된다. 본 발명의 일 특정 실시양태에서, 이중 뉴클레오티드 서열은 인간 메타뉴모바이러스로부터 유래된다. 또다른 특정 실시양태에서, 이중 뉴클레오티드 서열은 조류 뉴모바이러스로부터 유래된다. 보다 구체적으로, 본 발명의 이중 뉴클레오티드 서열은 인간 또는 조류 메타뉴모바이러스의 F, G 또는 SH 유전자 또는 그의 일부분을 코딩한다. 특정 실시양태에서, 이중 뉴클레오티드 서열은 서열 1 내지 서열 5, 서열 14 및 서열 15 중 임의의 것일 수 있다 (표 16 참조). 일부 특정 실시양태에서, 뉴클레오티드 서열은 서열 6 내지 서열 13, 서열 16 및 서열 17 중 임의의 하나의 단백질을 코딩한다 (표 16 참조). 일부 특정 실시양태에서, 뉴클레오티드 서열은 서열 314 내지 389 중 임의의 것의 단백질을 코딩한다.
- [0126] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 이중 뉴클레오티드 서열은 유형 A 조류 뉴모바이러스로부터 유래된다. 본 발명의 다른 특정 실시양태에서, 본 발명의 이중 뉴클레오티드 서열은 유형 B 조류 뉴모바이러스로부터 유래된다. 본 발명의 다른 특정 실시양태에서, 본 발명의 이중 뉴클레오티드 서열은 유형 C 조류 뉴모바이러스로부터 유래된다. 계통 분석은 유형 A 및 유형 B가 유형 C와 관련된 것보다 이들이 서로 보다 밀접하게 관련되어 있다는 것을 나타낸다 (Seal, 2000, Animal Health Res. Rev. 1(1): 67-72). 유형 A 및 유형 B는 유럽에서 발

견된 데 반면, 유형 C는 미국에서 처음 단리되었다.

[0127] 본 발명의 또다른 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열은 키메라 폴리펩티드를 코딩하며, 여기서 엑토도메인은 벡터 골격이 유래되는 PIV의 중 이외의 바이러스로부터 유래된 항원 서열을 함유하고, 막횡단 및 루미날 도메인은 PIV 서열로부터 유래된다. 생성된 키메라 바이러스는 선택된 음성 가닥 RNA 바이러스의 항원성을 부여하고 약독된 표현형을 가질 것이다.

[0128] 본 발명의 일 특정 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열은 키메라 F 단백질을 코딩한다. 특히, 인간 메타뉴모바이러스 또는 조류 뉴모바이러스 및 막횡단 도메인 뿐만 아니라 루미날 도메인이 인간 또는 소 파라인플루엔자 바이러스와 같은 파라인플루엔자 바이러스의 막횡단 및 루미날 도메인이도록, 키메라 F 단백질의 엑토도메인은 메타뉴모바이러스의 엑토도메인이다. 임의의 이론에 얽매임없이, 키메라 F 단백질의 삽입은 의도된 숙주 중의 바이러스를 추가로 약독시킬 수 있으나, 그의 엑토도메인에 의해 기인된 F 단백질의 항원성을 유지할 수 있다.

[0129] 본 발명의 키메라 바이러스는 백신 제제에 사용되어, 뉴모바이러스 감염, 호흡기 합포체 바이러스 감염, 파라인플루엔자 바이러스 감염, 인플루엔자 바이러스 감염 또는 이들의 복합 감염을 포함한, 그러나 이에 제한되는 것은 아닌 각종 감염을 예방할 수 있다. 본 발명은 2가 및 3가 백신을 포함한, 하나 이상의 이중 항원 서열을 발현하는 키메라 PIV를 포함하는 백신 제제를 제공한다. 본 발명의 2가 및 3가 백신은 각 이중 항원 서열을 발현하는 하나의 PIV 벡터의 형태로, 또는 각각 상이한 이중 항원 서열을 코딩하는 2개 이상의 PIV 벡터의 형태로 투여될 수 있다. 바람직하게는, 이중 항원 서열은 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 호흡기 합포체 바이러스 (RSV), 포유동물 메타뉴모바이러스 (예를 들면, 인간 메타뉴모바이러스) 및 조류 뉴모바이러스를 포함한, 그러나 이에 제한되는 것은 아닌 음성 가닥 RNA 바이러스로부터 유래된다. 따라서, 본 발명의 키메라 비리온은 예를 들면 항-인간 인플루엔자 백신, 항-인간 파라인플루엔자 백신, 항-인간 RSV 백신 및 항-인간 메타뉴모바이러스 백신을 생성하도록 조작될 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 백신 제제는 생육할 수 있고 감염성인 약독된 키메라 바이러스를 포함한다. 본 발명의 백신 제제는 단독으로 또는 다른 백신 또는 다른 예방제 또는 치료제와 조합되어 투여될 수 있다.

[0130] 본 발명은 또한 폭넓은 범위의 바이러스에 대한 백신 및(또는) 종양 항원을 비롯한 항원에 대한 백신을 제조하기 위한 바이러스 벡터 및 키메라 바이러스의 용도에 관한 것이다. 본 발명의 바이러스 벡터 및 키메라 바이러스는 체액 면역 반응 또는 세포 면역 반응을 자극함으로써, 또는 항원에 대한 내성을 자극함으로써 대상체의 면역계를 조절할 수 있다. 본원에서 사용되는 대상체란 인간, 영장류, 말, 암소, 양, 돼지, 염소, 개, 고양이, 설치류 및 조류 중의 구성원을 지칭한다. 종양 항원을 전달할 때, 본 발명을 사용하여, 작은 크기의 충실성 종양 또는 비-충실성 (non-solid) 종양과 같은 면역 반응 매개 거부제에 따른 질병을 가진 대상체를 치료할 수 있다. 또한, 본원에 기재되어 있는 바이러스 벡터 및 키메라 바이러스에 의한 종양 항원의 전달은 큰 충실성 종양의 제거에 이은 치료에 유용할 것이라 생각된다. 본 발명은 또한 암에 걸린 것으로 의심되는 대상체를 치료하는데 사용될 수 있다.

[0131] 본 발명은 한정을 위해서가 아닌 단지 예시의 목적으로 다음 단계로 나눌 수 있다. (a) 재조합 cDNA 및 RNA 주형의 구축, (b) 재조합 cDNA 및 RNA 주형을 사용한 이중 유전자 생성물의 발현, 및 (c) 재조합 바이러스 입자 중의 이중 유전자의 구제.

[0132] 5.1 재조합 cDNA 및 RNA의 구축

[0133] 본 발명은 소 파라인플루엔자 바이러스 및 포유동물 파라인플루엔자 바이러스 모두를 비롯한 파라인플루엔자 바이러스의 게놈으로부터 유래된 바이러스 벡터에 의해 코딩된 재조합 또는 키메라 바이러스를 포함한다. 본 발명에 따라, 재조합 바이러스는 내인성 또는 천연 게놈 서열 또는 비천연 게놈 서열에 의해 코딩되는 소 파라인플루엔자 바이러스 또는 포유동물 파라인플루엔자 바이러스로부터 유래된 것이다. 본 발명에 따라, 비천연 서열은 표현형 변화를 일으킬 수 있거나 또는 표현형 변화를 일으키지 않을 수 있는 게놈 서열의 점 돌연변이, 재배열, 삽입, 결실 등을 포함한, 그러나 이에 제한되는 것은 아닌 하나 이상의 돌연변이 때문에 천연 또는 내인성 게놈 서열과는 상이한 것이다. 본 발명의 재조합 바이러스는 소 및 포유동물 파라인플루엔자 바이러스 모두를 비롯한 파라인플루엔자 바이러스의 게놈으로부터 유래된 바이러스 벡터에 의해 코딩된 재조합 바이러스를 포함하며, 바이러스 게놈 고유의 것이 아닌 핵산을 포함할 수 있거나 또는 포함하지 않을 수 있다. 본 발명에 따라, 파라인플루엔자 바이러스의 게놈으로부터 유래되는 바이러스 벡터는 파라인플루엔자 바이러스의 하나의 ORF의 적어도 일부분을 코딩하는 핵산 서열을 함유하는 것이다.

- [0134] 본 발명은 또한 백신 제제에 사용하기에 보다 적합한 표현형, 예를 들면 약독된 표현형 또는 증강된 항원성을 갖는 바이러스를 생성시키는 서열을 함유하는 소 및(또는) 포유동물 PIV 계놈으로부터 유래된 바이러스 벡터를 포함하는 재조합 바이러스를 포함한다. 돌연변이 및 변형이 코딩 영역에, 또는 유전자간 영역에, 그리고 바이러스의 선단 및 말단 서열에 있을 수 있다.
- [0135] 본 발명에 따라, 본 발명의 바이러스 벡터는 포유동물 파라인플루엔자 바이러스, 특히 인간 파라인플루엔자 바이러스 (hPIV)의 계놈으로부터 유래된다. 본 발명의 특별한 실시양태에서, 바이러스 벡터는 인간 파라인플루엔자 바이러스 유형 3 계놈으로부터 유래된다. 본 발명에 따라, 이들 바이러스 벡터는 바이러스 계놈 고유의 것이 아닌 핵산을 포함할 수 있거나 또는 포함하지 않을 수 있다.
- [0136] 본 발명에 따라, 본 발명의 바이러스 벡터는 소 파라인플루엔자 바이러스 (bPIV)의 계놈으로부터 유래된다. 본 발명의 특별한 실시양태에서, 바이러스 벡터는 소 파라인플루엔자 바이러스 유형 3의 계놈으로부터 유래된다. 본 발명에 따라, 이들 바이러스 벡터는 바이러스 계놈 고유의 것이 아닌 핵산을 포함할 수 있거나 또는 포함하지 않을 수 있다.
- [0137] 본 발명에 따라, 키메라 바이러스는 이중 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함하는 재조합 bPIV 또는 hPIV이다. 본 발명에 따라, 키메라 바이러스는 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩될 수 있으며, 이중 뉴클레오타이드 서열이 계놈에 부가되거나 내인성 또는 천연 뉴클레오타이드 서열이 이중 뉴클레오타이드 서열과 대체된다. 본 발명에 따라, 키메라 바이러스는 이중 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함하는 본 발명의 바이러스 벡터에 의해 코딩된다. 본 발명에 따라, 키메라 바이러스는 바이러스 계놈 고유의 것이 아닌 핵산을 포함할 수 있거나 포함하지 않을 수 있는 바이러스 벡터에 의해 코딩된다. 본 발명에 따라, 키메라 바이러스는 이중 뉴클레오타이드 서열이 부가되거나 삽입되거나 천연 또는 비천연 서열로 치환되는 바이러스 벡터에 의해 코딩된다.
- [0138] 키메라 바이러스는 특히 2종 이상의 바이러스로부터 보호하는 재조합 백신의 생성을 위해 사용될 수 있다 (Tao et al., J. Virol. 72, 2955-2961; Durbin et al., 2000, J. Virol. 74, 6821-6831; Skiadopoulos et al., 1998, J. Virol. 72, 1762-1768 (1998); Teng et al., 2000, J. Virol. 74, 9317-9321). 예를 들면, 또다른 음성 가닥 RNA 바이러스, 예를 들면 MPV의 하나 이상의 단백질을 발현하는 hPIV 또는 bPIV 바이러스 벡터, 또는 MPV의 하나 이상의 단백질을 발현하는 RSV 벡터는 이러한 벡터를 백신접종한 개개인을 상기 두가지 바이러스 감염으로부터 보호할 것이라는 것을 예견할 수 있다. 다른 파라믹소바이러스에 대해서도 유사하게 예견할 수 있다. 약독되고 복제 결합성 바이러스는 다른 바이러스에 대해 제안한 바와 같이 생독백신으로의 백신접종 목적을 위해 사용될 수 있다 (본원에 참조 문헌으로 인용된 국제 특허 출원 공보 제02/057302호 중 제6면 및 제23면 참조).
- [0139] 본 발명에 따라, 본 발명의 재조합 또는 키메라 바이러스를 코딩하는 바이러스 벡터 내로 혼입될 이중은 메타뉴모바이러스의 상이한 종으로부터 얻어지거나 유래된 서열, 조류 뉴모바이러스의 종으로부터 얻어지거나 유래된 서열, 및 RSV, PIV, 인플루엔자 바이러스를 포함한, 그러나 이에 제한되는 것은 아닌 다른 음성 가닥 RNA 바이러스의 가닥으로부터 얻어지거나 또는 유래된 서열, 및 모르빌리바이러스를 포함한 다른 바이러스의 가닥으로부터 얻어지거나 또는 유래된 서열을 포함한다.
- [0140] 본 발명의 일부 실시양태에서, 본 발명의 키메라 또는 재조합 바이러스는 바이러스 계놈으로부터 유래된 바이러스 벡터에 의해 코딩되며, 여기서 하나 이상의 서열, 유전자간 영역, 말단 서열, 또는 ORF 부분 또는 전부가 이중 또는 비천연 서열로 치환된다. 본 발명의 일부 실시양태에서, 본 발명의 키메라 바이러스는 바이러스 계놈으로부터 유래되며 하나 이상의 이중 서열이 벡터에 부가된 바이러스 벡터에 의해 코딩된다.
- [0141] 본 발명의 특정 실시양태는 파라인플루엔자 바이러스 계놈으로부터 유래된 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩된 골격을 포함하는 키메라 바이러스이다. 일 바람직한 실시양태에서, PIV 계놈은 bPIV3의 칸사스 종과 같은 소 PIV로부터 유래되거나 또는 인간 PIV로부터 유래된다. 일 바람직한 실시양태에서, PIV 계놈은 소 파라인플루엔자 바이러스 뉴클레오타이드 서열이 이중 서열로 치환되거나 또는 이중 서열이 완전 bPIV 계놈에 부가된 bPIV3의 칸사스 종으로부터 유래된다. 본 발명의 추가의 특정 실시양태는 인간 파라인플루엔자 바이러스 뉴클레오타이드 서열이 이중 서열로 치환되거나 또는 이중 서열이 완전 hPIV 계놈에 부가된 인간 파라인플루엔자 바이러스 유형 3 계놈으로부터 유래된 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩된 골격을 포함하는 키메라 바이러스이다. 본 발명의 추가의 특정 실시양태는 bPIV3의 칸사스 종과 같은 소 파라인플루엔자 바이러스 계놈으로부터 유래된 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩된 골격을 포함하는 키메라 바이러스이며, 여기서 (a) 소 파라인플루엔자 바이러스 F 유전자 및 NH 유전자는 인간 파라인플루엔자 바이러스 (bPIV/hPIV)의 F 유전자 및 HN 유전자로 치환되며, (b) 이중 서

열은 완전 bPIV 게놈에 추가된다.

[0142] 본 발명은 또한 이중 서열 이외에, 돌연변이 또는 변형을 함유하는 bPIV, hPIV 또는 bPIV/hPIV 게놈으로부터 유래된 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩된 골격을 포함하는 키메라 바이러스를 포함하며, 이와 같이 코딩된 골격을 포함함으로써 키메라 바이러스는 백신 제제에 사용하기에 보다 적합한 표현형, 예를 들면 약독된 표현형 또는 증강된 항원성을 갖게 된다. 본 발명의 상기 특정 실시양태에 따라, 소 PIV3 골격과 관련한 이중 서열은 bPIV3에 이중인 임의의 서열일 수 있다.

[0143] 본 발명의 또다른 특정 실시양태는 인간 PIV 1, 2 또는 3으로부터 유래된 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩된 골격을 포함하는 키메라 바이러스이며, 여기서 hPIV 뉴클레오타이드 서열은 이중 서열로 치환되거나 또는 이중 서열은 완전 hPIV 게놈에 추가되되, 단 생성된 키메라 바이러스는 헤마글루티닌-뉴라미니다제 및 융합 당단백질이 hPIV1의 것으로 대체되는 키메라 hPIV3가 아니다. 본 발명은 또한 백신 제제에 사용하기에 보다 적합한 표현형, 예를 들면 약독된 표현형 또는 증강된 항원성을 갖는 키메라 바이러스를 유발하는, 이중 서열 이외에, 돌연변이 또는 변형을 함유하는 hPIV 게놈으로부터 유래된 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩된 골격을 포함하는 키메라 바이러스를 포함한다.

[0144] 바이러스 중합효소 결합 부위/프로모터의 상보체, 예를 들면 본 발명의 3'-PIV 바이러스 말단의 상보체 또는 3'- 및 5'-PIV 바이러스 말단 둘다의 상보체에 의해 플랭킹된 이중 유전자 코딩 서열은 당업계에 공지되어 있는 기법을 사용하여 구축할 수 있다. 생성된 RNA 주형은 음극성일 수 있고, 바이러스 RNA-합성 장치가 주형을 인지하게 하는 적절한 말단 서열을 함유할 수 있다. 별법으로, 바이러스 RNA 합성 장치가 주형을 인지하게 하는 적절한 말단 서열을 함유하는 양극성 RNA 주형을 또한 사용할 수 있다. 이들 하이브리드 서열을 함유하는 재조합 DNA 분자는, 바이러스 중합효소 인지 및 활성을 허용하는 적절한 바이러스 서열을 소유하는 재조합 RNA 주형을 시험관내 또는 생체내에서 생성하기 위해, 박테리오파지 T7 중합효소, T3 중합효소와 같은 DNA 지정 RNA 중합효소, SP6 중합효소, 또는 중합효소 I 등과 같은 진핵 중합효소에 의해 클로닝되고 전사될 수 있다.

[0145] 일 실시양태에서, 본 발명의 PIV 벡터는 항원 폴리펩티드 및 펩티드를 코딩하는 1개, 2개 또는 3개의 이중 서열을 발현한다. 일부 실시양태에서, 이중 서열은 동일한 바이러스 또는 상이한 바이러스로부터 유래된다. 일정 실시양태에서, 동일한 이중 뉴클레오타이드 서열의 1개 초과 카피가 소 파라인플루엔자 바이러스, 인간 파라인플루엔자 바이러스 또는 bPIV/hPIV 키메라 벡터의 게놈에 삽입된다. 일 바람직한 실시양태에서, 동일한 이중 펩티드 서열의 2개의 카피가 본 발명의 바이러스의 게놈에 삽입된다. 일부 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열이 인간 메타뉴모바이러스 또는 조류 뉴모바이러스와 같은 메타뉴모바이러스로부터 유래된다. 특정 실시양태에서, 메타뉴모바이러스로부터 유래된 이중 뉴클레오타이드 서열은 메타뉴모바이러스의 F 유전자이다. 다른 특정 실시양태에서, 메타뉴모바이러스로부터 유래된 이중 뉴클레오타이드 서열은 메타뉴모바이러스의 G 유전자이다. 일부 다른 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열은 호흡기 합포체 바이러스로부터 유래된다. 특정 실시양태에서, 호흡기 합포체 바이러스로부터 유래된 이중 뉴클레오타이드 서열은 호흡기 합포체 바이러스의 F 유전자이다. 다른 특정 실시양태에서, 호흡기 합포체 바이러스로부터 유래된 이중 뉴클레오타이드 서열은 호흡기 합포체 바이러스의 G 유전자이다. 하나 이상의 이중 뉴클레오타이드 서열이 삽입될 경우, 삽입 위치 및 삽입된 카피의 유전자간 영역의 길이는 단락 5.1.2. 이하의 내용에 따라 여러 검정에 의해 조정되고 결정될 수 있다.

[0146] 특정 실시양태에서, 키메라 바이러스 또는 발현 생성물의 복구는 숙주 세포가 키메라 cDNA 또는 RNA 구조물에 의해 형질감염된 숙주 세포 시스템에서 역 유전체에 의해 달성될 수 있다. 본 발명의 RNA 주형은 DNA-지시된 RNA 중합효소에 의한 적합한 DNA 서열의 전사에 의해 제조된다. 본 발명의 RNA 주형은 DNA-지시된 RNA 중합효소, 예컨대 박테리오파지 T7 중합효소, T3 중합효소, SP6 중합효소, 또는 진핵 중합효소, 예컨대 중합효소 I을 사용하여 적합한 DNA 서열의 전사에 의해 시험관내에서 또는 생체내에서 제조될 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 RNA 주형은 문헌 [Hoffmann et al., 2000, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97: 6108-6113]에 기재된 플라스미드에 기초한 발현 시스템 또는 문헌 [Hoffmann and Webster, 2000, J. Gen. Virol. 81: 2843-2847]에 기재된 단방향 RNA 중합효소 I- 중합효소 II 전사 시스템을 사용하여 적합한 DNA 서열의 전사에 의해 시험관내에서 또는 생체내에서 제조될 수 있다. 얻어지는 음극성의 RNA 주형은 바이러스성 RNA-합성 장치가 주형을 인식할 수 있게 하는 적합한 말단 서열을 함유한다. 별법으로, 적합한 말단 서열을 함유하고, 바이러스성 RNA-합성 장치가 주형을 인식할 수 있게 하는 양극성 RNA 주형을 사용할 수도 있다. 양극성 RNA 주형으로부터의 발현은 DNA-의존성 RNA 중합효소에 의해 인식되는 프로모터를 갖는 플라스미드의 형질감염에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, T7 프로모터의 조절하에서 양성 RNA 주형을 코딩하는 플라스미드 DNA가 우두 바이러스 또는 조류독스 T7 시스템과 함께 사용될 수 있다.

[0147] 비시스트론(bicistronic) mRNA는 바이러스 서열 번역의 내부 개시를 허용하고, 정규 말단 개시 부위로부터 외래 단백질 코딩 서열의 발현 또는 그 반대를 가능하게 하도록 구성될 수 있다. 별법으로, 외래 단백질은 전사 유닛이 개시 부위 및 폴리아데닐화 부위를 갖는 내부 전사 유닛으로부터 발현될 수 있다. 다른 실시양태에서, 얻어지는 발현 단백질이 융합 단백질이 되도록 외래 유전자가 PIV 유전자에 삽입된다.

[0148] 특정 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 바이러스를 포함하는 3가 백신에 관한 것이다. 구체적인 실시양태에서, 3가 백신에 사용되는 바이러스는 호흡기 합포체 바이러스로부터 유도된 제1 이중 뉴클레오타이드 서열, 및 메타뉴모바이러스, 예컨대 인간 메타뉴모바이러스 또는 조류 뉴모바이러스로부터 유도된 제2 이중 뉴클레오타이드를 함유하는 키메라 소 파라인플루엔자 3형/인간 파라인플루엔자 3형 바이러스이다. 예시적 실시양태에서, 이러한 3가 백신은 인간 파라인플루엔자 바이러스의 F 유전자 및 HN 유전자의 유전자 생성물; (b) 호흡기 합포체 바이러스로부터 유도된 이중 뉴클레오타이드 서열에 의해 코딩된 단백질; 및 (c) 메타뉴모바이러스로부터 유도된 이중 뉴클레오타이드 서열로 코딩된 단백질에 특이적이다. 바람직한 실시양태에서, 제1 이중 뉴클레오타이드 서열은 호흡기 합포체 바이러스의 F 유전자이고 위치 1에서 삽입되며, 제2 이중 뉴클레오타이드 서열은 인간 메타뉴모바이러스의 F 유전자이고 위치 3에서 삽입된다. 더 많은 조합이 본 발명에 포함되며, 일부를 하기 표 1에 예시적으로 나타내었다. 다른 조합으로는, 조류 뉴모바이러스의 F 또는 G 유전자가 사용될 수 있다. 또한, 키메라 F 단백질을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열이 사용될 수도 있다 (상기 참조). 일부 덜 바람직한 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열은 바이러스 게놈의 더 높은 번호의 위치에서 삽입될 수 있다.

표 1

[0149]

3가 백신에 사용되는 바이러스에서 이중 뉴클레오타이드 서열의 예시적 배열			
조합	위치 1	위치 2	위치 3
1	hMPV의 F-유전자	RSV의 F-유전자	-
2	RSV의 F-유전자	hMPV의 F-유전자	-
3	-	hMPV의 F-유전자	RSV의 F-유전자
4	-	RSV의 F-유전자	hMPV의 F-유전자
5	hMPV의 F-유전자	-	RSV의 F-유전자
6	RSV의 F-유전자	-	hMPV의 F-유전자
7	hMPV의 G-유전자	RSV의 G-유전자	-
8	RSV의 G-유전자	hMPV의 G-유전자	-
9	-	hMPV의 G-유전자	RSV의 G-유전자
10	-	RSV의 G-유전자	hMPV의 G-유전자
11	hMPV의 G-유전자	-	RSV의 G-유전자
12	RSV의 G-유전자	-	hMPV의 G-유전자
13	hMPV의 F-유전자	RSV의 G-유전자	-
14	RSV의 G-유전자	hMPV의 F-유전자	-
15	-	hMPV의 F-유전자	RSV의 G-유전자
16	-	RSV의 G-유전자	hMPV의 F-유전자
17	hMPV의 F-유전자	-	RSV의 G-유전자
18	RSV의 G-유전자	-	hMPV의 F-유전자
19	hMPV의 G-유전자	RSV의 F-유전자	-
20	RSV의 F-유전자	hMPV의 G-유전자	-
21	-	hMPV의 G-유전자	RSV의 F-유전자
22	-	RSV의 F-유전자	hMPV의 G-유전자
23	hMPV의 G-유전자	-	RSV의 F-유전자
24	RSV의 F-유전자	-	hMPV의 G-유전자

[0150] 일부 다른 실시양태에서, 이중 서열과 하류 유전자의 코딩 서열의 출발 사이의 유전자간 영역이 변경될 수 있다. 예를 들어, 표 1에 나열된 각 유전자는 바람직한 길이의 유전자간 영역을 가질 수 있다. 예시적 실시양태에서, 3가 백신은 위치 1에 삽입된 호흡기 합포체 바이러스의 F 유전자를 갖는 b/h PIV3 벡터, 177 뉴클레오타이드의 변경된 유전자간 영역 (본래 하류 N 유전자 출발 코돈 AUG에 대해 75 뉴클레오타이드), 및 천연 유전자간 영역을 갖는 위치 3에 삽입된 인간 메타뉴모바이러스의 F 유전자를 포함한다. 이중 뉴클레오타이드 서열의 각각의 삽입이 이하 단락 5.1.2.에 따라 조작될 수 있는 것과 같이 더 많은 조합이 본 발명에 포함된다.

- [0151] 더 넓은 실시양태에서, 본 발명의 발현 생성물 및 키메라 비리온을 유전자조작하여 자가면역질환에 관여하는 바이러스성 항원, 종양 항원 및 자가 항원을 비롯한 광범위한 병원체에 대한 백신을 생성할 수 있다. 이러한 목적을 달성하는 한가지 방법은 존재하는 PIV 유전자를 변형시켜 그의 각 외부 도메인에 외래 서열을 함유시키는 것을 포함한다. 이중 서열이 병원체의 에피토프 또는 항원인 경우에는 상기 키메라 바이러스를 사용하여 상기 결정자로부터 유도된 질환체에 대한 방어 면역 반응을 유도할 수 있다.
- [0152] 상기 하이브리드 분자를 구성하는 한가지 방법은 이중 뉴클레오타이드 서열을 PIV 게놈의 DNA 상보체, 예를 들어 hPIV, bPIV 또는 bPIV/hPIV에 삽입하여, 이중 서열이 바이러스 중합효소 활성화에 필요한 바이러스 서열, 즉 바이러스 중합효소 결합 부위/프로모터 (이하 바이러스 중합효소 결합 부위로 칭함) 및 폴리아데닐화 부위에 의해 플랭킹되도록 하는 것이다. 바람직한 실시양태에서, 이중 코딩 서열은 5' 및 3' 말단의 복제 프로모터, 유전자 출발 및 유전자 말단 서열, 및 5' 및(또는) 3' 말단에서 발견되는 패키징(packaging) 신호를 포함하는 바이러스 서열에 의해 플랭킹된다. 별도의 방법에서, 바이러스 중합효소 결합 부위를 코딩하는 올리고뉴클레오타이드, 예를 들어 바이러스 게놈 세그먼트의 3'-말단 또는 양 말단 모두의 상보체는 이중 코딩 서열에 라이게이션되어 하이브리드 분자를 구성할 수 있다. 이전에는, 표적 서열내에 외래 유전자의 배치 또는 외래 유전자의 세그먼트는 표적 서열내에 적합한 제한 효소 부위의 존재에 의해 지시되었다. 그러나, 분자 생물학의 최근의 발전은 이러한 문제를 크게 감소시켰다. 제한 효소 부위는 부위-지시된 돌연변이유발의 사용을 통해 표적 서열 내의 어디든지 쉽게 위치할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [the techniques described by Kunkel, 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82; 488]참조). 이하에서 기술하는 중합효소 연쇄 반응(PCR) 기술에서의 변형이 또한 서열의 특이적 삽입 (즉, 제한 효소 부위)을 가능하게 하고, 하이브리드 분자의 용이한 구성을 또한 가능하게 한다. 별법으로, PCR 반응을 사용하여 클로닝없이 재조합 주형을 제조할 수 있다. 예를 들어, PCR 반응을 사용하여 DNA-지시된 RNA 중합효소 프로모터 (예를 들어, 박테리오파지 T3, T7 또는 SP6)를 함유하는 이중 가닥 DNA 분자 및 이중 유전자 및 PIV 중합효소 결합 부위를 함유하는 하이브리드 서열을 제조할 수 있다. 이어서, RNA 주형은 상기 재조합 DNA로부터 바로 전사될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 재조합 RNA 주형은 RNA 리가제를 사용하여 이중 유전자의 음극성을 한정하는 RNA 및 바이러스 중합효소 결합 부위를 한정하는 RNA를 라이게이션하여 제조할 수 있다.
- [0153] 또한, 하나 이상의 뉴클레오타이드를 비번역 영역에서 HN 유전자의 3' 말단에서 첨가하여 성공적인 바이러스 복구에서 중요할 수 있는 "6의 법칙(Rule of Six)"을 고수할 수 있다. "6의 법칙"은 수많은 파라믹소바이러스에 적용되며, 기능적이기 위해서는 RNA 게놈의 뉴클레오타이드의 수가 6의 인수가 되어야 한다. 뉴클레오타이드의 첨가는 퀵체인지(QuikChange) 돌연변이유발 키트 (스트라타젠(Stratagene))와 같은 상업용 돌연변이유발 키트를 사용하는 것과 같은 당업계에 공지된 기술에 의해 달성될 수 있다. 적합한 수의 뉴클레오타이드를 첨가한 후, 올바른 DNA 단편, 예를 들어 hPIV3 F 및 HN 유전자의 DNA 단편이 적합한 제한 효소에 의한 소화 및 겔 정제시 분리될 수 있다. 바이러스 중합효소 활성화에 대한 서열 요구조건 및 본 발명에 따라 사용될 수 있는 구조물을 이하의 소단락에 기술한다.
- [0154] 이론에 얽매임 없이, 여러가지 파라미터가 재조합 바이러스의 복제 속도 및 이중 서열의 발현 수준에 영향을 준다. 특히, bPIV, hPIV, b/h PIV에서 이중 서열의 위치 및 이중서열을 플랭킹하는 유전자간 영역의 길이는 복제 속도 및 이중 서열의 발현 수준을 결정한다.
- [0155] 특정 실시양태에서, 바이러스의 선도(leader) 및(또는) 끌림(trailer) 서열은 야생형 바이러스에 대해 변형된다. 좀더 구체적인 특정 실시양태에서, 선도 및(또는) 끌림의 길이는 변경된다. 다른 실시양태에서, 선도 및(또는) 끌림 서열은 야생형 바이러스에 대해 돌연변이화된다.
- [0156] 본 발명의 재조합 바이러스의 생성은 음성 센스 바이러스 RNA(vRNA) 게놈 부분 또는 전장 카피 또는 그의 상보적 카피(cRNA)에 따른다. 상기 vRNA 또는 cRNA는 감염 바이러스로부터 분리되거나, 시험관내 전사시 생성되거나, 핵산의 형질감염시 세포에 생성될 수 있다. 둘째로, 재조합 음성 가닥 바이러스의 생성은 기능적 중합효소 복합체에 따른다. 전형적으로, 뉴모바이러스의 중합효소 복합체는 N, P, L 및 가능하게는 M2 단백질로 구성되어 있지만, 반드시 이로써 제한되는 것은 아니다.
- [0157] 중합효소 복합체 또는 그의 성분은 바이러스 입자로부터 분리되거나, 하나 이상의 성분을 발현하는 세포로부터 분리되거나, 특정 발현 벡터의 형질감염시 생성된다.
- [0158] MPV의 감염 카피는 상기한 vRNA, cRNA, 또는 이들 RNA를 발현하는 벡터가 상기 중합효소 복합체 16에 의해 복제될 때 얻어질 수 있다 (문헌 [Schnell et al., 1994, EMBO J 13: 4195-4203; Collins et al., 1995, PNAS 92: 11563-11567; Hoffmann et al., 2000, PNAS 97: 6108-6113; Bridgen et al., 1996, PNAS 93: 15400-15404;

Palese et al., 1996, PNAS 93: 11354-11358; Peeters et al., 1999, J. Virol. 73: 5001-5009; Durbin et al., 1997, Virology 235: 323-332]).

- [0159] 본 발명은 본 발명에 따른 핵산 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. PIV의 중합효소 성분 (아마도 N, P, L 및 M2이나, 반드시 이로 제한되지는 않음)을 함유하는 플라스미드 또는 바이러스 벡터는 관련 세포 유형 (박테리아, 곤충 세포, 진핵 세포)에서 성분의 발현을 위해 원핵 세포에 생성된다. PIV 계놈의 전장 또는 부분 카피를 함유하는 플라스미드 또는 바이러스 벡터는 시험관내에서 또는 생체내에서 바이러스 핵산의 발현을 위해 원핵 세포에 생성된다. 바이러스 벡터는 키메라 바이러스 또는 키메라 바이러스 단백질의 생성을 위해 다른 바이러스 서열을 함유할 수 있고, 복제 결손 바이러스의 생성을 위해 바이러스 계놈의 부분이 없을 수 있으며, 독성약화 바이러스의 생성을 위해 돌연변이, 결실 또는 삽입을 함유할 수 있다.
- [0160] PIV의 감염 카피 (야생형, 독성약화, 복제-결손 또는 키메라)는 상기한 당업계의 기술 수준에 따라 중합효소 성분의 동시 발현시에 제조될 수 있다.
- [0161] 또한, 일시적으로 또는 안정적으로 하나 이상의 전장 또는 부분 PIV 단백질을 발현하는 진핵 세포가 사용될 수 있다. 이러한 세포가 형질감염 (단백질 또는 핵산 벡터), 감염 (바이러스 벡터) 또는 도입 (바이러스 벡터)에 의해 만들어질 수 있고, 상기 야생형, 독성약화, 복제-결손 또는 키메라 바이러스의 상보화에 유용할 수 있다.
- [0162] **5.1.1. 삽입되는 이중 유전자 서열**
- [0163] 본 발명은 하나 이상의 이중 서열을 발현하는 재조합 소 또는 인간 파라인플루엔자 바이러스의 유전자조작을 포함하며, 여기서 이중 서열은 바람직하게는 항원성 및(또는) 면역원성인 유전자 생성물 또는 유전자 생성물의 단편을 코딩한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항원성"은 항체 또는 MHC 분자에 결합하는 분자의 능력을 의미한다. 용어 "면역원성"은 숙주에서 면역 반응을 생성하는 분자의 능력을 의미한다.
- [0164] 바람직한 실시양태에서, 삽입되는 이중 뉴클레오타이드 서열은 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 호흡기 합포체 바이러스, 포유동물 메타뉴모바이러스 (예를 들면, 인간 메타뉴모바이러스) 및 조류 뉴모바이러스를 포함하는 (이에 제한되지 않음) 음성 가닥 RNA 바이러스로부터 유도된다. 바람직한 실시양태에서, 삽입되는 이중 서열은 인간 PIV의 F 또는 HN 유전자, RSV의 F 유전자, 인플루엔자 바이러스 A형, B형 또는 C형의 HA 유전자, 인간 MPV의 F 유전자, 조류 뉴모바이러스의 F 유전자, 또는 이들의 면역원성 및(또는) 항원성 단편을 코딩하는 서열을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.
- [0165] 일부 실시양태에서, 삽입되는 이중 뉴클레오타이드 서열은 인간 메타뉴모바이러스 및(또는) 조류 뉴모바이러스로부터 유도된다. 특정 실시양태에서, 삽입되는 이중 뉴클레오타이드 서열은 (a) 인간 메타뉴모바이러스 및 호흡기 합포체 바이러스; 및(또는) (b) 조류 뉴모바이러스 및 호흡기 합포체 바이러스로부터 유도된다.
- [0166] 본 발명의 특정 바람직한 실시양태에서, 삽입되는 이중 뉴클레오타이드 서열은 인간 메타뉴모바이러스 및(또는) 조류 뉴모바이러스로부터의 F 유전자로부터 유도된다. 특정 실시양태에서, F 유전자는 (a) 인간 메타뉴모바이러스 및 호흡기 합포체 바이러스; 및(또는) (b) 조류 뉴모바이러스 및 호흡기 합포체 바이러스로부터 유도된다.
- [0167] 본 발명의 특정 실시양태에서, 삽입되는 이중 뉴클레오타이드 서열은 인간 메타뉴모바이러스 및(또는) 조류 뉴모바이러스로부터 유도된 G 유전자이다. 특정 실시양태에서, G 유전자는 (a) 인간 메타뉴모바이러스 및 호흡기 합포체 바이러스; 및(또는) (b) 조류 뉴모바이러스 및 호흡기 합포체 바이러스로부터 유도된다.
- [0168] 특정 실시양태에서, 인간 메타뉴모바이러스, 조류 뉴모바이러스 및 호흡기 합포체 바이러스로부터 유도된 상이한 F 유전자 및(또는) 상이한 G 유전자의 임의의 조합이 본 발명의 바이러스로 삽입될 수 있으나, 단 모든 실시양태에서 인간 메타뉴모바이러스 또는 조류 뉴모바이러스로부터 유도된 이중 서열이 본 발명의 재조합 파라인플루엔자 바이러스에 적어도 하나 존재한다.
- [0169] 특정 실시양태에서, 삽입되는 뉴클레오타이드 서열은 인간 메타뉴모바이러스로부터 유도된 F 단백질을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다. 특정한 다른 실시양태에서, 삽입되는 뉴클레오타이드 서열은 인간 메타뉴모바이러스로부터 유도된 G 단백질을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다. 또 다른 실시양태에서, 삽입되는 뉴클레오타이드 서열은 조류 뉴모바이러스로부터 유도된 F 단백질을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다. 또 다른 실시양태에서, 삽입되는 뉴클레오타이드 서열은 조류 뉴모바이러스로부터 유도된 G 단백질을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열이다. 단, 본 발명의 모든 실시양태에서, 적어도 하나의 이중 뉴클레오타이드 서열은 메타뉴모바이러스로부터 유도되고, 삽입되는 이중 뉴클레오타이드 서열은 호흡기 합포체 바이러스의 F 단백질 또는 G 단백질을 코딩한다.
- [0170] 특정 실시양태에서, 삽입되는 뉴클레오타이드 서열은 키메라 F 단백질 또는 키메라 G 단백질을 코딩한다. 키메라

F 단백질은 상이한 바이러스, 예컨대 인간 메타뉴모바이러스, 조류 뉴모바이러스 및(또는) 호흡기 합포체 바이러스로부터의 F 단백질 부분을 포함한다. 키메라 G 단백질은 상이한 바이러스, 예컨대 인간 메타뉴모바이러스, 조류 뉴모바이러스 및(또는) 호흡기 합포체 바이러스로부터의 G 단백질 부분을 포함한다. 특정 실시양태에서, F 단백질은 메타뉴모바이러스의 F 단백질의 엑토도메인, 파라인플루엔자 바이러스의 F 단백질의 막횡단 도메인, 및 파라인플루엔자 바이러스의 F 단백질의 루미날(luminal) 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, 삽입되는 핵산은 F 단백질을 코딩하며, 여기서 F 단백질의 막횡단 도메인은 가용성 F 단백질이 발현되도록 결실된다.

[0171] 특정의 구체적인 실시양태에서, 본 발명의 이중 뉴클레오티드 서열은 서열 1 내지 서열 5, 서열 14 및 서열 15 (표 16 참조) 중 임의의 것이다. 특정의 구체적인 실시양태에서, 뉴클레오티드 서열은 서열 6 내지 서열 13, 서열 16 및 서열 17 (표 16 참조) 중 어느 한 단백질을 코딩한다. 특정의 구체적인 실시양태에서, 뉴클레오티드 서열은 서열 314 내지 389 중 임의의 것의 단백질을 코딩한다.

[0172] 호흡기 합포체 바이러스로부터 유도된 이중 뉴클레오티드 서열에 대해서, 본원에 그의 전문이 참고로 포함되는 PCT/US98/20230을 참조한다.

[0173] 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 키메라 바이러스로 발현될 수 있는 이중 유전자 서열은 항원성 에피토프 및 바이러스의 당단백질, 예컨대 인플루엔자 당단백질, 특히 호흡기 질환을 일으키는 헤마글루티닌 H5, H7, 호흡기 합포체 바이러스 에피토프, 뉴캐슬 질환 바이러스 에피토프, 센다이 바이러스 및 감염성 후두기관지염 바이러스 (ILV)를 코딩하는 것을 포함하나 이로써 한정되지 않는다. 가장 바람직한 실시양태에서, 이중 뉴클레오티드 서열은 메타뉴모바이러스, 예컨대 인간 메타뉴모바이러스 및(또는) 조류 뉴모바이러스로부터 유도된다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 키메라 바이러스로 유전자조작될 수 있는 이중 유전자 서열은 바이러스 에피토프 및 바이러스의 당단백질, 예컨대 B형 간염 바이러스 표면 항원, 엡스테인 바 바이러스의 A형 간염 또는 C형 간염 바이러스 표면 당단백질, 인간 유두종 바이러스의 당단백질, 원숭이 바이러스 5 또는 볼거리 바이러스, 웨스트 나일 바이러스, 뎅기 바이러스, 헤르페스 바이러스의 당단백질, 폴리오바이러스의 VPI를 코딩하는 것, 및 인간 면역결핍 바이러스 (HIV), 바람직하게는 1형 또는 2형으로부터 유도된 서열을 포함하나 이로써 한정되지 않는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 키메라 바이러스로 유전자조작될 수 있는 이중 유전자 서열은 마레크병 바이러스(MDV) 에피토프, 감염성 점액낭병 바이러스(IBDV)의 에피토프, 닭 빈혈 바이러스의 에피토프, 감염성 후두기관지염 바이러스(ILV), 조류 인플루엔자 바이러스(AIV), 광견병, 고양이 백혈병 바이러스, 개홍역 바이러스, 수포성 구내염 바이러스, 및 돈두 바이러스의 에피토프를 코딩하는 것을 포함하나 이로써 한정되지 않는다 (본원에서 전문이 참고로 포함되는 문헌 [Fields et al.(ed.), 1991, FUNDAMENTAL VIROLOGY, Second Edition, Raven Press, New York] 참조).

[0174] 본 발명의 다른 이중 서열은 자가면역 질환의 특징인 항원을 코딩하는 것을 포함한다. 상기 항원은 전형적으로 당뇨병, 다발 경화증, 진신성 홍반성 루프스, 류마티스성 관절염, 악성 빈혈, 애디슨병, 공피증, 자가면역 위축성 위염, 소아 당뇨병 및 원반형 홍반성 루프스의 특징적 항원을 포함하는, 포유동물 조직의 세포 표면, 세포질, 핵, 미토콘드리아 등으로부터 유도될 것이다.

[0175] 알러젠 항원은 일반적으로 꽃가루, 먼지, 곰팡이, 포자, 비듬, 곤충 및 식품으로부터 유도된 항원을 포함하는, 단백질 또는 당단백질을 포함한다. 또한, 특징적인 종양 항원인 항원은 전형적으로 종양 조직의 세포의 세포 표면, 세포질, 핵, 세포소기관 등으로부터 유도될 것이다. 예로는 돌연변이된 종양형성 유전자로 코딩된 단백질; 종양과 관련된 바이러스 단백질; 및 당단백질을 포함하는 종양 단백질의 특징적 항원을 포함한다. 종양으로는 입술, 비강인두, 인두 및 구강, 식도, 위, 결장, 직장, 간, 담낭, 췌장, 후두, 폐 및 기관지, 피부 흑색종, 유방, 자궁경부, 자궁, 난소, 방광, 신장, 뇌 및 신경계의 다른 부분, 갑상선, 전립샘, 고환, 호지킨병, 비호지킨 림프종, 다발골수종 및 백혈병 유형의 암으로부터 유도된 것이 포함되나, 이로써 한정되지 않는다.

[0176] 본 발명의 일 특정 실시양태에서, 이중 서열은 인간 면역결핍 바이러스 (HIV), 바람직하게는 인간 면역결핍 바이러스-1 또는 인간 면역결핍 바이러스-2의 계놈으로부터 유도된다. 본 발명의 다른 실시양태에서, 이중 코딩 서열은 PIV 유전자 코딩 서열내에 삽입되어, PIV 바이러스 단백질내 이중 펩티드 서열을 함유하는 키메라 유전자가 발현되도록 할 수 있다. 본 발명의 이러한 실시양태에서, 이중 서열은 인간 면역결핍 바이러스, 바람직하게는 인간 면역결핍 바이러스-1 또는 인간 면역결핍 바이러스-2의 계놈으로부터 유도될 수도 있다.

[0177] 이중 서열이 HIV-유도된 경우, 상기 서열은 env 유전자로부터 유도된 서열 (즉, gp160, gp120 및(또는) gp41의 전부 또는 일부를 코딩하는 서열), pol 유전자로부터 유도된 서열 (즉, 역전사효소, 엔도뉴클레아제, 프로테아제 및(또는) 인테그라제의 전부 또는 일부를 코딩하는 서열), gag 유전자로부터 유도된 서열 (즉, p7, p6, p55,

p17/18, p24/25의 전부 또는 일부를 코딩하는 서열), tat, rev, nef, vif, vpu, vpr 및(또는) vpx 유전자로부터 유도된 서열을 포함하나, 이로써 한정되지 않는다.

[0178] 다른 실시양태에서, 키메라 바이러스로 유전자조작될 수 있는 이중 유전자 서열은 면역강화 활성을 갖는 단백질을 코딩하는 것을 포함한다. 면역강화 단백질의 예로는 사이토킨, 인터페론 1형, 감마 인터페론, 군체 자극 인자 및 인터루킨-1, -2, -4, -5, -6, -12가 포함되나 이로써 한정되지 않는다.

[0179] 또한, 키메라 바이러스로 유전자조작될 수 있는 다른 이중 유전자 서열은 박테리아로부터 유도된 항원, 예컨대 박테리아 표면 당단백질, 진균류로부터 유도된 항원, 및 다양한 기타 병원체 및 기생충으로부터 유도된 항원을 코딩하는 것을 포함한다. 박테리아 병원체로부터 유도된 이중 유전자 서열의 예는 하기 속의 종으로부터 유도된 항원을 코딩하는 것을 포함하나 이로써 한정되지는 않는다: 살모넬라(*Salmonella*), 시겔라(*Shigella*), 클라미디아(*Chlamydia*), 헬리코박터(*Helicobacter*), 예르시니아(*Yersinia*), 보르다텔라(*Bordetella*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 네이세리아(*Neisseria*), 비브리오(*Vibrio*), 해모필루스(*Haemophilus*), 미코플라즈마(*Mycoplasma*), 스트렙토미세스(*Streptomyces*), 트레포네마(*Treponema*), 콕시엘라(*Coxiella*), 에리치아(*Ehrlichia*), 브루셀라(*Brucella*), 스트렙토박실루스(*Streptobacillus*), 푸소스피로체타(*Fusospirocheta*), 스피릴룸(*Spirillum*), 우레아플라즈마(*Ureaplasma*), 스피로차에타(*Spirochaeta*), 미코플라즈마(*Mycoplasma*), 악티노미세테스(*Actinomycetes*), 보렐리아(*Borrelia*), 박테로이데스(*Bacteroides*), 트리코모라스(*Trichomonas*), 브란하멜라(*Branhamella*), 파스테우렐라(*Pasteurella*), 클로스트리디움(*Clostridium*), 코리네박테리움(*Corynebacterium*), 리스테리아(*Listeria*), 바실루스(*Bacillus*), 에리시펠로트릭스(*Erysipelothrix*), 로도코쿠스(*Rhodococcus*), 에스체리치아(*Escherichia*), 클레브시엘라(*Klebsiella*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 엔테로박터(*Enterobacter*), 세르라티아(*Serratia*), 스탕필로코쿠스(*Staphylococcus*), 스트렙토코쿠스(*Streptococcus*), 레지오넬라(*Legionella*), 미코박테리움(*Mycobacterium*), 프로테우스(*Proteus*), 캄필로박터(*Campylobacter*), 엔테로코쿠스(*Enterococcus*), 아시네토박터(*Acinetobacter*), 모르가넬라(*Morganella*), 모락셀라(*Moraxella*), 시트로박터(*Citrobacter*), 리케트시아(*Rickettsia*), 로칠리메아에(*Rochlimae*) 뿐 아니라 박테리아 종, 예컨대 피. 아에루기노사(*P. aeruginosa*); 이. 콜라이(*E. coli*), 피. 세파시아(*P. cepacia*), 에스. 에피데르미스(*S. epidermis*), 이. 파에칼리스(*E. faecalis*), 에스. 뉴모니아스(*S. pneumonias*), 에스. 아우레우스(*S. aureus*), 엔. 메닝기티디스(*N. meningitidis*), 에스. 피오게네스(*S. pyogenes*), 파스테우렐라 물토시다(*Pasteurella multocida*), 트레포네마 팔리둠(*Treponema pallidum*) 및 피.미라빌리스(*P. mirabilis*).

[0180] 병원체 진균류로부터 유도된 이중 유전자 서열의 예는 진균류, 예컨대 그립토크쿠스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*); 발라스토미세스 데르마티티디스(*Blastomyces dermatitidis*); 아이엘로미세스 데르마티티디스(*Aiellomyces dermatitidis*); 히스토플라즈마 캡슐라툼(*Histoplasma capsulatum*); 콕시디오이데스 이미티스(*Coccidioides immitis*); 씨. 알비칸스(*C. albicans*), 씨. 트로피칼리스(*C. tropicalis*), 씨. 파라실로시스(*C. parapsilosis*), 씨. 구일리에르몽디(*C. guilliermondii*) 및 씨. 크루세이(*C. krusei*)를 비롯한 칸디다 종(*Candida species*), 에이. 푸미가투스(*A. fumigatus*), 에이. 팔라부스(*A. flavus*) 및 에이. 니거(*A. niger*)를 비롯한 아스페르길루스 종(*Aspergillus species*), 리조푸스 종(*Rhizopus species*); 리조무코르 종(*Rhizomucor species*); 쿠닝하멜라 종(*Cunninghamella species*); 에이. 삭세내아(*A. saksenaea*), 에이. 무코르(*A. mucor*) 및 에이. 압시디아(*A. absidia*)를 비롯한 아포피소미세스 종(*Apophysomyces species*); 스포로트릭스 쉐키(*Sporotrix schenckii*), 파라코시디오이데스 브라질리엔시스(*Paracoccidioides brasiliensis*); 슈달렌체리아 보이디(*Pseudallescheria boydii*), 토룰롭시스 갈라브라타(*Torulopsis glabrata*); 트리코피톤 종(*Trichophyton species*), 마이크로스포룸 종(*Microsporium species*) 및 데르마토포레스 종(*Dermatophyres species*) 뿐 아니라 병원체로 공지되지 않았거나 이후에 확인된 임의의 다른 효모 또는 곰팡이로부터 유도된 항원을 코딩하는 것을 포함하나, 이로써 한정되지 않는다.

[0181] 마지막으로, 기생충으로부터 유도된 이중 유전자 서열의 예로는 아피콤플렉사 필름(*Apicomplexa phylum*)의 구성원, 예를 들어 바베시아(*Babesia*), 톡소플라즈마(*Toxoplasma*), 플라스모디움(*Plasmodium*), 에이메리아(*Eimeria*), 이소스포라(*Isospora*), 아톡소플라즈마(*Atoxoplasma*), 시스토이소스포라(*Cystoisospora*), 하몬디아(*Hamondia*), 베스니오티아(*Besnotia*), 사르코시스티스(*Sarcocystis*), 프렌켈리아(*Frenkelia*), 해모프로테우스(*Haemoproteus*), 류코시토존(*Leucocytozoon*), 테일러리아(*Theileria*), 페르킨수스(*Perkinsus*) 및 그레가리나 종(*Gregarina spp.*); 슈모시스티스 카리니(*Pneumocystis carinii*); 마이크로스포라 필름(*Microspora phylum*)의 구성원, 예컨대 노세마(*Nosema*), 엔테로시토존(*Enterocytozoon*), 엔세팔리토존(*Encephalitozoon*), 셉타타(*Septata*), 므라제키아(*Mrazekia*), 암블리오스포라(*Amblyospora*), 아메손(*Ameson*), 글루게아(*Glugea*), 플레이스토포라(*Pleistophora*) 및 마이크로스포리디움 종(*Microsporidium spp.*); 및 아스세토스포라 필름

(*Ascetosporea phylum*)의 구성원, 예를 들어, 하플로스포리디움 종(*Haplosporidium spp.*) 뿐 아니라 플라스모디움 팔시파룸(*Plasmodium falciparum*), 피. 비박스(*P. vivax*), 피. 오발레(*P. ovale*), 피. 말라리아(*P. malaria*)를 비롯한 종; 톡소플라즈마 곤디(*Toxoplasma gondii*); 라이쉬마니아 멕시카나(*Leishmania mexicana*), 엘. 트로피카(*L. tropica*), 엘. 메이저(*L. major*), 엘. 에티오피카(*L. aethiopica*), 엘. 도노바니(*L. donovani*), 트리파노소마 크루지(*Trypanosoma cruzi*), 티. 브루세이(*T. brucei*), 쉬스토소마 만소니(*Schistosoma mansoni*), 에스. 헤마토비움(*S. haematobium*), 에스. 자포니움(*S. japonium*), 트리치넬라 스피랄리스(*Trichinella spiralis*); 우체레리아 반크로프티(*Wuchereria bancrofti*); 브루기아 말라일리(*Brugia malayli*); 엔타모에바 히스톨리티카(*Entamoeba histolytica*); 엔테로비우스 베르미쿨로아루스(*Enterobius vermiculoarus*); 테니아 솔리움(*Taenia solium*), 티. 사기나타(*T. saginata*), 트리코모나스 베지나티스(*Trichomonas vaginatis*), 티. 호미니스(*T. hominis*), 티. 테낙스(*T. tenax*); 기아르디아 람블리아(*Giardia lamblia*); 크립토스포리디움 파르븀(*Cryptosporidium parvum*); 슈모시티스 카리니(*Pneumocytis carinii*), 바베시아 보비스(*Babesia bovis*), 비. 디베르겐스(*B. divergens*), 비. 미크로티(*B. microti*), 이소스포라 벨리(*Isospora belli*), 엘. 호미니스(*L. hominis*); 디엔타모에바 프라길리스(*Dientamoeba fragilis*); 온코세르카 볼볼루스(*Onchocerca volvulus*); 아스카리스 룬브리코이데스(*Ascaris lumbricoides*); 네카토 아메리카니스(*Necator americanis*); 안실로스토마 두오데날레(*Ancylostoma duodenale*); 스트롱길로이데스 스테르코칼리스(*Strongyloides stercoralis*); 카필라리아 필리피넨시스(*Capillaria philippinensis*); 안지오스트롱길루스 칸토넨시스(*Angiostrongylus cantonensis*); 히메놀레피스 나나(*Hymenolepis nana*); 디필로보트리움 라툼(*Dipyllobothrium latum*); 에키노코쿠스 그라눌로수스(*Echinococcus granulosus*), 이. 멀티로쿨라리스(*E. multilocularis*); 파라고니무스 웨스테르마니(*Paragonimus westermani*), 피. 칼리엔시스(*P. caliensis*); 클로노르키스 시넨시스(*Chlonorchis sinensis*); 오피스토르키스 펠리네아스(*Opisthorchis felineas*), 지. 비베리니(*G. Viverini*), 파스키올라 헤파티카(*Fasciola hepatica*), 사르콤포테스 스카비에이(*Sarcoptes scabiei*), 페디쿨루스 휴마누스(*Pediculus humanus*); 프티를루스 푸비스(*Phthirus pubis*); 및 데르마토비아 호미니스(*Dermatobia hominis*) 뿐 아니라 병원체로 공지되지 않았거나 이후에 확인된 임의의 다른 기생충으로부터 유도된 항원을 코딩하는 것이 포함되나 이로써 한정되지 않는다.

[0182] 5.1.2. 삽입된 메타뉴모바이러스의 서열

[0183] 본 발명은 포유동물 MPV의 핵산 서열, 포유동물 MPV의 단백질 및 포유동물 MPV의 단백질에 대한 항체에 관한 것이다. 본 발명은 또한 포유동물 MPV의 핵산 서열의 상동체 및 포유동물 MPV의 단백질의 상동체에 관한 것이다. 본 발명은 또한 포유동물 MPV의 단백질 또는 그의 단편, 및 포유동물 MPV로부터 유도된 것이 아닌 하나 이상의 펩티드 또는 단백질을 함유하는 융합 단백질을 코딩하는 핵산 서열에 관한 것이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 융합 단백질은 포유동물 MPV의 단백질 또는 그의 단편, 및 폴리히스티딘 태그와 같은 (그러나, 이에 한정되는 것은 아님) 펩티드 태그를 함유한다. 본 발명은 또한 포유동물 MPV의 단백질 또는 그의 단편, 및 포유동물 MPV로부터 유도된 것이 아닌 하나 이상의 펩티드 또는 단백질을 함유하는 융합 단백질에 관한 것이다. 본 발명은 또한 포유동물 MPV의 단백질을 코딩하는 핵산의 유도체에 관한 것이다. 본 발명은 또한 포유동물 MPV의 단백질의 유도체에 관한 것이다. 유도체는, 단백질의 돌연변이 형태, 예컨대 부가, 결실, 말단절단, 치환 및 역위 (그러나 이에 한정되는 것은 아님)일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 유도체는 또한 단백질의 하나 이상의 도메인이 다른 단백질로부터 유도된 포유동물 MPV의 단백질의 키메라 형태일 수 있다. 유도체는 또한 다른 분자, 예컨대 약물과 공유 결합 또는 비공유 결합된 포유동물 MPV의 단백질의 형태일 수 있다.

[0184] NL/1/00 (또한 00-1)이라 불리는 바이러스 분리주는 변이체 A1의 포유동물 MPV이고, 그의 게놈 서열은 서열 95로 나타내진다. NL/17/00이라 불리는 바이러스 분리주는 변이체 A2의 포유동물 MPV이고, 그의 게놈 서열은 서열 96으로 나타내진다. NL/1/99 (또한 99-1)라 불리는 바이러스 분리주는 변이체 B1의 포유동물 MPV이고, 그의 게놈 서열은 서열 94로 나타내진다. NL/1/94라 불리는 바이러스 분리주는 변이체 B2의 포유동물 MPV이고, 그의 게놈 서열은 서열 97로 나타내진다. 본원에 개시된 서열 목록 및 상응하는 서열은 표 16에 기재되어 있다.

[0185] 포유동물 MPV의 단백질은 N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질 또는 M2-2 단백질 또는 이들의 단편일 수 있다. 포유동물 MPV의 단백질의 단편은 25개 이상의 아미노산, 50개 이상의 아미노산, 75개 이상의 아미노산, 100개 이상의 아미노산, 125개 이상의 아미노산, 150개 이상의 아미노산, 175개 이상의 아미노산, 200개 이상의 아미노산, 225개 이상의 아미노산, 250개 이상의 아미노산, 275개 이상의 아미노산, 300개 이상의 아미노산, 325개 이상의 아미노산, 350개 이상의 아미노산, 375개 이상의 아미노산, 400개 이상의 아미노산, 425개 이상의 아미노산, 450개 이상의 아미노산, 475개 이상의 아미노산, 500개 이상의 아미노산, 750개 이상의 아미노산, 1000개 이상의 아미노산, 1250개 이상의 아미노산, 1500개 이상의 아미노산, 1750개 이상의 아미노산

아미노산, 2000개 이상의 아미노산 또는 2250개 이상의 아미노산 길이일 수 있다. 포유동물 MPV의 단백질의 단편은 25개 이하의 아미노산, 50개 이하의 아미노산, 75개 이하의 아미노산, 100개 이하의 아미노산, 125개 이하의 아미노산, 150개 이하의 아미노산, 175개 이하의 아미노산, 200개 이하의 아미노산, 225개 이하의 아미노산, 250개 이하의 아미노산, 275개 이하의 아미노산, 300개 이하의 아미노산, 325개 이하의 아미노산, 350개 이하의 아미노산, 375개 이하의 아미노산, 400개 이하의 아미노산, 425개 이하의 아미노산, 450개 이하의 아미노산, 475개 이하의 아미노산, 500개 이하의 아미노산, 750개 이하의 아미노산, 1000개 이하의 아미노산, 1250개 이하의 아미노산, 1500개 이하의 아미노산, 1750개 이하의 아미노산, 2000개 이하의 아미노산 또는 2250개 이하의 아미노산 길이일 수 있다.

[0186] 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 APV 타입 C의 N 단백질과 관련된 것보다, 예를 들어 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97 (또한, 서열의 기재에 대해서는 표 16을 참조)의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 N 단백질과 같은, 포유동물 MPV의 N 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 N 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 APV 타입 C의 P 단백질과 관련된 것보다, 예를 들어 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 P 단백질과 같은, 포유동물 MPV의 P 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 P 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 APV 타입 C의 M 단백질과 관련된 것보다, 예를 들어 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 M 단백질과 같은, 포유동물 MPV의 M 단백질과 더 밀접하게 관련된 M 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 APV 타입 C의 F 단백질과 관련된 것보다, 예를 들어 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 F 단백질과 같은, 포유동물 MPV의 F 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 F 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 APV 타입 C의 M2-1 단백질과 관련된 것보다, 예를 들어 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 M2-1 단백질과 같은, 포유동물 MPV의 M2-1 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 M2-1 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 APV 타입 C의 M2-2 단백질과 관련된 것보다, 예를 들어 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 M2-2 단백질과 같은, 포유동물 MPV의 M2-2 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 M2-2 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 APV 타입 C의 임의의 단백질과 관련된 것보다, 예를 들어 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 G 단백질과 같은, 포유동물 MPV의 G 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 G 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 APV 타입 C의 임의의 단백질과 관련된 것보다, 예를 들어 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 SH 단백질과 같은, 포유동물 MPV의 SH 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 SH 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 APV 타입 C의 임의의 단백질과 관련된 것보다, 예를 들어 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 L 단백질과 같은, 포유동물 MPV의 L 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 L 단백질이다.

[0187] 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 N 단백질의 아미노산 서열 (각각의 N 단백질의 아미노산 서열은 서열 366 내지 369에 개시됨; 또한 표 16 참조)과 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 N 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 P 단백질의 아미노산 서열 (각각의 P 단백질의 아미노산 서열은 서열 78 내지 85에 개시됨; 또한 표 16 참조)과 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 P 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 M 단백질의 아미노산 서열 (각각의 M 단백질의 아미노산 서열은 서열 358 내지 361에 개시됨; 또한 표 16 참조)과 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 M 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 F 단백질의 아미노산 서열 (각각의 F 단백질의 아미노산 서열은 서열 18 내지 25에 개시됨; 또한 표 16 참조)과 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 F 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 M2-1 단백질의 아미노산 서열 (각각의 M2-1 단백질의 아미노산 서열은 서열 42 내지 49에 개시됨; 또한 표 16 참조)과 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상

이상 동일한 M2-1 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 M2-2 단백질의 아미노산 서열 (각각의 M2-2 단백질의 아미노산 서열은 서열 50 내지 57에 개시됨; 또한 표 16 참조)과 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 M2-2 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 G 단백질의 아미노산 서열 (각각의 G 단백질의 아미노산 서열은 서열 26 내지 33에 개시됨; 또한 표 16 참조)과 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 G 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 SH 단백질의 아미노산 서열 (각각의 SH 단백질의 아미노산 서열은 서열 86 내지 93에 개시됨; 또한 표 16 참조)과 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 SH 단백질이다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 단백질은 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스 게놈에 의해 코딩된 L 단백질의 아미노산 서열 (각각의 L 단백질의 아미노산 서열은 서열 34 내지 41에 개시됨; 또한 표 16 참조)과 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 L 단백질이다.

[0188] 포유동물 MPV의 단백질의 단편은 단편과 상동성인 단백질의 부분에 걸쳐 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스에 의해 코딩된 상동성 단백질과 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일하다. 특정 예시적 실시양태에서, 본 발명은 F 단백질 및 그의 상동체의 엑토도메인을 함유하는 포유동물 MPV의 F 단백질의 단편을 제공한다. 엑토도메인을 함유하는 F 단백질의 단편의 상동체는 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 바이러스에 의해 코딩된 F 단백질 (각각의 F 단백질의 아미노산 서열은 서열 18 내지 25에 개시됨; 또한 표 16 참조)의 엑토도메인을 함유하는 상응하는 단편과 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일하다.

[0189] 특정 실시양태에서, 본 발명은 아군 A의 포유동물 MPV의 단백질 및 그의 단편을 제공한다. 본 발명은 서열 94 또는 서열 97에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 N 단백질과 관련된 것보다 서열 95 또는 서열 96의 바이러스에 의해 코딩된 N 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 A의 포유동물 MPV의 N 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 94 또는 서열 97에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 G 단백질과 관련된 것보다 서열 95 또는 서열 96의 바이러스에 의해 코딩된 G 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 A의 포유동물 MPV의 G 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 94 또는 서열 97에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 P 단백질과 관련된 것보다 서열 95 또는 서열 96의 바이러스에 의해 코딩된 P 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 A의 포유동물 MPV의 P 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 94 또는 서열 97에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 M 단백질과 관련된 것보다 서열 95 또는 서열 96의 바이러스에 의해 코딩된 M 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 A의 포유동물 MPV의 M 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 94 또는 서열 97에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 F 단백질과 관련된 것보다 서열 95 또는 서열 96의 바이러스에 의해 코딩된 F 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 A의 포유동물 MPV의 F 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 94 또는 서열 97에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 M2-1 단백질과 관련된 것보다 서열 95 또는 서열 96의 바이러스에 의해 코딩된 M2-1 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 A의 포유동물 MPV의 M2-1 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 94 또는 서열 97에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 M2-2 단백질과 관련된 것보다 서열 95 또는 서열 96의 바이러스에 의해 코딩된 M2-2 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 A의 포유동물 MPV의 M2-2 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 94 또는 서열 97에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 SH 단백질과 관련된 것보다 서열 95 또는 서열 96의 바이러스에 의해 코딩된 SH 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 A의 포유동물 MPV의 SH 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 94 또는 서열 97에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 L 단백질과 관련된 것보다 서열 95 또는 서열 96의 바이러스에 의해 코딩된 L 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 A의 포유동물 MPV의 L 단백질을 제공한다.

[0190] 다른 실시양태에서, 본 발명은 아군 B의 포유동물 MPV의 단백질 또는 그의 단편을 제공한다. 본 발명은 서열 95 또는 서열 96에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 N 단백질과 관련된 것보다 서열 94 또는 서열 97의 바이러스에 의해 코딩된 N 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 B의 포유동물 MPV의 N 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 95 또는 서열 96에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 G 단백질과 관련된 것보다 서열 94 또는 서열 97의 바이러스에 의해 코딩된 G 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 B의 포

유동물 MPV의 G 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 95 또는 서열 96에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 P 단백질과 관련된 것보다 서열 94 또는 서열 97의 바이러스에 의해 코딩된 P 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 B의 포유동물 MPV의 P 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 95 또는 서열 96에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 M 단백질과 관련된 것보다 서열 94 또는 서열 97의 바이러스에 의해 코딩된 M 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 B의 포유동물 MPV의 M 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 95 또는 서열 96에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 F 단백질과 관련된 것보다 서열 94 또는 서열 97의 바이러스에 의해 코딩된 F 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 B의 포유동물 MPV의 F 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 95 또는 서열 96에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 M2-1 단백질과 관련된 것보다 서열 94 또는 서열 97의 바이러스에 의해 코딩된 M2-1 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 B의 포유동물 MPV의 M2-1 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 95 또는 서열 96에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 M2-2 단백질과 관련된 것보다 서열 94 또는 서열 97의 바이러스에 의해 코딩된 M2-2 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 B의 포유동물 MPV의 M2-2 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 95 또는 서열 96에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 SH 단백질과 관련된 것보다 서열 94 또는 서열 97의 바이러스에 의해 코딩된 SH 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 B의 포유동물 MPV의 SH 단백질을 제공한다. 본 발명은 서열 95 또는 서열 96에 의해 코딩된 바이러스에 의해 코딩된 L 단백질과 관련된 것보다 서열 94 또는 서열 97의 바이러스에 의해 코딩된 L 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 아군 B의 포유동물 MPV의 L 단백질을 제공한다.

[0191]

본 발명은 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 G 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 G 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 G 단백질과 관련된 것보다 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 G 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B1의 G 단백질을 제공한다. 본 발명은 G 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/99로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B1의 G 단백질 (서열 28)과 66% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B1의 G 단백질을 제공한다. 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 G 단백질은 서열 119 내지 153의 아미노산 서열을 갖는다. 본 발명은 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 N 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 N 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 N 단백질과 관련된 것보다 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 N 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B1의 N 단백질을 제공한다. 본 발명은 N 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/99로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B1의 N 단백질 (서열 72)과 98.5% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B1의 N 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 P 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 P 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 P 단백질과 관련된 것보다 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 P 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B1의 P 단백질을 제공한다. 본 발명은 P 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/99로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B1의 P 단백질 (서열 80)과 96% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B1의 P 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 M 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 M 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 M 단백질과 관련된 것보다 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 M 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B1의 M 단백질을 제공한다. 본 발명은 M 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/99로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B1의 M 단백질 (서열 64)과 동일한 포유동물 MPV 변이체 B1의 M 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 F 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 F 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 F 단백질과 관련된 것보다 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 F 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B1의 F 단백질을 제공한다. 본 발명은 F 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/99로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B1의 F 단백질 (서열 20)과 99% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B1의 F 단백질을 제공한다. 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 F 단백질은 서열 248 내지 327의 아미노산 서열을 갖는다. 본 발명은 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 M2-1 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 M2-1 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 M2-1 단백질과 관련된 것보다 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 M2-1 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B1의 M2-1 단백질을 제공한다. 본 발명은 M2-1 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/99로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B1의 M2-1 단백질 (서열 44)과 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B1의 M2-1 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 M2-2 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 M2-2 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분

리주 NL/1/94의 M2-2 단백질과 관련된 것보다 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 M2-2 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B1의 M2-2 단백질을 제공한다. 본 발명은 M2-2 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/99로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B1의 M2-2 단백질 (서열 52)과 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B1의 M2-2 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 SH 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 SH 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 SH 단백질과 관련된 것보다 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 SH 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B1의 SH 단백질을 제공한다. 본 발명은 SH 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/99로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B1의 SH 단백질 (서열 88)과 83% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B1의 SH 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 L 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 L 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 L 단백질과 관련된 것보다 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 L 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B1의 L 단백질을 제공한다. 본 발명은 L 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/99로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B1의 L 단백질 (서열 36)과 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B1의 L 단백질을 제공한다.

[0192]

본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 G 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 G 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 G 단백질과 관련된 것보다 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 G 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A1의 G 단백질을 제공한다. 본 발명은 G 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A1의 G 단백질 (서열 26)과 66% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A1의 G 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 N 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 N 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 N 단백질과 관련된 것보다 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 N 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A1의 N 단백질을 제공한다. 본 발명은 N 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A1의 N 단백질 (서열 70)과 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A1의 N 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 P 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 P 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 P 단백질과 관련된 것보다 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 P 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A1의 P 단백질을 제공한다. 본 발명은 P 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A1의 P 단백질 (서열 78)과 96% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A1의 P 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 M 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 M 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 M 단백질과 관련된 것보다 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 M 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A1의 M 단백질을 제공한다. 본 발명은 M 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A1의 M 단백질 (서열 62)과 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A1의 M 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 F 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 F 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 F 단백질과 관련된 것보다 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 F 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A1의 F 단백질을 제공한다. 본 발명은 F 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A1의 F 단백질 (서열 18)과 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A1의 F 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 M2-1 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 M2-1 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 M2-1 단백질과 관련된 것보다 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 M2-1 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A1의 M2-1 단백질을 제공한다. 본 발명은 M2-1 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A1의 M2-1 단백질 (서열 42)과 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A1의 M2-1 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 M2-2 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 M2-2 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 M2-2 단백질과 관련된 것보다 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 M2-2 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A1의 M2-2 단백질을 제공한다. 본 발명은 M2-2 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A1의 M2-2 단백질 (서열 50)과 96% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A1의 M2-2 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 SH 단백질, 변이체 A2

의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 SH 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 SH 단백질과 관련된 것보다 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 SH 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A1의 SH 단백질을 제공한다. 본 발명은 SH 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A1의 SH 단백질 (서열 86)과 84% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A1의 SH 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 L 단백질, 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 L 단백질 또는 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 L 단백질과 관련된 것보다 변이체 A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 L 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A1의 L 단백질을 제공한다. 본 발명은 L 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A1의 바이러스의 L 단백질 (서열 34)과 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A1의 L 단백질을 제공한다.

[0193]

본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 G 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 G 단백질, 또는 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 G 단백질과 관련된 것보다 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 G 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A2의 G 단백질을 제공한다. 본 발명은 G 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/17/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A2의 G 단백질 (서열 27)과 66% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A2의 G 단백질을 제공한다. 본 발명은 포유동물 MPV 변이체 A2의 N 단백질이 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 N 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 N 단백질, B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 N 단백질과 관련된 것보다 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 N 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A2의 N 단백질을 제공한다. 본 발명은 N 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/17/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A2의 N 단백질 (서열 71)과 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A2의 N 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 P 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 P 단백질, 또는 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 P 단백질과 관련된 것보다 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 P 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A2의 P 단백질을 제공한다. 본 발명은 P 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/17/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A2의 P 단백질 (서열 79)과 96% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A2의 P 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 M 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 M 단백질, 또는 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 M 단백질과 관련된 것보다 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 M 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A2의 M 단백질을 제공한다. 본 발명은 M 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/17/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A2의 M 단백질 (서열 63)과 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A2의 M 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 F 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 F 단백질, 또는 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 F 단백질과 관련된 것보다 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 F 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A2의 F 단백질을 제공한다. 본 발명은 포유동물 MPV 변이체 A2의 F 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/17/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A2의 F 단백질 (서열 19)과 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A2의 F 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 M2-1 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 M2-1 단백질, 또는 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 M2-1 단백질과 관련된 것보다 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 M2-1 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A2의 M2-1 단백질을 제공한다. 본 발명은 M2-1 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/17/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A2의 M2-1 단백질 (서열 43)과 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A2의 M2-1 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 M2-2 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 M2-2 단백질, 또는 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 M2-2 단백질과 관련된 것보다 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 M2-2 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A2의 M2-2 단백질을 제공한다. 본 발명은 M2-2 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/17/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A2의 M2-2 단백질 (서열 51)과 96% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A2의 M2-2 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 SH 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 SH 단백질, 또는 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 SH 단백질과 관련된 것보다 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 SH 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A2의 SH 단백질을 제공한다. 본 발명은 SH 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/17/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A2의 SH 단백질 (서열 87)과 84% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상

동일한 포유동물 MPV 변이체 A2의 SH 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 L 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 L 단백질, 또는 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 L 단백질과 관련된 것보다 변이체 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 L 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 A2의 L 단백질을 제공한다. 본 발명은 L 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/17/00으로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 A2의 L 단백질 (서열 35)과 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 A2의 L 단백질을 제공한다.

[0194]

본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 G 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 G 단백질, 또는 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 G 단백질과 관련된 것보다 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 G 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B2의 G 단백질을 제공한다. 본 발명은 G 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/94로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B2의 G 단백질 (서열 29)과 66% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B2의 G 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 N 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 N 단백질, 또는 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 N 단백질과 관련된 것보다 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 N 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B2의 N 단백질을 제공한다. 본 발명은 N 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/94로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B2의 N 단백질 (서열 73)과 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B2의 N 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 P 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 P 단백질, 또는 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 P 단백질과 관련된 것보다 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 P 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B2의 P 단백질을 제공한다. 본 발명은 P 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/94로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B2의 P 단백질 (서열 81)과 96% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B2의 P 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 M 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 M 단백질, 또는 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 M 단백질과 관련된 것보다 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 M 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B2의 M 단백질을 제공한다. 본 발명은 M 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/94로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B2의 M 단백질 (서열 65)과 동일한 포유동물 MPV 변이체 B2의 M 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 F 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 F 단백질, 또는 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 F 단백질과 관련된 것보다 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 F 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B2의 F 단백질을 제공한다. 본 발명은 F 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/94로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B2의 F 단백질 (서열 21)과 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B2의 F 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 M2-1 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 M2-1 단백질, 또는 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 M2-1 단백질과 관련된 것보다 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 M2-1 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B2의 M2-1 단백질을 제공한다. 본 발명은 M2-1 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/94로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B2의 M2-1 단백질 (서열 45)과 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B2의 M2-1 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 M2-2 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 M2-2 단백질, 또는 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 M2-2 단백질과 관련된 것보다 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 M2-2 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B2의 M2-2 단백질을 제공한다. 본 발명은 M2-2 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/94로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B2의 M2-2 단백질 (서열 53)과 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B2의 M2-2 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 SH 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 SH 단백질, 또는 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 SH 단백질과 관련된 것보다 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 SH 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B2의 SH 단백질을 제공한다. 본 발명은 SH 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/94로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B2의 SH 단백질 (서열 89)과 84% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 포유동물 MPV 변이체 B2의 SH 단백질을 제공한다. 본 발명은 변이체 B1의 원형, 즉 분리주 NL/1/99의 L 단백질, A1의 원형, 즉 분리주 NL/1/00의 L 단백질, 또는 A2의 원형, 즉 분리주 NL/17/00의 L 단백질과 관련된 것보다 변이체 B2의 원형, 즉 분리주 NL/1/94의 L 단백질과 계통발생학적으로 더 밀접하게 관련된 포유동물 MPV 변이체 B2의 L 단백질을 제공한다. 본 발명은 L 단백질의 아미노산 서열이 원형 NL/1/94로 나타내지는 포유동물 MPV 변이체 B2의 L 단백질 (서열 37)과 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일하거나 또는 동일할 수 있는 포유동물 MPV 변이체 B2의 L

단백질을 제공한다.

- [0195] 몇몇 실시양태에서, 서열 동일성 백분율은 전장 단백질의 정렬을 기준으로 한다. 다른 실시양태에서, 서열 동일성 백분율은 아미노산 서열의 길이가 25개 아미노산, 50개 아미노산, 75개 아미노산, 100개 아미노산, 125개 아미노산, 150개 아미노산, 175개 아미노산, 200개 아미노산, 225개 아미노산, 250개 아미노산, 275개 아미노산, 300개 아미노산, 325개 아미노산, 350개 아미노산, 375개 아미노산, 400개 아미노산, 425개 아미노산, 450개 아미노산, 475개 아미노산, 500개 아미노산, 750개 아미노산, 1000개 아미노산, 1250개 아미노산, 1500개 아미노산, 1750개 아미노산, 2000개 아미노산 또는 2250개 아미노산일 수 있는, 단백질의 인접 아미노산 서열의 정렬을 기준으로 한다.
- [0196] 본 발명은 또한 포유동물 MPV로부터 유래된 핵산 서열을 제공한다. 본 발명은 또한 포유동물 MPV로부터 유래된 핵산 서열의 유도체를 제공한다. 몇몇 특정 실시양태에서, 상기 핵산은 변형된다.
- [0197] 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 핵산은 상기에서 정의된 포유동물 MPV의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질을 코딩한다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 핵산은 상기에서 정의된 포유동물 MPV의 아군 A의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질을 코딩한다. 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 G 유전자는 서열 98 내지 132의 뉴클레오티드 서열을 갖는다. 특정 실시양태에서, 포유동물 MPV의 F 유전자는 서열 168 내지 247의 뉴클레오티드 서열을 갖는다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 핵산은 상기에서 정의된 포유동물 MPV의 아군 B의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질을 코딩한다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 핵산은 상기에서 정의된 포유동물 MPV의 변이체 A1의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질을 코딩한다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 핵산은 상기에서 정의된 포유동물 MPV의 변이체 A2의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질을 코딩한다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 핵산은 상기에서 정의된 포유동물 MPV의 변이체 B1의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질을 코딩한다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 핵산은 상기에서 정의된 포유동물 MPV의 변이체 B2의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질을 코딩한다.
- [0198] 몇몇 실시양태에서, 본 발명은 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 뉴클레오티드 서열과 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일한 뉴클레오티드 서열을 제공한다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 핵산 서열은 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 뉴클레오티드 서열의 단편과 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 99.5% 이상 동일하고, 상기 단편의 길이는 25개 이상의 뉴클레오티드, 50개 이상의 뉴클레오티드, 75개 이상의 뉴클레오티드, 100개 이상의 뉴클레오티드, 150개 이상의 뉴클레오티드, 200개 이상의 뉴클레오티드, 250개 이상의 뉴클레오티드, 300개 이상의 뉴클레오티드, 400개 이상의 뉴클레오티드, 500개 이상의 뉴클레오티드, 750개 이상의 뉴클레오티드, 1,000개 이상의 뉴클레오티드, 1,250개 이상의 뉴클레오티드, 1,500개 이상의 뉴클레오티드, 1,750개 이상의 뉴클레오티드, 2,000개 이상의 뉴클레오티드, 3,000개 이상의 뉴클레오티드, 4,000개 이상의 뉴클레오티드, 5,000개 이상의 뉴클레오티드, 7,500개 이상의 뉴클레오티드, 10,000개 이상의 뉴클레오티드, 12,500개 이상의 뉴클레오티드 또는 15,000개 이상의 뉴클레오티드이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 핵산 서열은 서열 98 내지 132; 서열 168 내지 247; 서열 22 내지 25; 서열 30 내지 33; 서열 38 내지 41; 서열 46 내지 49; 서열 54 내지 57; 서열 58 내지 61; 서열 66 내지 69; 서열 74 내지 77; 서열 82 내지 85; 또는 서열 90 내지 93의 뉴클레오티드 서열 중 하나와 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 98% 이상, 99% 이상, 99.5% 이상 또는 100% 동일하다.
- [0199] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 핵산 서열은 낮은 엄격성(stringency), 중간 엄격성 또는 높은 엄격성 조건하에 서열 94, 서열 95, 서열 96 또는 서열 97의 핵산 서열 중 하나와 혼성화될 수 있다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 핵산 서열은 낮은 엄격성, 중간 엄격성 또는 높은 엄격성 조건하에 서열 98 내지 132; 서열 168 내지 247; 서열 22 내지 25; 서열 30 내지 33; 서열 38 내지 41; 서열 46 내지 49; 서열 54 내지 57; 서열 58 내지 61; 서열 66 내지 69; 서열 74 내지 77; 서열 82 내지 85; 또는 서열 90 내지 93의 핵산 서열 중 하나와 혼성화될 수 있다. 몇몇 실시양태에서, 핵산은 25개 이상의 뉴클레오티드, 50개 이상의 뉴클레오티드, 75개 이상의 뉴클레오티드, 100개 이상의 뉴클레오티드, 150개 이상의 뉴클레오티드, 200개 이상의 뉴클레오티드

드, 250개 이상의 뉴클레오타이드, 300개 이상의 뉴클레오타이드, 400개 이상의 뉴클레오타이드, 500개 이상의 뉴클레오타이드, 750개 이상의 뉴클레오타이드, 1,000개 이상의 뉴클레오타이드, 1,250개 이상의 뉴클레오타이드, 1,500개 이상의 뉴클레오타이드, 1,750개 이상의 뉴클레오타이드, 2,000개 이상의 뉴클레오타이드, 3,000개 이상의 뉴클레오타이드, 4,000개 이상의 뉴클레오타이드, 5,000개 이상의 뉴클레오타이드, 7,500개 이상의 뉴클레오타이드, 10,000개 이상의 뉴클레오타이드, 12,500개 이상의 뉴클레오타이드 또는 15,000개 이상의 뉴클레오타이드 길이에 걸쳐 서열 94, 서열 95, 서열 96, 또는 서열 97의 뉴클레오타이드 서열과 혼성화된다.

[0200] 본 발명은 또한 포유동물 MPV의 단백질에 특이적으로 결합하는 항체 및 항원-결합 단편을 제공한다. 본 발명의 항체는 포유동물 MPV의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질에 특이적으로 결합한다. 특정 실시양태에서, 상기 항체는 인간 항체 또는 인간화 항체이다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 항체는 포유동물 MPV의 아군 A의 바이러스의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질에 특이적으로 결합한다. 몇몇 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체는 포유동물 MPV의 아군 B의 바이러스의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질에 특이적으로 결합한다. 몇몇의 보다 특정한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 포유동물 MPV의 변이체 A1의 바이러스의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질에 특이적으로 결합한다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체는 포유동물 MPV의 아군 A2의 바이러스의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질에 특이적으로 결합한다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 항체는 포유동물 MPV의 아군 B1의 바이러스의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질에 특이적으로 결합한다. 몇몇 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체는 포유동물 MPV의 아군 B2의 바이러스의 G 단백질, N 단백질, P 단백질, M 단백질, F 단백질, M2-1 단백질, M2-2 단백질, SH 단백질 또는 L 단백질에 특이적으로 결합한다.

[0201] 5.1.3. 이중 유전자 서열의 삽입

[0202] 본 발명의 바이러스 벡터에 외래 유전자 서열을 삽입하는 것은 바이러스 코딩 영역을 이중 서열로 완전히 또는 부분적으로 대체하거나, 또는 바이러스 게놈에 이중 뉴클레오타이드 서열을 부가하여 수행할 수 있다. 완전한 대체는 PCR에 의한 돌연변이유발을 이용하여 수행하는 것이 최선일 것이다. 간단히, PCR-프라이머 A는 5'에서 3' 말단으로 유일한 제한 효소 부위, 예컨대 클래스 IIS 제한 효소 부위 (즉, 특정 서열을 인지하지만, 그 서열의 상류 또는 하류의 DNA를 자르는 "쉬프터(shifters)" 효소); PIV 유전자 영역에 상보적인 뉴클레오타이드 범위; 및 이중 서열의 카복시 말단 코딩 영역에 상보적인 뉴클레오타이드 범위를 함유한다. PCR-프라이머 B는 5'에서 3' 말단으로 유일한 제한 효소 부위; PIV 유전자에 상보적인 뉴클레오타이드 범위; 및 외래 유전자의 5' 코딩 부분에 상응하는 뉴클레오타이드 범위를 함유한다. 외래 유전자의 클론 복제물과 함께 상기 프라이머를 사용한 PCR 반응 후의 생성물은 유일한 제한 영역을 이용하여 절단 및 클로닝될 수 있다. 클래스 IIS 효소로 소화시키고, 정제된 파지 폴리머라제로 전사하여, 외래 유전자 삽입된 PIV 유전자의 정확한 비번역 말단을 함유한 RNA 분자를 발생시킨다. 다른 실시양태에서는, PCR-프라이머 반응을 이용하여 박테리오파지 프로모터 서열 및 하이브리드 유전자 서열 (RNA 주형이 클로닝 없이 직접 전사될 수 있게 함)을 함유하는 이중-가닥 DNA를 제조할 수 있다.

[0203] 이중 뉴클레오타이드 서열을 본 발명의 바이러스의 다양한 위치에 부가 또는 삽입할 수 있다. 한 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열은 위치 1에 부가되거나 삽입된다. 또다른 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열은 위치 2에 부가되거나 삽입된다. 또다른 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열은 위치 3에 부가되거나 삽입된다. 또다른 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열은 위치 4에 부가되거나 삽입된다. 또다른 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열은 위치 5에 부가되거나 삽입된다. 또다른 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열은 위치 6에 부가되거나 삽입된다. 본원에서 사용되는 용어 "위치"는 전사될 바이러스 게놈 상에서 이중 뉴클레오타이드 서열의 위치를 나타내는 것으로, 예를 들어 위치 1은 전사될 제1 유전자를 의미하고, 위치 2는 전사될 제2 유전자를 의미한다. 바이러스의 보다 낮은 수의 위치에 이중 뉴클레오타이드 서열을 삽입하는 것은, 바이러스 게놈 전역에 걸쳐 발생하는 전사 구배로 인해 일반적으로 보다 높은 수의 위치에 삽입하는 것과 비교하여 강하게 발현된다. 그러나, 전사 구배는 또한 바이러스 mRNA의 특정 비를 초래한다. 외래 유전자의 삽입은 상기 비를 교란시켜 바이러스 복제에 영향을 줄 수 있는 바이러스 단백질의 상이한 양의 합성을 초래할 것이다. 따라서, 삽입 부위의 선택시 전사 구배 및 복제 역학 모두를 고려해야 한다. 예를 들어, b/h PIV3 벡터의 위치 2에 이중 뉴클레오타이드 서열을 삽입하면, 이중 유전자의 최고의 복제 속도 및 발현 수준을 나타낸다. 보다 낮은 수의 위치에 이중 뉴클레오타이드를 삽입하는 것이 이중 뉴클레오타이드 서열의 강한 발현을 원하는 경우 본 발명의 바람직한 실시양태이다. 바람직한 실시양태에서, 이중 서열은 위치 1, 2 또는 3에 부가되거나 삽입된다.

[0204] 본 발명의 바이러스에 이중 뉴클레오타이드 서열의 삽입시, 이중 유전자의 코딩 서열 말단과 하류 유전자의 코딩 서열의 시작 지점 사이의 유전자간(intergenic) 영역은 원하는 효과를 얻기 위해 변경될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "유전자간 영역"은 한 유전자의 정지 시그널과 다음 하류 오픈 리딩 프레임의 코딩 서열의 시작 코돈 (예컨대, AUG) 사이의 뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 유전자간 영역은 유전자의 비-코딩 영역, 즉, 유전자의 전사 출발 부위와 코딩 서열의 시작 지점 (AUG) 사이를 포함할 수 있다. 상기 비-코딩 영역은 bPIV3 mRNA 및 기타 바이러스 유전자에서 자연적으로 발생하고, 이를 비제한적인 예로서 하기 표 2에 예시하였다.

표 2

bPIV3 mRNA에 대한 비-코딩 영역의 길이

... CTT[유전자 시작 지점]	AUG ...
N	45 개의 뉴클레오타이드
P	68 개의 뉴클레오타이드
M	21 개의 뉴클레오타이드
F	201 개의 뉴클레오타이드
HN	62 개의 뉴클레오타이드
L	12 개의 뉴클레오타이드
b/h RSV F1	10 개의 뉴클레오타이드
b/h RSV F2	86 개의 뉴클레오타이드
b/h RSV F1 NP-P	83 개의 뉴클레오타이드

[0205]

[0206] 다양한 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열과 하류 유전자 간의 유전자간 영역을, 서로 독립적으로, 10 nt 길이 이상, 20 nt 길이 이상, 30 nt 길이 이상, 50 nt 길이 이상, 75 nt 길이 이상, 100 nt 길이 이상, 125 nt 길이 이상, 150 nt 길이 이상, 175 nt 길이 이상 또는 200 nt 길이 이상이 되도록 유전자조작할 수 있다. 특정 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열과 하류 유전자 간의 유전자간 영역을, 서로 독립적으로, 10 nt 길이 이하, 20 nt 길이 이하, 30 nt 길이 이하, 50 nt 길이 이하, 75 nt 길이 이하, 100 nt 길이 이하, 125 nt 길이 이하, 150 nt 길이 이하, 175 nt 길이 이하 또는 200 nt 길이 이하가 되도록 유전자조작할 수 있다. 또한 다양한 실시양태에서, 다양한 게놈 내 원하는 유전자의 비-코딩 영역도, 서로 독립적으로, 10 nt 길이 이상, 20 nt 길이 이상, 30 nt 길이 이상, 50 nt 길이 이상, 75 nt 길이 이상, 100 nt 길이 이상, 125 nt 길이 이상, 150 nt 길이 이상, 175 nt 길이 이상 또는 200 nt 길이 이상이 되도록 유전자조작할 수 있다. 또한 특정 실시양태에서, 바이러스 게놈 내 원하는 유전자의 비-코딩 영역도, 서로 독립적으로, 10 nt 길이 이하, 20 nt 길이 이하, 30 nt 길이 이하, 50 nt 길이 이하, 75 nt 길이 이하, 100 nt 길이 이하, 125 nt 길이 이하, 150 nt 길이 이하, 175 nt 길이 이하 또는 200 nt 길이 이하가 되도록 유전자조작할 수 있다.

[0207] 이중 뉴클레오타이드 서열 삽입 시, 위치적 효과 및 유전자간 영역의 조작을 조합하여 사용하여 바람직한 효과를 획득할 수 있다. 예를 들어, 이중 뉴클레오타이드 서열을 1번, 2번, 3번, 4번, 5번, 및 6번 위치로 구성되는 군 으로부터 선택된 위치에 첨가하거나 삽입할 수 있고, 이중 뉴클레오타이드 서열과 다음 하류 유전자 간의 유전자간 영역도 변경시킬 수 있다 (표 3 참조). 예시적 실시양태에서, hRSV F 유전자를 b/h PIV3 벡터의 1번 위치에 삽입하고, F 유전자와 N 유전자 (즉, F 유전자의 다음 하류 유전자) 간의 유전자간 영역을 177 뉴클레오타이드 길이로 변경시킬 수 있다. 본 발명은 보다 많은 조합들을 포함하며 일부는 예로써 하기 표 3에 나타낸다.

표 3

이중 뉴클레오타이드 서열의 삽입 방법의 예

	1번 위치	2번 위치	3번 위치	4번 위치	5번 위치	6번 위치
IGR ^a	10-20	10-20	10-20	10-20	10-20	10-20
IGR	21-40	21-40	21-40	21-40	21-40	21-40
IGR	41-60	41-60	41-60	41-60	41-60	41-60
IGR	61-80	61-80	61-80	61-80	61-80	61-80
IGR	81-100	81-100	81-100	81-100	81-100	81-100
IGR	101-120	101-120	101-120	101-120	101-120	101-120
IGR	121-140	121-140	121-140	121-140	121-140	121-140
IGR	141-160	141-160	141-160	141-160	141-160	141-160
IGR	161-180	161-180	161-180	161-180	161-180	161-180
IGR	181-200	181-200	181-200	181-200	181-200	181-200
IGR	201-220	201-220	201-220	201-220	201-220	201-220
IGR	221-240	221-240	221-240	221-240	221-240	221-240
IGR	241-260	241-260	241-260	241-260	241-260	241-260
IGR	261-280	261-280	261-280	261-280	261-280	261-280
IGR	281-300	281-300	281-300	281-300	281-300	281-300

^a 유전자간 영역, 뉴클레오타이드 단위로 측정됨.

[0208]

[0209]

삽입된 이중 뉴클레오타이드 서열의 목적 (예컨대, 강한 면역원성을 가지도록 함)에 따라서, 삽입의 위치 및 삽입된 이중 뉴클레오타이드 서열의 유전자간 영역의 길이는 하기 비제한적인 분석들의 예에 의해 측정되는 복제 키네틱 및 단백질 또는 mRNA 발현 수준을 포함하는 (이에 제한되지 않음) 다양한 지표들에 의해 결정할 수 있다: 플라크 측정법, 형광-병소 분석, 감염 중심 분석, 형질전환 분석, 종말점 회석도 분석, 플레이팅 효율, 전자 현미경, 적혈구응집, 바이러스의 효소 활성 측정, 바이러스 중화, 적혈구응집억제, 보체 결합, 면역염색법, 면역침전법 및 면역점적법, 효소면역측정법, 핵산 검출법 (예를 들어, 서던 블롯 분석, 노던 블롯 분석, 웨스턴 블롯 분석), 성장 곡선, 리포터 유전자의 사용 (예를 들어, 관심 이중 유전자와 동일한 방식으로 바이러스 게놈에 통합된 리포터 유전자, 예컨대 녹색 형광 단백질(GFP) 또는 개량된 녹색 형광 단백질(eGFP)을 사용하여 단백질 발현을 관찰함), 또는 그들의 조합. 상기 분석을 수행하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있으며 (예를 들어, 그의 전문이 본원에 참조로 포함된 문헌 [Flint et al., PRINCIPLES OF VIROLOGY, MOLECULAR BIOLOGY, PATHOGENESIS, AND CONTROL, 2000, ASM Press pp 25-56] 참조), 비제한적인 예들은 하기 실시예 단락에 기재한다.

[0210]

예를 들어, 배양물 중의 세포를 본 발명의 바이러스로 감염시킨 후, 이중 서열의 유전자 생성물에 특이적인 항체를 사용하는 ELISA 또는 웨스턴 블롯 분석 등에 의해 단백질 발현 수준을 측정하거나, 이중 서열에 특이적인 프로브를 사용하는 노던 블롯 분석 등에 의해 RNA 분석 수준을 측정하여 발현 수준을 측정할 수 있다. 이와 유사하게, 동물 모델을 감염시키고 동물 모델에서의 본 발명의 재조합 바이러스의 이중 서열로부터 발현된 단백질의 수준을 측정하여 이중 서열의 발현 수준을 측정할 수도 있다. 단백질 수준은 감염된 동물로부터 조직 샘플을 얻은 후, 이에 상기 이중 서열의 유전자 생성물에 특이적인 항체를 사용하는 ELISA 또는 웨스턴 블롯 분석을 수행하여 측정할 수 있다. 또한, 동물 모델을 사용한 경우, 이중 서열의 유전자 생성물에 대하여 동물이 생산하는 항체의 역가를 ELISA를 포함하는 (이에 제한되지 않음) 당업자에게 공지된 임의의 기술에 의해 측정할 수 있다.

[0211]

이중 서열이 바이러스의 게놈 내 뉴클레오타이드 서열과 상동적일 수 있으므로, 프로브 및 항체가 확실하게 이중 서열 또는 그의 유전자 생성물에 특이적이도록 주의해야 한다.

[0212]

특정한 구체적인 실시양태에서, 키메라 b/h PIV3 RSV 또는 b/h PIV3 hMPV 또는 b/h PIV3 RSV F 및 hMPV F의 RSV 또는 hMPV의 F-단백질의 발현 수준을 당업자에게 공지된 임의의 기술에 의해 측정할 수 있다. 배양물 중의 세포를 본 발명의 키메라 바이러스로 감염시킨 후, hMPV의 F-단백질 및/또는 G-단백질에 특이적인 항체를 사용하는 ELISA 또는 웨스턴 블롯 분석 등에 의해 단백질 발현 수준을 측정하거나, 인간 페렴 바이러스의 F-유전자 및/또는 G-유전자에 특이적인 프로브를 사용하는 노던 블롯 분석 등에 의해 RNA 분석 수준을 측정하여 F-단백질의 발현 수준을 측정할 수 있다. 이와 유사하게, 동물 모델을 사용하여 동물 모델을 감염시키고 동물 모델에서의 F-단백질 및/또는 G-단백질의 수준을 측정하여 이중 서열의 발현 수준을 측정할 수 있다. 단백질 수준은 감염된 동물로부터 조직 샘플을 얻은 후, 이에 상기 이중 서열의 F-단백질 및/또는 G-단백질에 특이적인 항체를 사용하는 ELISA 또는 웨스턴 블롯 분석을 수행하여 측정할 수 있다. 또한, 동물 모델을 사용한 경우, F-단백질 및/또는 G-단백질에 대하여 동물이 생산하는 항체의 역가를 ELISA를 포함하는 (이에 제한되지 않음) 당업자에게 공지된 임의의 기술에 의해 측정할 수 있다.

- [0213] 본 발명의 재조합 바이러스의 복제율은 당업자에게 공지된 임의 기술에 의해 측정할 수 있다.
- [0214] 특정 실시양태에서, 바이러스 게놈 내 이중 서열의 최적 위치 및 유전자간 영역의 최적 길이를 확인하는 것을 용이하게 하기 위해, 상기 이중 서열은 리포터 유전자를 코딩한다. 최적값을 결정한 후에는, 리포터 유전자는 선택된 항원을 코딩하는 이중 뉴클레오타이드 서열에 의해 대체한다. 당업자에게 공지된 임의 리포터 유전자를 본 발명의 방법에서 사용할 수 있다. 보다 상세하게는 단락 5.5를 참조한다.
- [0215] 재조합 바이러스의 복제율은 당업자에게 공지된 임의 표준 기술에 의해 측정할 수 있다. 상기 복제율은 바이러스의 성장 속도에 의해 나타나며, 감염 이후 시간에 따른 바이러스의 역가를 플롯팅함으로써 측정할 수 있다. 바이러스 역가는 당업자에게 공지된 임의 기술에 의해 측정할 수 있다. 특정 실시양태에서, 바이러스를 함유하는 현탁액을 상기 바이러스에 감염되기 쉬운 세포들과 함께 인큐베이션한다. 본 발명의 방법에서 사용될 수 있는 세포 유형에는 Vero 세포, LLC-MK-2 세포, Hep-2 세포, LF 1043 (HEL) 세포, MRC-5 세포, WI-38 세포, 293 T 세포, QT 6 세포, QT 35 세포, 계배 섬유아세포 (CEF), 또는 tMK 세포가 포함되나 이에 제한되지 않는다. 바이러스를 세포와 함께 인큐베이션한 후, 감염된 세포의 개수를 측정한다. 특정한 구체적인 실시양태에서, 상기 바이러스는 리포터 유전자를 포함한다. 따라서, 리포터 유전자를 발현하는 세포의 개수가 감염된 세포의 개수를 나타내는 것이다. 구체적인 실시양태에서, 바이러스는 eGFP를 코딩하는 이중 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, eGFP를 발현하는 세포의 개수, 즉, 상기 바이러스에 감염된 세포의 개수를 FACS를 사용하여 측정한다.
- [0216] 특정 실시양태에서, 본 발명의 재조합 바이러스의 복제율은 동일한 조건하에서 재조합 바이러스가 유도된 야생형 바이러스의 복제율의 20% 이하이다. 상기 동일한 조건이란 동일한 바이러스의 초기 역가, 동일한 세포 균주, 동일한 인큐베이션 온도, 성장 배지, 세포의 개수 및 복제율에 영향을 줄 수 있는 기타 시험 조건들을 지칭한다. 예를 들어, RSV의 F 유전자를 1번 위치에 포함하는 b/h PIV3의 복제율은 bPIV3의 복제율의 20% 이하이다.
- [0217] 특정 실시양태에서, 본 발명의 재조합 바이러스의 복제율은 동일한 조건하에서 상기 재조합 바이러스가 유도된 야생형 바이러스의 복제율의 5% 이하, 10% 이하, 20% 이하, 30% 이하, 40% 이하, 50% 이하, 75% 이하, 80% 이하, 90% 이하이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 재조합 바이러스의 복제율은 동일한 조건하에서 상기 재조합 바이러스가 유도된 야생형 바이러스의 복제율의 5% 이상, 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 90% 이상이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 재조합 바이러스의 복제율은 동일한 조건하에서 상기 재조합 바이러스가 유도된 야생형 바이러스의 복제율의 5% 내지 20%, 10% 내지 40%, 25% 내지 50%, 40% 내지 75%, 50% 내지 80%, 또는 75% 내지 90%이다.
- [0218] 특정 실시양태에서, 본 발명의 재조합 바이러스 내 이중 서열의 발현 수준은 동일한 조건하에서 상기 재조합 바이러스가 유도된 야생형 바이러스의 F-단백질의 발현 수준의 20% 이하이다. 상기 동일한 조건이란 동일한 바이러스의 초기 역가, 동일한 세포 균주, 동일한 인큐베이션 온도, 성장 배지, 세포의 개수 및 복제율에 영향을 줄 수 있는 기타 시험 조건들을 지칭한다. 예를 들어, bPIV3의 1번 위치 내 MPV의 F-단백질의 이중 서열의 발현 수준은 bPIV3의 소 F-단백질의 발현 수준의 20% 이하이다.
- [0219] 특정 실시양태에서, 본 발명의 재조합 바이러스 내 이중 서열의 발현 수준은 동일한 조건하에서 상기 재조합 바이러스가 유도된 야생형 바이러스의 F-단백질의 발현 수준의 5% 이하, 10% 이하, 20% 이하, 30% 이하, 40% 이하, 50% 이하, 75% 이하, 80% 이하, 90% 이하이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 재조합 바이러스 내 이중 서열의 발현 수준은 동일한 조건하에서 상기 재조합 바이러스가 유도된 야생형 바이러스의 F-단백질의 발현 수준의 5% 이상, 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 90% 이상이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 재조합 바이러스 내 이중 서열의 발현 수준은 동일한 조건하에서 상기 재조합 바이러스가 유도된 야생형 바이러스의 F-단백질의 발현 수준의 5% 내지 20%, 10% 내지 40%, 25% 내지 50%, 40% 내지 75%, 50% 내지 80%, 또는 75% 내지 90%이다.
- [0220] **5.1.4. 이중 유전자 서열의 HN 유전자 내로의 삽입**
- [0221] PIV의 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제 활성에 관여하는 단백질은 단일 유전자인 HN에 의해 코딩된다. HN 단백질은 바이러스의 주요 표면 당단백질이다. 파라인플루엔자와 같은 다양한 바이러스에서, 헤마글루티닌 및 뉴라미니다제 단백질은 다수의 항원 부위를 함유하고 있는 것으로 나타난다. 따라서, 이 단백질은 감염 후 체액성 면역 반응을 위해 가능한 표적이다. 그러므로, HN의 항원 부위를 외래 단백질의 일부로 치환하는 것은 이 외래 펩티드에 대항하는 격렬한 체액성 반응을 제공할 수 있다. 서열을 HN 분자 내에 삽입하고, 이 서열이 HN의 외

부 표면 상에 발현된 경우, 이는 면역원성일 것이다. 예를 들어, HIV의 gp160으로부터 유도된 펩티드로 HN 단백질의 항원 부위를 대체할 수 있는데, 그 결과 gp160 및 HN 단백질 모두에 대한 체액성 면역 반응이 일어난다. 다른 접근법에서, 외래 펩티드 서열을 임의 바이러스 서열의 결실 없이 항원 부위 내에 삽입할 수 있다. 이러한 구조물의 발현 생성물은 외래 항원에 대항하는 백신에서 유용할 수 있으며, 상기 기재된 백신 접종한 숙주 내에서 재조합 바이러스가 증식하는 문제를 확실히 회피할 수 있다. 항원 부위 내에서만 치환된, 손상되지 않는 HN 분자는 HN 기능이 가능하므로 생 바이러스의 구조물이 가능하다. 그러므로, 이 바이러스는 부가적인 조력 작용에 대한 필요없이 성장할 수 있다. 또한 상기 바이러스는 임의의 우연한 이탈 위험을 방지하기 위해 다른 방법으로 약독화될 수 있다.

[0222] 단백질들을 세포 표면 상에 발현시키거나 이들 단백질이 세포로부터 방출될 수 있도록 하는 다른 하이브리드 구조물을 제조할 수 있다. 표면 당단백질로서, HN은 세포 표면으로 운송되기 위해 필요한 아미노-말단 절단 신호 서열 및 막 고정을 위해 필요한 카르복시-말단 서열을 갖는다. 세포 표면 상에 손상되지 않은 외래 단백질을 발현시키기 위해서는 이들 HN 신호가 하이브리드 단백질을 생산하도록 사용할 필요가 있다. 이 경우, 융합 단백질이 추가 내부 프로모터로부터 별도의 융합 단백질로서 발현될 수 있다. 별법으로, 운송 신호만이 존재하고 막 고정 도메인은 존재하지 않는 경우에, 상기 단백질은 세포 밖으로 분비될 수 있다.

[0223] 5.1.5. 비시스트론 RNA의 구축

[0224] 비시스트론 mRNA는 바이러스 서열의 번역의 내부 개시를 가능케 하고 일정한 말단 개시 부위로부터 외래 단백질 코딩 서열을 발현시키도록 구축될 수 있다. 별법으로, 바이러스 서열은 일정한 말단 오픈 리딩 프레임으로부터 번역되는 반면, 외래 서열은 내부 부위로부터 개시되는 비시스트론 mRNA 서열을 구축할 수 있다. 특정한 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 서열을 사용할 수 있다. 선택되는 IRES 서열은 과라인플루엔자 패키징 한계를 넘지 않도록 충분히 짧아야 한다. 따라서, 이러한 비시스트론 접근법을 위해 선택된 IRES은 500 뉴클레오타이드 길이 이하인 것이 바람직하며, 이상적인 길이는 250 뉴클레오타이드 미만이다. 구체적인 실시양태에서, IRES는 피코르나 바이러스로부터 유도되고 임의 부가적인 피코르나바이러스 서열을 포함하지 않는다. 바람직한 IRES 요소에는 포유류 BiP IRES 및 C형 간염 바이러스 IRES가 포함되나 이에 제한되지 않는다.

[0225] 별법으로, 외래 단백질을 전사 단위가 개시 부위 및 아데닐중합체 형성 부위를 보유하는 신규한 내부 전사 단위로부터 발현시킬 수 있다. 또다른 실시양태에서, 외래 유전자를 PIV 유전자 내에 삽입하여, 생성된 발현 단백질이 융합 단백질이 되도록 한다.

[0226] 5.2. 재조합 cDNA 및 RNA 주형을 사용하는 이중 유전자 생성물의 발현

[0227] 상기 기재된 바와 같이 제조된 재조합 주형을 다양한 방법으로 사용하여 적절한 숙주 세포 내에서 이중 유전자 생성물을 발현시키거나 이중 유전자 생성물을 발현하는 키메라 바이러스를 생성할 수 있다. 한 실시양태에서, 재조합 cDNA를 사용하여 적절한 숙주 세포를 형질감염시켜서, 생성된 RNA가 이중 유전자 생성물을 높은 수준으로 발현시키도록 할 수 있다. 높은 수준의 발현을 제공하는 숙주 세포계에는 바이러스 작용을 제공하는 무한증식성 세포주, 예컨대 PIV로 중복감염된 세포주, PIV 기능을 보완하도록 유전자조작된 세포주 등이 포함된다.

[0228] 본 발명의 별법의 실시양태에서, 이중 유전자 생성물을 발현시키기 위해 재조합 주형을 사용하여 바이러스 중합효소 단백질을 발현하는 세포주를 형질감염시킬 수 있다. 상기 목적을 위해, L 단백질과 같은 중합효소 단백질을 발현하는 형질전환된 세포주를 적절한 숙주 세포로서 사용할 수 있다. 숙주 세포를 유사하게 유전자조작하여 HN, NP 또는 N과 같은 부가 기능물 또는 다른 바이러스 기능물을 제공할 수 있다.

[0229] 또다른 실시양태에서, 이중 유전자 생성물을 발현시키기 위해 헬퍼 바이러스가 세포에 의해 사용되는 RNA 중합효소 단백질을 제공할 수 있다. 또다른 실시양태에서, N 또는 NP, P, M2-1 및 L 단백질과 같은 바이러스 단백질을 코딩하는 벡터로 세포를 형질감염시킬 수 있다.

[0230] 이중 유전자 생성물의 발현을 검출하기 위해 상이한 기술을 사용할 수 있다 (예를 들어, 그의 전문이 본원에 참조로 포함된 문헌 [Flint et al., PRINCIPLES OF VIROLOGY, MOLECULAR BIOLOGY, PATHOGENESIS, AND CONTROL, 2000, ASM Press pp 25-56] 참조). 예시적 분석에서, 바이러스로 감염된 세포를 메탄올 또는 아세톤으로 투과화시키고 이중 유전자 생성물에 대하여 생성된 항체와 함께 인큐베이션 한다. 이어서 1번째 항체를 인식하는 2번째 항체를 첨가한다. 상기 2번째 항체는 통상적으로 지표와 접합되어 이중 유전자 생성물의 발현이 가시화되거나 검출될 수 있도록 한다.

[0231] 5.3. 재조합 바이러스 입자의 복구

- [0232] 키메라 바이러스를 제조하기 위해, 플러스 또는 마이너스 센스로 PIV 게놈 및/또는 외래 단백질을 코딩하는 변형된 cDNA, 바이러스 RNA, 또는 RNA를 사용하여 복제 및 복구를 위해 필요한 기능물 및 바이러스 단백질을 제공하는 세포를 형질감염시킬 수 있다. 별법으로, PIV 게놈 및/또는 외래 단백질을 코딩하는 DNA 또는 RNA 분자에 의한 형질감염 이전, 동안, 또는 이전에 세포를 헬퍼 바이러스로 형질감염시킬 수 있다. 각각 그의 전문이 본원에 참조로 포함된 1992년 11월 24일 허여된 미국 특허 제5,166,057호; 1998년 12월 29일 허여된 미국 특허 제5,854,037호; 1996년 2월 20일 공개된 유럽 특허 공보 EP 0702085A1; 미국 특허 출원 제09/152,845호; 1997년 4월 3일 공개된 국제 특허 공보 PCT WO 97/12032; 1996년 11월 7일 공개된 WO 96/34625; 유럽 특허 공보 EP-A780475; 1999년 1월 21일 공개된 WO 99/02657; 1998년 11월 26일 공개된 WO 98/53078; 1998년 1월 22일 공개된 WO 98/02530; 1999년 4월 1일 공개된 WO 99/15672; 1998년 4월 2일 공개된 WO 98/13501; 1997년 2월 20일 공개된 WO 97/06270; 및 1997년 6월 25일 공개된 EPO 780 47SA1에 기재된 바와 같은 당업계에 공지된 몇몇 기술들에 의해, 합성된 재조합 플라스미드 PIV DNA 및 RNA를 복제하고 감염성 바이러스 입자 내로 복구할 수 있다.
- [0233] 본 발명의 한 실시양태에서, 바이러스 중합효소에 의한 인식 및 성숙 비리온을 생성하기 위해 필요한 패키징 신호를 위해 필수적인 네가티브 가닥 바이러스 RNA의 비-코딩 영역을 함유하는 합성된 재조합 바이러스 RNA를 제조할 수 있다. 네가티브 가닥 RNA 바이러스를 복구하기 위한 역유전 접근법을 적용하기 위해 사용될 수 있는 상이한 접근법들이 다수 존재한다. 우선, 재조합 RNA를 재조합 DNA 주형으로부터 합성하고, 정제된 바이러스 중합효소 복합체를 사용하여 시험관내에서 재구성하여, 세포를 형질감염시키는 데 사용될 수 있는 재조합 리보핵산단백질 (RNP)을 형성한다. 또다른 접근법에서, 시험관내 또는 생체내에서 합성 RNA의 전사 동안 바이러스 중합효소 단백질이 존재한다면 보다 효율적인 형질감염이 이루어진다. 이 접근법에서, 상기 합성 RNA는 cDNA 플라스미드로부터 전사될 수 있는데, 중합효소 단백질을 코딩하는 cDNA 플라스미드와 시험관내에서 함께 전사되거나, 중합효소 단백질이 존재하는 생체내, 즉 일시적으로 또는 구성적으로 중합효소 단백질을 발현하는 세포 내에서 전사될 수 있다.
- [0234] 본원에 기재된 다른 접근법에서, 감염성 키메라 바이러스의 생성물이 PIV 바이러스 중합효소 단백질을 발현하는 숙주 세포계 (예를 들어, 바이러스/숙주 세포 발현계; 중합효소 단백질을 발현하도록 유전자조작된 형질전환 세포주 등) 내에서 복제되어 감염성 키메라 바이러스가 복구될 수 있다. 상기 예에서, 발현된 바이러스 중합효소 단백질이 작용하므로 헬퍼 바이러스는 사용할 필요가 없다.
- [0235] 본 발명에 따라서, 당업자에게 공지된 임의 기술들을 재조합 바이러스 및 키메라 바이러스의 복제 및 복구를 성취하기 위해 사용할 수 있다. 한 접근법은 숙주 세포를 형질감염시키기 이전에 시험관내 복제를 위해 필요한 바이러스 단백질 및 기능물을 공급하는 것을 포함한다. 이러한 실시양태에서, 바이러스 단백질은 야생형 바이러스, 헬퍼 바이러스, 정제된 바이러스의 단백질 또는 재조합되어 발현된 바이러스 단백질의 형태로 공급된다. 상기 바이러스 단백질은 키메라 바이러스를 코딩하는 합성 cDNA 또는 RNA의 전사 이전, 동안 또는 이후에 공급될 수 있다. 전체 혼합물을 사용하여 숙주 세포를 형질감염시킬 수 있다. 또다른 접근법에서, 복제를 위해 필요한 바이러스 단백질 및 기능물을 키메라 바이러스를 코딩하는 합성 cDNA 또는 RNA의 전사 이전 또는 전사 동안에 공급할 수 있다. 이러한 실시양태에서, 복제를 위해 필요한 바이러스 단백질 및 기능물은 야생형 바이러스, 헬퍼 바이러스, 바이러스의 추출물, 바이러스 단백질을 발현하는 합성 cDNA 또는 RNA의 형태로 공급되고, 감염 또는 형질감염을 통해 숙주 세포에 도입된다. 상기 감염/형질감염은 키메라 바이러스를 코딩하는 합성 cDNA 또는 RNA의 도입 이전에 또는 그와 동시에 일어난다.
- [0236] 특별히 바람직한 접근법에서, 본 발명의 재조합 바이러스 또는 키메라 바이러스의 모든 바이러스 유전자를 발현하도록 유전자조작된 세포는 원하는 유전자형을 함유하는 감염성 키메라 바이러스를 생산할 수 있으며, 따라서 선택 시스템의 필요성이 제거된다. 이론적으로, PIV의 구조 단백질을 코딩하는 6개의 유전자 중 임의의 하나 또는 그의 일부를 외래 서열로 대체할 수 있다. 그러나, 이 방정식에서 요구되는 것은 상기 결함 바이러스 (정상적인 바이러스 유전자 생성물이 없거나 변경되었으므로 결함이 있음)를 증식시키는 능력이다. 다수의 가능한 접근법이 상기 문제를 회피하기 위해 가능하다. 한 접근법에서, 돌연변이 단백질을 갖는 바이러스를 이와 동일한 단백질의 야생형을 구조적으로 발현하도록 구축된 세포주 내에서 성장시킬 수 있다. 이 방법에 의해, 상기 세포주는 바이러스 내 돌연변이에 대해 상보적이 된다. 유사한 기술이 임의의 PIV 유전자를 구조적으로 발현하도록 형질전환된 세포주를 구축하기 위해 사용될 수 있다. 바이러스 단백질을 발현하도록 제조된 이들 세포주를 재조합 바이러스 내 결함을 보완하여 바이러스를 증식시키기 위해 사용할 수 있다. 별법으로, 특정한 천연 숙주 범위 시스템을 사용하여 재조합 바이러스를 증식시킬 수 있다.
- [0237] 또다른 실시양태에서, 복제를 위해 필요한 바이러스 단백질 및 기능물을 합성 cDNA 또는 RNA 형태의 유전 물질

로서 공급하여 이들이 키메라 바이러스를 코딩하는 합성 cDNA 또는 RNA와 함께 전사될 수 있도록 할 수 있다. 특별히 바람직한 접근법에서, 키메라 바이러스를 발현하는 플라스미드 및 바이러스 중합효소 및/또는 다른 바이러스 기능물을 숙주 세포 내로 공동 형질감염시킨다. 예를 들어, 야생형의 또는 변형된 계놈 또는 안티계놈 PIV RNA를 코딩하는 플라스미드를 PIV 바이러스 중합효소 단백질 NP 또는 N, P, M2-1 또는 L을 코딩하는 플라스미드와 함께 숙주 세포에 공동 형질감염시킬 수 있다. 별법으로, 키메라 b/h PIV3 바이러스의 복구를 T7 RNA 중합효소를 코딩하는 변형된 우두 바이러스 안카라(Ankara) (MVA), 또는 중합효소 단백질 (N, P, 및 L)을 코딩하는 플라스미드 및 MVA의 조합을 사용하여 성취할 수 있다. 예를 들어, MVA-T7 또는 우두(Fowl Pox)-T7을 Vero 세포, LLC-MK-2 세포, Hep-2 세포, LF 1043 (HEL) 세포, tMK 세포, LLC-MK2, HUT 292, FRHL-2 (레서스(rhesus)), FCL-1 (그린 몽키(green monkey)), WI-38 (인간), MRC-5 (인간) 세포, 293 T 세포, QT 6 세포, QT 35 세포 및 CEF 세포에 감염시킬 수 있다. MVA-T7 또는 우두-T7로 감염시킨 후, 전체 길이의 안티계놈 b/h PIV3 cDNA를 NP, P, M2-1 및 L을 코딩하는 발현 플라스미드와 함께 HeLa 또는 Vero 세포에 형질감염시킬 수 있다. 별법으로, 중합효소를 플라스미드 형질감염에 의해 제공할 수 있다. 이어서 상기 세포 및 세포 상등액을 수거하여 얼림-녹임을 1회 수행할 수 있다. 이어서 생성된 세포 용해질을 사용하여 우두 바이러스의 복제 억제제인 1-베타-D-아라비노푸라노실시토신 (ara C)의 존재 하에 신선한 HeLa 또는 Vero 세포 단층을 감염시켜 바이러스 스톱을 생산한다. 이어서 상등액 및 이들 플레이트로부터의 세포를 수거하여 얼림-녹임을 1회 수행한 후, PIV3-특이 항혈청을 사용하는 바이러스 플라크의 면역염색에 의해 bPIV3 바이러스 입자의 존재를 감지한다.

[0238] 재조합 바이러스를 증식시키기 위한 또다른 접근법은 야생형 바이러스와의 공동-배양을 포함한다. 이는 단순히 재조합 바이러스를 취하여 이 바이러스 및 다른 야생형 바이러스 (바람직하게는 우두 균주)를 세포에 공동-감염 시킴으로써 수행할 수 있다. 야생형 바이러스는 결함 바이러스 유전자 생성물에 상보적이어야 하며 야생형 바이러스 및 재조합 바이러스 둘다 성장할 수 있도록 해야한다. 별법으로, 헬퍼 바이러스를 사용하여 재조합 바이러스의 증식을 지지할 수 있다.

[0239] 또다른 접근법에서, PIV 바이러스 중합효소 단백질을 발현하는 재조합 바이러스로 공동-감염된 세포 내에서 합성 주형을 복제할 수 있다. 사실상, 이 방법은 본 발명에 따른 재조합된 감염성 바이러스를 복구하기 위해 사용될 수 있다. 상기 목적을 위해, PIV 중합효소 단백질을 바이러스 발현 벡터 (예를 들어, 우두 바이러스, 아데노바이러스, 바콜로바이러스 등)를 포함하는 (이에 제한되지 않음) 임의 발현 벡터/숙주 세포계 또는 중합효소 단백질을 발현하는 세포주 (예를 들어, 문헌 [Krystal et al., 1986, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 2709-2713] 참조) 내에서 발현시킬 수 있다. 또한, 6개의 PIV 단백질을 모두 발현하는 숙주 세포를 감염시키면 감염성 키메라 바이러스 입자를 생산할 수 있다. 바이러스 생존율을 변경시키지 않고 재조합 바이러스를 구축하는 것이 가능하다는 것을 알 수 있다. 이어서 이들 변형된 바이러스는 성장하기에 적격일 것이고 복제를 위해 보조 작용을 필요로 하지 않을 것이다.

[0240] 특정 실시양태에서, 강건하고 고수율인 세포 배양물 (이는 예를 들어 본 발명의 바이러스 백신 후보자의 제조에 유익할 것임)을 생산하기 위하여, 바이러스의 증식을 위한 조건을 최적화시킨다. 결정적인 파라미터들을 확인할 수 있고, 소규모 실험에서 생산 과정을 먼저 최적화하여 확장성, 강건성, 및 재현성을 결정할 수 있으며 (상기 최적화 방법의 예는 섹션 36에 제시함), 그 후 바이러스의 대규모 생산에 적용시킨다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법을 사용하여 증식되는 바이러스는 PIV이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법을 사용하여 증식되는 바이러스는 재조합 또는 키메라 PIV이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법을 사용하여 증식되는 바이러스는 하기 바이러스 족 중 하나의 바이러스이다: 아데노비리다에, 아레나비리다에, 아스트로비리다에, 바콜로비리다에, 부니아비리다에, 칼리시비리다에, 카울리모바이러스, 코로나비리다에, 시스토비리다에, 필로비리다에, 플라비비리다에, 헤파드나비리다에, 헤르페스비리다에, 히포비리다에, 이다에오바이러스, 이노비리다에, 이리도비리다에, 레비비리다에, 리포트릭스비리다에, 루테오바이러스, 마클로모바이러스, 마라피바이러스, 마이크로비리다에, 미오비리다에, 네크로바이러스, 노다비리다에, 오르토믹소비리다에, 파포바비리다에, 파라믹소비리다에, 파르티티비리다에, 파르보비리다에, 피코드나비리다에, 피코르나비리다에, 플라스마비리다에, 포도비리다에, 폴리드나비리다에, 포티비리다에, 폭스비리다에, 레오비리다에, 레트로비리다에, 라브도비리다에, 세퀴비리다에, 시포비리다에, 소베모바이러스, 텍티비리다에, 테누이바이러스, 테트라비리다에, 토마모바이러스, 토브라바이러스, 토가비리다에, 톱부스비리다에, 토티비리다에, 트리코바이러스, 모노네가바이러스. 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법을 사용하여 증식되는 바이러스는 RNA 바이러스이다. 특정 실시양태에서, 상기 바이러스는 헤르페스비리다에 족의 바이러스가 아니다. 특정 실시양태에서, 상기 바이러스는 HSV가 아니다.

[0241] 특정 실시양태에서, 관심 바이러스 또는 바이러스 구조물로 감염된 세포 배양물은 배양 중인 세포용 표준 인큐베이션 온도에 비해 보다 낮은 감염후 인큐베이션 온도에서 인큐베이션한다. 구체적인 실시양태에서, 관심 바

이러스 구조물로 감염된 세포 배양물은 33℃ 또는 약 33℃ (예를 들어, 33 ± 1℃)에서 인큐베이션한다. 특정 실시양태에서, 감염후 인큐베이션 온도는 약 25℃, 26℃, 27℃, 28℃, 29℃, 30℃, 31℃, 32℃, 33℃, 34℃, 35℃, 36℃ 또는 37℃이다.

[0242] 특정 실시양태에서, 바이러스는 세포의 성장을 위해 최적화된 온도에서 바이러스 감염 전의 세포를 인큐베이션 시킴으로써 증식시키고, 바이러스로 세포를 감염시킨 후, 즉, 감염후, 온도를 보다 낮은 온도로 변화시킨다. 특정 실시양태에서, 상기 변화는 1℃, 2℃, 3℃, 4℃, 5℃, 6℃, 7℃, 8℃, 9℃, 10℃, 11℃ 이상 또는 12℃ 이상이다. 특정 실시양태에서, 상기 변화는 1℃, 2℃, 3℃, 4℃, 5℃, 6℃, 7℃, 8℃, 9℃, 10℃, 11℃ 이하 또는 12℃ 이하이다. 구체적인 실시양태에서, 상기 변화는 4℃이다.

[0243] 특정 실시양태에서, 세포를 관심 바이러스 또는 바이러스 구조물로 감염시키기 전 혈청을 함유하는 배지 중에서 배양하고, 세포를 바이러스 또는 바이러스 구조물로 감염시킨 후 혈청을 함유하지 않는 배지 중에서 배양한다. 혈청을 함유하지 않는 감염된 세포의 성장에 관한 보다 상세한 설명에 대해서는 표제가 "혈청 비함유 배지 중 바이러스의 플라스미드만의 회복"인 섹션을 참고한다. 구체적인 실시양태에서, 혈청은 소태아 혈청이며, 배양물 부피의 5%, 배양물 부피의 2%, 또는 배양물 부피의 0.5%의 농도로 존재한다.

[0244] 특정 실시양태에서, 바이러스는 혈청의 부재하에 바이러스로 감염된 세포를 인큐베이션함으로써 증식된다. 특정 실시양태에서, 바이러스는 혈청 5% 미만, 혈청 2.5% 미만, 혈청 1% 미만, 혈청 0.1% 미만, 혈청 0.01% 미만, 또는 혈청 0.001% 미만을 함유하는 배양용 배지 중에서 바이러스로 감염된 세포를 인큐베이션함으로써 증식된다.

[0245] 특정 실시양태에서, 세포는 혈청을 함유하는 배지 중에서 바이러스로 감염되기 전에 인큐베이션한다. 특정 실시양태에서, 세포를 바이러스로 감염시킨 후, 상기 세포를 혈청의 부재하에 인큐베이션한다. 다른 실시양태에서, 세포를 혈청을 함유하는 배지 중에서 먼저 인큐베이션한 후, 상기 세포를 혈청을 함유하지 않는 배지로 이동시키고, 그 후 세포를 바이러스로 감염시키고, 바이러스의 부재하에 추가로 인큐베이션한다.

[0246] 특정 실시양태에서, 세포로부터 혈청-함유 배지를 제거하고 혈청을 함유하지 않는 배지를 첨가함으로써, 세포를 혈청을 함유하는 배지에서 혈청을 함유하지 않는 배지로 이동시킨다. 다른 실시양태에서, 세포를 원심분리하고, 혈청을 함유하는 배지를 제거하고, 혈청을 함유하지 않는 배지를 첨가한다. 특정 실시양태에서, 세포를 혈청을 함유하지 않는 배지로 세척하여, 바이러스로 한번 감염된 세포가 혈청의 부재하에 인큐베이션되도록 보증한다. 보다 구체적인 특정 실시양태에서, 세포를 혈청을 함유하지 않는 배지로 1회, 2회, 3회, 4회, 5회 이상 또는 10회 이상 세척한다.

[0247] 또다른 실시양태에서, 세포를 바이러스 또는 바이러스 구조물로 감염시키기 전에 세포의 성장에 최적인 온도에서 혈청을 함유하는 배지 중에서 배양시키고, 세포 배양물을 관심 바이러스 구조물로 감염시킨 후 (상응하는 바이러스 또는 바이러스 벡터를 위한 표준 인큐베이션 온도에 비해) 보다 낮은 온도에서 인큐베이션한다. 구체적인 실시양태에서, 세포를 37℃에서 관심 바이러스 구조물로 감염시키기 전 혈청을 함유하는 배지 중에서 배양하고, 상기 세포 배양물을 관심 바이러스 구조물로 감염시킨 후 33℃ 또는 약 33℃ (예를 들어, 33 ± 1℃)에서 인큐베이션한다.

[0248] 또다른 실시양태에서, 세포를 바이러스 또는 바이러스 구조물로 감염시키기 전 세포의 성장에 최적인 온도에서 혈청을 함유하는 배지 중에서 배양하고, 세포 배양물을 관심 바이러스 구조물로 감염시킨 후 (상응하는 바이러스 또는 바이러스 벡터를 위한 표준 인큐베이션 온도에 비해) 보다 낮은 온도에서 혈청 없이 인큐베이션한다. 구체적인 실시양태에서, 세포를 37℃에서 관심 바이러스 구조물로 감염시키기 전 혈청을 함유하는 배지 중에서 배양하고, 상기 세포 배양물을 관심 바이러스 구조물로 감염시킨 후 33℃ 또는 약 33℃ (예를 들어, 33 ± 1℃)에서 혈청 없이 인큐베이션한다.

[0249] 본 발명의 바이러스 구조물 및 방법은 바이러스의 상업적 생산, 예를 들어 백신 생산을 위해 사용할 수 있다. 백신의 상업적 생산을 위해, 백신은 감염성 바이러스가 전혀 없거나 바이러스 핵산의 오염이 전혀 없는 비활성화된 바이러스 또는 바이러스 단백질만을 함유하거나, 다르게는 발병력으로 되돌아가지 않는 살아있는 약독화된 백신을 함유하는 것이 바람직하다. 또한, 생산 중에 도입되는 우발화제(adventitious agent)로 백신이 오염되지 않아야 한다. 바이러스 또는 바이러스 단백질의 대규모 생산에 대해 당업계에 공지된 방법을 본 발명의 백신의 상업적 생산을 위해 사용할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 백신의 상업적 생산을 위해 세포를 생물반응기 또는 발효기에서 배양시킨다. 부피가 1 L 미만 내지 100 L 초과인 생물반응기, 예를 들어, 시토(Cyto)3 생물반응기 (미국 미네소타주 미네톤카에 소재한 오스모닉스(Osmonics) 제품); NBS 생물반응기 (미국

뉴저지주 에디슨에 소재한 뉴 브룬스위크 사이언티픽(New Brunswick Scientific) 제품); 및 비. 브라운 바이오 테크 인터내셔널(B. Braun Biotech International)의 실험실적 및 상업적 규모의 생물반응기 (독인 멜중겐에 소재한 비. 브라운 바이오테크 제품)가 이용가능하다. 다른 실시양태에서, 바이러스의 상업적 생산 이전에 소규모 방법 최적화 연구 (예를 들어, 실시예 31 (섹션 36) 참고)를 수행하고, 최적화 조건을 선택하고, 바이러스의 상업적 생산을 위해 사용한다.

- [0250] 본 발명의 특정 실시양태에서, 바이러스는 도움자 바이러스 없이 회복될 수 있다. 보다 구체적으로는, 바이러스는 복제 및 복구(rescue)에 요구되는 바이러스 단백질을 코딩하는 플라스미드 및 바이러스 게놈을 코딩하는 플라스미드를 세포로 도입시킴으로써 회복될 수 있다. 특정 실시양태에서, 세포를 성장시키고, 혈청-비함유 배지 중에서 유지시킨다. 특정 실시양태에서, 플라스미드를 전기천공법에 의해 세포로 도입시킨다. 구체적인 실시양태에서, T7 프로모터의 제어하에서 바이러스의 항게놈 cDNA를 코딩하는 플라스미드, T7 RNA 폴리머라제를 코딩하는 플라스미드, 및 T7 프로모터의 제어하에서 N 단백질, P 단백질, 및 L 단백질을 각각 코딩하는 플라스미드를 전기천공법에 의해 SF Vero 세포로 도입시킨다. ATCC로부터 Vero 세포를 수득하고, 하기 단계 (마이크 베리(Mike Berry)의 실험실에서 개발됨)에 따라 혈청-비함유 배지에서 성장하도록 적응시켰다.
- [0251] 1. T-25 플라스크 P121에서 DMEM + 5% v/v FBS 중의 ATCC CCL-81 바이알을 해동시킨다;
- [0252] 2. DMEM + 5% v/v FBS P126 중에서 5번의 통과로 확장시킨다;
- [0253] 3. FBS 성장 세포를 T-225 플라스크 중의 옵티프로(OptiPRO) (인비트로젠 코퍼레이션(Invitrogen Corporation))로 직접 이동시킨다;
- [0254] 4. 옵티프로 중에서 7번의 통과로 확장시킨다;
- [0255] 5. 통로 133-7에서 프리-마스터 셀 बैं크 스톡(Pre-Master Cell Bank Stock)을 동결시킨다;
- [0256] 6. 옵티프로 중에서 4번의 통과로 확장시킨다;
- [0257] 7. 통로 137에서 마스터 셀 बैं크 스톡을 동결시킨다;
- [0258] 8. 옵티프로 중에서 4번의 통과로 확장시킨다;
- [0259] 9. 통로 141에서 워킹(Working) 셀 बैं크 스톡을 동결시킨다; 및
- [0260] 10. 전기천공법 및 바이러스 증폭을 위해 해동 및 확장시킨다.
- [0261] 바이러스 입자의 복구를 위한 방법을 본 섹션의 상기에 기재한다.
- [0262] 특정 실시양태에서, 복구에 사용되는 세포는 동물 또는 인간으로부터 유도된 성분을 첨가하지 않고 성장되고(거나) 유지될 수 있는 세포이다. 특정 실시양태에서, 바이러스 복구에 사용되는 세포는 혈청 없이 성장에 적응된 세포이다. 구체적인 실시양태에서, SF Vero 세포가 바이러스의 복구에 사용된다. 특정 실시양태에서, 세포는 4 mM L-글루타민이 보충된 옵티프로 SFM (인비트로젠 코퍼레이션)에서 성장되고(거나) 유지된다. 특정 실시양태에서, 세포를 혈청이 보충된 배지에서 성장시키지만, 바이러스 입자의 복구를 위해 상기 세포를 혈청-비함유 배지로 이동시킨다. 구체적인 실시양태에서, 세포를 혈청-비함유 배지중에 세척하여 바이러스 복구가 혈청-비함유 환경에서 일어나도록 보증한다.
- [0263] 플라스미드는 세포와 함께 사용할 수 있는 당업자에게 공지된 임의의 방법에 의해, 예를 들어 인산칼슘 형질감염, DEAE-텍스트란 형질감염, 전기천공법 또는 리포솜 매개의 형질감염 (문헌 [Chapter 9 of Short Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al. (editors), John Wiley & Sons, Inc., 1999] 참고)에 의해 세포로 도입된다. 구체적인 실시양태에서, 전기천공법을 사용하여 플라스미드 DNA를 세포로 도입시킨다. SF Vero 세포는 리포펙션(lipofection)에 내성이다. 요구되는 플라스미드로 형질감염된 세포를 선별하기 위하여, 플라스미드는 특정 마커를 보유할 수도 있다. 이러한 마커로는 특정한 항생제 (예를 들어, 카나마이신, 블라스티시딘, 암피실린, 히그로마이신(Hygromycin) B, 퓨로마이신(Puromycin) 및 제오신(Zeocin)TM)에 내성인 것, 마커 없이는 특정한 자가영양 성질이 없는 세포에게 상기 성질을 부여하는 마커, 또는 세포의 성장에 필요하지만 플라스미드가 도입된 세포에서 돌연변이인 유전자일 수 있는 마커를 들 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [0264] 바이러스 게놈 및(또는) 바이러스 유전자의 전사는 프로모터의 전사 제어하에 진행된다. 따라서, 바이러스 게놈 또는 바이러스 단백질을 코딩하는 서열은 프로모터 서열에 작동가능하게 연결된다. 당업자에게 공지된 임의의 프로모터/RNA 폴리머라제 시스템을 본 발명의 방법에 사용할 수 있다. 특정 실시양태에서, 프로모터는 세포

에 내생적인 RNA 폴리머라제에 의한 전사를 허용하는 프로모터, 예를 들어 세포 DNA 의존성 RNA 폴리머라제, 예를 들어 RNA 폴리머라제 I (Pol I) 또는 RNA 폴리머라제 II (Pol II)에 의해 인식되는 프로모터 서열일 수 있다. 특정 실시양태에서, 프로모터는 유도성 프로모터일 수 있다. 특정 실시양태에서, 프로모터는 세포에 내생적이지 않은 RNA 폴리머라제에 의한 전사를 허용하는 프로모터일 수 있다. 보다 구체적인 특정 실시양태에서, 프로모터는 T3 프로모터, T7 프로모터, SP6 프로모터, 또는 CMV 프로모터이다. 사용되는 프로모터의 유형에 따라, 프로모터를 인식하는 RNA 폴리머라제를 코딩하는 플라스미드가 또한 세포로 도입되어 적절한 RNA 폴리머라제를 제공한다. 구체적인 실시양태에서, RNA 폴리머라제는 T3 RNA 폴리머라제, T7 RNA 폴리머라제, SP6 RNA 폴리머라제, 또는 CMV RNA 폴리머라제이다. 구체적인 실시양태에서, 바이러스 유전자 및 바이러스 게놈은 T7 프로모터의 제어 하에 전사되고, T7 RNA 폴리머라제를 코딩하는 플라스미드가 도입되어 T7 RNA 폴리머라제를 제공한다. 폴리머라제의 전사는 사용되는 세포 유형에서 기능할 수 있는 임의의 프로모터 시스템의 제어하에 진행된다. 구체적인 실시양태에서, CMV 프로모터를 사용한다.

[0265] 바이러스 게놈은 + 또는 - 배향일 수 있다. 따라서, 바이러스 게놈은 유전 물질로부터 전사되어 바이러스 게놈의 포지티브 센스 카피 (안티게놈 카피) 또는 바이러스 게놈의 네가티브 센스 카피 (게놈 카피)를 발생시킬 수 있다. 특정 실시양태에서, 바이러스 게놈은 본 발명의 재조합, 키메라 및(또는) 약독화 바이러스이다. 특정 실시양태에서, 바이러스 복제 및 복구의 효율은 바이러스 게놈이 핵사머 길이인 경우에 향상될 수 있다. 바이러스 게놈이 적절한 길이이도록 보증하기 위하여, 리보자임 촉매 활성을 보유하는 간염 델타 바이러스 (HDV) 리보자임 서열, 햄머헤드(Hammerhead) 리보자임 서열, 또는 그의 단편을 비롯한 리보자임 서열을 이용하여 5' 또는 3' 말단을 규정할 수 있다.

[0266] 특정 실시양태에서, 복제 및 복구에 필요한 바이러스 단백질로는 N, P, 및 L 유전자를 들 수 있다. 보다 구체적인 특정 실시양태에서, 복제 및 복구에 필요한 바이러스 단백질로는 N, P, M2-1 및 L 유전자를 들 수 있다.

[0267] 5.4. 재조합 바이러스의 약독화

[0268] 본 발명의 재조합 바이러스는 추가로 유전 조작되어 약독화된 표현형을 나타낼 수 있다. 특히, 본 발명의 재조합 바이러스는 바이러스를 백신으로서 투여한 대상체에서 약독화된 표현형을 나타낸다. 약독화는 당업자에게 공지된 임의의 방법으로 달성할 수 있다. 이론에 구속됨이 없이, 예를 들어 의도된 숙주에서 자연적으로 잘 복제되지 않는 바이러스를 이용하여 (예를 들어, 인간에서 소 PIV3 벡터를 이용하여), 바이러스 게놈의 복제 감소, 숙주 세포를 감염시키는 바이러스의 능력 감소, 또는 바이러스의 야생형 균주에 관한 감염성 바이러스 입자로 조립하는 바이러스 단백질의 능력 감소에 의해, 재조합 바이러스의 약독화된 표현형이 유발될 수 있다. 바이러스의 특정 서열, 예를 들어 리더 및 트레일러 서열의 생존율은 미니게놈 검정법을 이용하여 시험할 수 있다 (섹션 5.5.1 참고).

[0269] 본 발명의 재조합 바이러스의 약독화된 표현형은 당업자에게 공지된 임의의 방법으로 시험할 수 있다 (예를 들어, 섹션 5.5 참고). 예를 들어, 후보자 바이러스는 숙주를 감염시키는 그의 능력 또는 세포 배양물 시스템에서의 복제율에 대해 시험할 수 있다. 특정 실시양태에서, 미니게놈 시스템을 사용하여, 변화된 유전자가 N, P, L, M2 또는 이의 조합인 경우의 약독화된 바이러스를 시험한다. 특정 실시양태에서, 상이한 온도에서의 성장 커브를 이용하여 바이러스의 약독화된 표현형을 시험한다. 예를 들어, 약독화된 바이러스는 35°C에서 성장할 수 있지만, 39°C 또는 40°C에서는 성장하지 못한다. 특정 실시양태에서, 상이한 세포주를 사용하여 바이러스의 약독화된 표현형을 평가할 수 있다. 예를 들어, 약독화된 바이러스가 원숭이 세포주에서만 성장할 수 있으나, 인간 세포주에서는 그렇지 않거나, 또는 상이한 세포주에서의 달성가능한 바이러스 역가가 약독화된 바이러스에 대해서 상이하다. 특정 실시양태에서, 햄스터, 코튼 래트, 마우스 및 기니 피그를 포함하나 이에 제한되지 않는 작은 동물 모델의 기도(氣道)에서의 바이러스 복제를 사용하여 바이러스의 약독화된 표현형을 평가할 수 있다. 다른 실시양태에서, 항체 역가 (예를 들어, 플라크 감소 중화 검정법 또는 ELISA로 검정함)를 포함하나 이에 제한되지 않는 바이러스에 의해 유도된 면역 반응을 이용하여 바이러스의 약독화된 표현형을 평가할 수 있다. 구체적인 실시양태에서, 플라크 감소 중화 검정법 또는 ELISA를 저용량에서 수행한다. 특정 실시양태에서, 동물 모델에서의 병리학적 징후를 이끌어 내는 재조합 바이러스의 능력을 시험할 수 있다. 동물 모델 시스템에서의 병리학적 징후를 이끌어 내는 바이러스의 능력 감소는 그의 약독화된 표현형의 지표이다. 구체적인 실시양태에서, 후보자 바이러스는 점액 생산으로 표현되는 비측 감염에 대한 원숭이 모델에서 시험된다.

[0270] 본 발명의 바이러스는 바이러스의 기능적 특성 중 하나 이상이 부여되도록 약독화될 수 있다. 특정 실시양태에서, 약독화는 약독화 바이러스가 유도된 바이러스의 야생형 균주와의 비교를 통해 측정한다. 다른 실시양태에

서, 약독화는 상이한 숙주 시스템에서의 약독화 바이러스의 성장을 비교함으로써 결정한다. 따라서, 비제한적 예를 들면, 인간 숙주에서 소과 PIV3의 성장이 소과 숙주에서의 소과 PIV3의 성장에 비해 감소된다면, 소과 PIV3은 인간 숙주에서의 성장시 약독화된다고 말한다.

[0271] 특정 실시양태에서, 본 발명의 약독화 바이러스는 숙주를 감염시킬 수 있고, 감염성 바이러스 입자를 생산하도록 숙주에서 복제될 수 있다. 그러나, 야생형 균주와 비교해 보면, 약독화 균주는 보다 낮은 역가로 성장하거나, 보다 서서히 성장한다. 당업자에게 공지된 임의의 기술을 사용하여 약독화 바이러스의 성장 곡선을 결정하고, 이를 야생형 바이러스의 성장 곡선과 비교할 수 있다. 예시적인 방법에 대해서는 아래의 실시예 섹션을 참고한다. 구체적인 실시양태에서, 약독화 바이러스는 기재된 바와 같은 조건하에서 Vero 세포 중 10^5 pfu/ml 미만, 10^4 pfu/ml 미만, 10^3 pfu/ml 미만, 또는 10^2 pfu/ml 미만의 역가로 성장한다.

[0272] 특정 실시양태에서, 본 발명의 약독화 바이러스 (예를 들어, 키메라 PIV3) 뿐만 아니라 야생형 바이러스 (예를 들어, 야생형 PIV3)도 인간 세포에서 복제될 수 없다. 그러나, 약독화 바이러스는 인터페론 기능이 없는 세포주, 예를 들어 Vero 세포에서 잘 복제될 수 있다.

[0273] 다른 실시양태에서, 본 발명의 약독화 바이러스는 숙주를 감염시키고, 숙주에서 복제되고, 본 발명의 바이러스의 단백질이 세포질막으로 삽입되도록 할 수 있으나, 약독화 바이러스는 숙주가 신규 감염성 바이러스 입자를 생산하게 하지 못한다. 특정 실시양태에서, 약독화 바이러스는 야생형 포유동물 바이러스와 동일한 효율로 숙주를 감염시키고, 숙주에서 복제되고, 바이러스 단백질을 숙주의 세포질막으로 삽입시킨다. 다른 실시양태에서, 바이러스 단백질이 숙주 세포의 세포질막으로 삽입되게 하는 약독화 바이러스의 능력은 야생형 바이러스에 비해 감소된다. 특정 실시양태에서, 숙주에서 복제되는 약독화된 포유동물 바이러스의 능력은 야생형 바이러스에 비해 감소된다. 당업자에게 공지된 임의의 기술을 사용하여 바이러스가 포유동물 세포를 감염시키고, 숙주 내에서 복제되고, 바이러스 단백질을 숙주의 세포질막으로 삽입시킬 수 있는지의 여부를 결정할 수 있다. 예시적인 방법에 대해서는 섹션 5.5를 참고한다.

[0274] 특정 실시양태에서, 본 발명의 약독화 바이러스는 숙주를 감염시킬 수 있다. 그러나, 야생형 PIV와 반대로, 약독화 PIV는 숙주에서 복제될 수 없다. 구체적인 실시양태에서, 약독화 바이러스는 숙주를 감염시킬 수 있고, 숙주로 하여금 그의 세포질막 내로 바이러스 단백질을 삽입시킬 수 있으나, 약독화 바이러스는 숙주 내에서 복제될 수 없다. 당업자에게 공지된 임의의 방법을 사용하여 약독화 바이러스가 숙주를 감염시켰고, 숙주로 하여금 그의 세포질막 내로 바이러스 단백질을 삽입시켰는지의 여부를 시험할 수 있다.

[0275] 특정 실시양태에서, 숙주를 감염시키는 약독화된 포유동물 바이러스의 능력은 동일한 숙주를 감염시키는 야생형 바이러스의 능력에 비해 감소된다. 당업자에게 공지된 임의의 기술을 사용하여 바이러스가 숙주를 감염시킬 수 있는지의 여부를 결정할 수 있다. 예시적인 방법에 대해서는 섹션 5.5를 참고한다.

[0276] 특정 실시양태에서, 돌연변이 (예를 들어, 미스센스 돌연변이)를 바이러스의 게놈으로 도입시켜 약독화된 표현형을 갖는 바이러스를 발생시킨다. 돌연변이 (예를 들어, 미스센스 돌연변이)는 재조합 바이러스의 N-유전자, P-유전자, F-유전자, M2-유전자, M2-1-유전자, M2-2-유전자, SH-유전자, G-유전자 또는 L-유전자로 도입시킬 수 있다. 돌연변이는 부가, 치환, 결실 또는 이의 조합일 수 있다. 구체적인 실시양태에서, N, P, L 또는 M2 단백질에 대한 단일 아미노산 결실 돌연변이를 도입시키는데, 이를 미니게놈 검정 시스템에서의 기능성에 대해 스크리닝할 수 있고, 바이러스에서의 예상되는 기능성에 대해 평가할 수 있다. 보다 구체적인 실시양태에서, 미스센스 돌연변이는 저온-민감성 돌연변이이다. 다른 실시양태에서, 미스센스 돌연변이는 고온-민감성 돌연변이이다. 한 실시양태에서, 바이러스의 P 단백질의 주요 포스포릴화 부위가 제거된다. 다른 실시양태에서, 돌연변이(들)을 바이러스의 L 유전자로 도입시켜 온도 민감성 균주를 발생시킨다. 또다른 실시양태에서, F 유전자의 절단 부위는 절단이 발생하지 않거나 매우 낮은 효율로 발생하도록 하는 방식으로 돌연변이된다.

[0277] 다른 실시양태에서, 결실이 재조합 바이러스의 게놈으로 도입된다. 보다 구체적인 실시양태에서, 결실은 재조합 바이러스의 N-유전자, P-유전자, F-유전자, M2-유전자, M2-1-유전자, M2-2-유전자, SH-유전자, G-유전자 또는 L-유전자로 도입될 수 있다. 구체적인 실시양태에서, 결실은 본 발명의 재조합 바이러스의 M2-유전자에 존재한다. 다른 구체적인 실시양태에서, 결실은 본 발명의 재조합 바이러스의 SH-유전자에 존재한다. 또다른 구체적인 실시양태에서, M2-유전자 및 SH-유전자가 모두 결실된다.

[0278] 특정 실시양태에서, 재조합 바이러스의 유전자간 영역이 변경된다. 한 실시양태에서, 유전자간 영역의 길이가 변경된다. 예시적인 예에 대해서는 섹션 5.1.2를 참고한다. 다른 실시양태에서, 유전자간 영역은 바이러스 게

놈의 5' 말단에서 3' 말단으로 전가된다.

- [0279] 다른 실시양태에서, 재조합 바이러스의 유전자(들)의 게놈 위치가 변화된다. 한 실시양태에서, F 또는 G 유전자는 게놈의 3' 말단으로 이동된다. 다른 실시양태에서, N 유전자는 게놈의 5' 말단으로 이동된다.
- [0280] 특정 실시양태에서, 바이러스의 약독화는 야생형 바이러스의 유전자를 상이한 종의 바이러스의 유전자로 대체함으로써 달성된다. 예시적인 실시양태에서, bPIV3의 N-유전자, P-유전자, F-유전자, M2-유전자, M2-1-유전자, M2-2-유전자, SH-유전자, HN-유전자 또는 L-유전자가 각각 hPIV3의 N-유전자, P-유전자, F-유전자, M2-유전자, M2-1-유전자, M2-2-유전자, SH-유전자, HN-유전자 또는 L-유전자로 대체된다. 다른 예시적인 실시양태에서, hPIV3의 N-유전자, P-유전자, F-유전자, M2-유전자, M2-1-유전자, M2-2-유전자, SH-유전자, HN-유전자 또는 L-유전자가 각각 bPIV3의 N-유전자, P-유전자, F-유전자, M2-유전자, M2-1-유전자, M2-2-유전자, SH-유전자, HN-유전자 또는 L-유전자로 대체된다. 바람직한 실시양태에서, 바이러스의 약독화는 하나 이상의 폴리머라제 관련 유전자 (예를 들어, N, P, L 또는 M2)를 상이한 종의 바이러스의 유전자로 대체함으로써 달성된다.
- [0281] 특정 실시양태에서, 바이러스의 약독화는 야생형 바이러스의 단백질의 하나 이상의 특정 도메인을 상이한 종의 바이러스의 상응하는 단백질로부터 유도된 도메인으로 대체하거나 결실시킴으로써 달성한다. 예시적인 실시양태에서, bPIV3의 F 단백질의 엑토도메인을 메타뉴모바이러스의 F 단백질의 엑토도메인으로 대체한다. 바람직한 실시양태에서, L, N, 또는 P 단백질의 하나 이상의 특정 도메인을 상이한 종의 바이러스의 상응하는 단백질로부터 유도된 도메인으로 대체한다. 다른 예시적인 실시양태에서, 가용성 F 단백질이 발현되도록 F 단백질의 막관통 도메인을 결실시킨다.
- [0282] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 재조합 바이러스의 리더 및(또는) 트레일러 서열이 변형되어 약독화 표현형을 달성할 수 있다. 보다 구체적인 특정 실시양태에서, 리더 및(또는) 트레일러 서열은 야생형 바이러스에 비해 길이상으로 1개 이상의 뉴클레오타이드, 2개 이상의 뉴클레오타이드, 3개 이상의 뉴클레오타이드, 4개 이상의 뉴클레오타이드, 5개 이상의 뉴클레오타이드 또는 6개 이상의 뉴클레오타이드까지 감소된다. 다른 보다 구체적인 특정 실시양태에서, 재조합 바이러스의 리더 및(또는) 트레일러의 서열은 돌연변이된다. 구체적인 실시양태에서, 리더 및(또는) 트레일러 서열은 서로에 대해 100% 상보적이다. 다른 실시양태에서, 1개의 뉴클레오타이드, 2개의 뉴클레오타이드, 3개의 뉴클레오타이드, 4개의 뉴클레오타이드, 5개의 뉴클레오타이드, 6개의 뉴클레오타이드, 7개의 뉴클레오타이드, 8개의 뉴클레오타이드, 9개의 뉴클레오타이드, 또는 10개의 뉴클레오타이드가 서로에 대해 상보적이지 않고, 리더 및(또는) 트레일러 서열의 나머지 뉴클레오타이드가 서로에 대해 상보적이다. 특정 실시양태에서, 비상보적 뉴클레오타이드는 서로 동일하다. 다른 특정 실시양태에서, 비상보적 뉴클레오타이드는 서로 상이하다. 다른 실시양태에서, 트레일러에서의 비상보적 뉴클레오타이드가 퓨린이면, 리더 서열에서의 상응하는 뉴클레오타이드는 또한 퓨린이다. 다른 실시양태에서, 트레일러에서의 비상보적 뉴클레오타이드가 피리미딘이면, 리더 서열에서의 상응하는 뉴클레오타이드는 또한 퓨린이다.
- [0283] 살아있는 약독화 백신을 사용하는 경우, 그의 안전성을 또한 고려해야만 한다. 백신은 질병을 유발시켜서는 안 된다. 백신을 안전하게 제조할 수 있는 당업계에 공지된 임의의 기술을 본 발명에 사용할 수 있다. 약독화 기술 이외에, 다른 기술을 사용할 수 있다. 비제한적인 한 예는 비리온 막으로 혼입될 수 없는 가용성 이중 유전자를 사용하는 것이다. 예를 들어, 가용성 RSV F 유전자의 단일 카피, 막관통 및 세포질 도메인이 없는 RSV 유전자의 형태를 사용할 수 있다. 이는 비리온 막으로 혼입될 수 없기 때문에, 바이러스 형성이 변화되리라고 예상되지 않는다.
- [0284] 다양한 검정법을 이용하여 백신의 안전성을 시험할 수 있다. 아래의 섹션 5.5.를 참고한다. 특히, 수크로스 구배 및 중화 검정법을 사용할 수 있다. 수크로스 구배 검정법을 사용하여 이중 단백질이 비리온에 삽입되는지의 여부를 결정할 수 있다. 이중 단백질이 비리온에 삽입된다면, 비록 모체 균주가 징후를 유발시키지 않더라도, 비리온을 징후를 유발시키는 그의 능력에 대해 시험해야 한다. 이론에 구속됨이 없이, 이중 단백질이 비리온에 혼입된다면, 바이러스는 새로운 가능한 병리학적 성질을 수득하게 될 수 있다.
- [0285] **5.5. 바이러스 역가, 항원성 서열의 발현, 키메라 바이러스의 면역원성 및 기타 특성의 측정**
- [0286] 세포 배양 시스템, 동물 모델 시스템 또는 대상체 내에서의 키메라 또는 재조합 바이러스의 성장 속도를 측정하기 위해, 본 발명에 따라 수많은 검정법을 사용할 수 있다. 또한, 비리온의 감염, 복제 및 패키징을 달성하기 위한 키메라 및 재조합 바이러스의 요건을 조사하기 위해, 본 발명에 따라 수많은 검정법을 사용할 수 있다.
- [0287] 본원에 기재된 검정법을 사용하여 바이러스의 성장 특성을 측정하기 위한 시간에 따른 바이러스 역가를 검정할 수 있다. 구체적인 실시양태에서, 바이러스 역가는 감염된 세포 또는 감염된 대상체로부터 샘플을 얻고, 이 샘플

플을 계단 희석시키고, 단일 플라크가 출현되도록 하는 바이러스의 희석에서 바이러스에 감염되기 쉬운 단층의 세포를 감염시킴으로써 측정된다. 이어서, 플라크를 계산할 수 있고, 바이러스 역가는 샘플의 밀리리터 당 플라크 형성 단위로 표시한다. 본 발명의 구체적인 실시양태에서, 대상체 내에서의 본 발명의 바이러스의 성장 속도는 대상체 내에서의 바이러스에 대한 항체의 역가에 의해 평가된다. 이론에 구애받지 않고, 대상체 내에서의 항체 역가는 대상체 내의 바이러스 역가뿐만 아니라 항원성을 반영한다. 바이러스의 항원성이 일정하다면, 대상체 내에서의 항체 역가의 증가를 사용하여 대상체 내에서의 바이러스의 성장 곡선을 측정할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 동물 또는 인체 내에서 바이러스의 성장 속도는 감염 후 다중 시점에서 숙주의 생물학적 체액을 샘플링하고 바이러스 역가를 측정함으로써 가장 바람직하게 시험된다.

[0288] 세포 배양 시스템 또는 대상체 내에서의 이중 유전자 서열의 발현은 당업자에게 공지된 임의의 기술로 측정할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 이중 유전자의 발현은 전사체의 농도를 정량화하여 측정한다. 전사체의 수준은 그 전사체 특이적 프로브 또는 프라이머를 각각 사용하는 노던 블롯 분석이나 RT-PCR에 의해 측정할 수 있다. 바이러스는 안티센스 방향으로 있지만, 전사체는 센스 방향으로 있기 때문에, 전사체는 바이러스의 게놈과 구별할 수 있다. 특정한 실시양태에서, 이중 유전자의 발현은 이중 유전자의 단백질 산물의 수준을 정량화하여 측정한다. 단백질의 수준은 그 단백질 특이적 항체를 사용하는 웨스턴 블롯 분석으로 측정할 수 있다.

[0289] 구체적인 실시양태에서, 이중 유전자는 펩티드 태그로 태깅(tagged)된다. 펩티드 태그는 그에 대한 항체를 사용하여 검출할 수 있다. 검출된 펩티드 태그의 수준은 이중 유전자로부터 발현된 단백질의 수준을 나타낸다. 별법으로서, 이중 유전자로부터 발현된 단백질은 펩티드 태그로 인해 단리될 수 있다. 정제된 단백질의 양은 이중 유전자의 발현 수준과 연관되어 있다. 이러한 펩티드 태그, 및 이에 융합된 단백질의 단리 방법은 당업계에 널리 알려져 있다. 당업계에 알려진 각종 펩티드 태그를 이중 유전자, 예컨대 면역글로불린 불변 영역, 폴리히스티딘 서열(문헌 [Petty, 1996, Metal-chelate affinity chromatography, in Current Protocols in Molecular Biology, volume 1-3 (1994-1998). Ed. by Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A. and Struhl, K. Published by John Wiley and sons, Inc., USA, Greene Publish. Assoc. Wiley Interscience]), 글루타티온 S-트랜스퍼라제(문헌 [GST; Smith, 1993, Methods Mol. Cell Bio. 4:220-229]), 대장균 말토오스 결합 단백질(문헌 [Guan et al., 1987, Gene 67:21-30]), 여러가지 셀룰로오스 결합 도메인(툼(Tomme) 등의 미국 특허 제5,496,934호, 동 제5,202,247호, 동 제5,137,819호, 문헌 [1994, Protein Eng. 7:117-123]), 및 FLAG 에피토프(문헌 [Short Protocols in Molecular Biology, 1999, Ed. Ausubel et al., John Wiley & Sons, Inc., Unit 10.11]) 등의 변형에 사용할 수 있지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 다른 펩티드 태그는 특이적 결합 파트너에 의해 인식되므로, 바람직하게는 고정되거나 고정 지지체 상 고정되는 결합 파트너에 결합하려는 친화성에 의한 단리를 촉진한다. 당업자에게 이해될 바와 같이, DNA 클로닝, DNA 증폭 및 합성 방법을 포함하지만 이들로 한정되지는 않는 많은 방법들을 사용하여 상기 펩티드 태그의 코딩 영역을 획득할 수 있다. 일부 펩티드 태그 및 그의 검출 및 단리를 위한 시약을 구입할 수 있다.

[0290] 대상체로부터의 샘플을 당업자에게 공지된 임의의 방법으로 얻을 수 있다. 특정한 실시양태에서, 샘플은 비강 흡인물, 인두 면봉 채취물, 가래 또는 기관지-치조 세척물로 이루어진다.

[0291] 5.5.1. 미니게놈 구조물

[0292] 소복제단위 구조물을 생성하여 안티센스 리포터 유전자를 함유시킬 수 있다. 당업자에게 공지된 임의의 리포터 유전자를 본 발명에 사용할 수 있다. 구체적인 실시양태에서, 리포터 유전자는 CAT이다. 특정한 실시양태에서, 리포터 유전자는 간염 델타 리보자임(Hep-d Ribo) 및 T7 중합효소 종결(T-T7) 신호에 연결된 음성-센스 bPIV 또는 hPIV 리더, 및 T7 RNA 중합효소 프로모터에 의해 선행되는 bPIV 또는 hPIV 트레일러 서열에 의해 인접될 수 있다.

[0293] 특정한 실시양태에서, 소복제단위 코딩 플라스미드는 숙주 세포로 형질감염된다. 숙주 세포는 T7 RNA 중합효소, N 유전자, P 유전자, L 유전자 및 M2.1 유전자를 발현한다. 특정한 실시양태에서, 숙주 세포는 T7 RNA 중합효소, N 유전자, P 유전자, L 유전자 및 M2.1 유전자를 코딩하는 플라스미드로 형질감염된다. 다른 실시양태에서, 소복제단위 코딩 플라스미드는 숙주 세포로 형질감염되고, 숙주 세포는 헬퍼 바이러스로 감염된다.

[0294] 리포터 유전자의 발현 수준 및(또는) 그의 활성은 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예컨대 5.5.6절에 기재된 방법으로 검정할 수 있지만 이로 한정되는 것은 아니다.

[0295] 보다 구체적인 특정한 실시양태에서, 소복제단위는 나열 순서대로 T7 RNA 중합효소 또는 RNA 중합효소 I, 리더 서열, 유전자 시작점, GFP, 트레일러 서열, 간염 델타 리보자임 서열 또는 RNA 중합효소 I 종결 서열이라는 요

소를 포함한다. T7이 RNA 중합효소로서 사용되는 경우, 간염 델타 리보자임 서열은 종결 서열로서 사용되어야 한다. RNA 중합효소 I이 사용되는 경우, RNA 중합효소 I 종결 서열은 종결 신호로서 사용될 수 있다. 구조 시스템에 따라, 소복제단위의 서열은 센스 또는 안티센스 방향일 수 있다. 특정한 실시양태에서, 리더 서열은 본 발명의 바이러스의 야생형 리더 서열에 상대적으로 변형 가능하다. 리더 서열은 임의로 AC를 선행시킬 수 있다. T7 프로모터 서열은 전사를 향상시키는 G-이중자 또는 삼중자가 있을 수도 없을 수도 있다.

[0296] 구체적인 실시양태에서, 세포는 T0에서 본 발명의 바이러스에 감염된다. 24시간 후인 T24에서 세포는 소복제단위 구조물로 형질감염된다. T0에서부터 48시간이 지난 후 및 T0에서부터 72시간이 지난 후, 세포를 리포터 유전자의 발현에 대해 시험한다. 형광 리포터 유전자 생성물을 사용하는 경우(예컨대 GFP), 리포터 유전자의 발현은 FACS를 사용하여 시험할 수 있다.

[0297] 다른 실시양태에서, 세포는 T=0시간에서 6개의 플라스미드로 형질감염된다. 이어서, T=40시간 및 T=60시간에서 세포를 수거하여 CAT 또는 GFP 발현에 대해 분석한다.

[0298] 다른 구체적인 실시양태에서, 세포는 T0에서 MVA-T7로 감염된다. 1시간 후인 T1에서, 세포는 소복제단위 구조물로 형질감염된다. T0에서부터 24시간이 지난 후, 세포는 본 발명의 바이러스로 감염된다. T0에서 72시간이 지난 후, 세포를 리포터 유전자의 발현에 대해 시험한다. 형광 리포터 유전자를 사용하는 경우(예컨대 GFP), 리포터 유전자의 발현은 FACS를 사용하여 시험할 수 있다.

[0299] 5.5.2. 감염 발생률의 측정

[0300] 감염의 발생은 감염의 존재에 대한 임상 샘플(예컨대, 비강 면봉 채취물)에 대한 시험을 포함하지만 이들로 한정되지는 않는, 당업계에 널리 알려진 임의의 방법으로 측정할 수 있으며, 예를 들어 각각 hMPV, RSV, hPIV 또는 bPIV/hPIV 성분들은 항-hMPV-항원 항체, 항-RSV-항원 항체, 항-hPIV-항원 항체, 및(또는) 이중 뉴클레오티드 서열의 유전자 생성물 특이적 항체를 사용하는 면역형광 검정(IFA)으로 측정할 수 있다.

[0301] 특정한 실시양태에서, 무손상 세포를 함유하는 샘플은 직접 처리할 수 있지만, 무손상 세포를 갖지 않는 단리체는 먼저 증식허용 세포주(예컨대 HEp-2 세포) 상에 배양해야 한다. 예시적 실시양태에서, 배양된 세포 현탁액은 원심분리, 예를 들면 실온에서 5분 동안 300 x g 원심분리 후 동일한 조건 하에 PBS, pH 7.4 (Ca⁺⁺ 및 Mg⁺⁺ 유리) 세척하여 깨끗이 한다. 세포 펠릿을 분석을 위해 작은 부피의 PBS에 재현탁한다. 무손상 세포를 함유하는 1차 임상 단리체를 PBS에 혼합하고, 실온에서 5분 동안 300 x g에서 원심분리한다. 무균 피펫 팁으로 계면으로부터 점액을 제거하고, 세균 펠릿을 동일한 조건 하에 PBS로 1회 이상 세척한다. 이어서, 펠릿을 분석을 위해 작은 부피의 PBS에 재현탁한다. 각 세포 현탁액의 5 내지 10 μ l를 아세톤 세척된 12-웰 HTC 슈퍼큐어드(superfused) 유리 슬라이드 상에 5 mm 웰마다 점적하고, 공기 건조시킨다. 슬라이드를 저온(-20°C)의 아세톤에 10분 동안 고정시킨다. PBS-1% BSA를 각각의 웰에 첨가한 다음 실온에서 10분 동안 인큐베이션하여 반응을 차단한다. 슬라이드는 PBS-0.1% 트윈(Tween)-20에서 3회 세척하고 공기 건조시킨다. 차단 완충액 중에서 250 ng/ml로 희석시킨 각각의 1차 항체 시약 10 μ l를 각 웰에 점적하고, 37°C의 항습 환경에서 30분 동안 인큐베이션한다. 이어서, 슬라이드를 PBS-0.1% 트윈-20을 3번 바꿈가면서 광범위하게 세척하고 공기 건조시킨다. 차단 완충액 중에서 250 ng/ml로 희석시킨 적절한 2차 접합 항체 시약 10 μ l를 각 웰마다 점적하고, 반응물을 37°C의 항습 환경에서 30분 더 인큐베이션한다. 그 후, 슬라이드를 PBS-0.1% 트윈-20을 3번 바꿈가면서 세척한다. 5 μ l의 PBS-50% 글리세롤-10 mM 트리스 pH 8.0-1 mM EDTA를 각 반응 웰마다 점적하고, 슬라이드를 덮개 유리로 덮었다. 각각의 반응 웰을 이어서 B-2A 필터(EX 450 내지 490 nm)를 사용하여 200X 동력에서 형광 현미경 검사법으로 분석한다. 비염색 세포 또는 2차 시약만으로 염색된 세포로부터 얻어진 자동형광 배경에 대해 양성 반응을 스코어링한다. RSV 양성 반응은 감염된 세포의 세포질 내의 작은 포함물로 강조된 밝은 형광으로 특징된다.

[0302] 5.5.3. 혈청 역가의 측정

[0303] 항체 혈청 역가를 당업계에 널리 공지된 임의의 방법, 예를 들어 혈청 샘플 중 항체 또는 항체 단편의 양을 샌드위치 ELISA로 정량화할 수 있는 방법으로 측정할 수 있지만, 이로 한정되는 것은 아니다. 간략히, ELISA는 혈청 중 항체 또는 항체 단편을 인식하는 항체로 미소역가판을 4°C에서 밤새 코팅하는 것으로 이루어진다. 이어서, 판을 실온에서 약 30분 동안 PBS-트윈-0.5% BSA로 차단한다. 표준 곡선은 PBS-BSA-BSA 중에 희석된 정제 항체 또는 항체 단편을 사용하여 구축화되고, 샘플을 PBS-BSA 중에 희석한다. 샘플 및 표준물을 검정판의 2 웰에 첨가하고, 실온에서 약 1시간 동안 인큐베이션한다. 다음으로, 비결합 항체를 PBS-트윈으로 씻어내고, 결합 항체를 표지된 2차 항체(예컨대, 홍당무 과산화효소 접합 양-항-인간 IgG)로 실온에서 약 1시간 동안 처리

한다. 표지된 항체의 결합은 표지 특이적 유색 기질을 첨가하고, 기질 전환율을, 예를 들어 분광광도계로 측정함으로써 검출된다. 혈청 중 항체 또는 항체 단편 수준의 농도는 샘플의 기질 전환율 대 표준 곡선의 기질 전환율을 비교함으로써 측정된다.

[0304] **5.5.4. 접종 연구**

[0305] 본 검정법은 코튼 래트(cotton rat), 시리안 골든 햄스터(Syrian Golden hamster) 및 Balb/c 마우스를 포함하지만 이들로 한정되지는 않는 동물 모델 시스템에서 하기도 바이러스 감염을 예방하기 위한, 본 발명의 재조합 바이러스의 능력 및 본 발명의 백신의 능력을 측정하는 데 사용하는 것이다. 재조합 바이러스 및(또는) 백신은 정맥내(IV) 경로, 근육내(IM) 경로 또는 비강내 경로(IN)로 투여할 수 있다. 재조합 바이러스 및(또는) 백신은 당업자에게 널리 공지된 임의의 기술로 투여될 수 있다. 본 검정법은 또한 항체의 혈청 농도와 항체가 결합하는 바이러스의 폐 역가의 감소를 서로 연관시키는 데 사용하는 것이다.

[0306] 0일, 코튼 래트(시그모돈 히스피디스(*Sigmodon hispidis*), 평균 중량 100 g), 사이노물구스 마카케스(*cynomolgous macacques*) (평균 중량 2.0 kg) 및 햄스터 (예컨대, 시리안 골든 햄스터)를 포함하지만 이들로 한정되지는 않는 동물군에 재조합 바이러스 또는 관심 백신 또는 BSA를 근육내 주입, 정맥내 주입, 또는 비강내 경로에 의해 접종시킨다. 본 발명의 재조합 바이러스 또는 백신의 투여 전, 그와 동시에, 또는 후속하여 동물들을 야생형 바이러스에 감염시키며, 야생형 바이러스란 백신이 생성되었던 것에 대항하는 바이러스이다. 특정한 실시양태에서, 동물들을 1일 이상, 2일 이상, 3일 이상, 4일 이상, 5일 이상, 6일 이상, 1주 이상, 2주 이상, 3주 이상 또는 4주 이상 야생형 바이러스에 감염시키고, 후속하여 본 발명의 재조합 바이러스 및(또는) 백신을 투여한다. 바람직한 실시양태에서, 동물들을 21일 동안 야생형 바이러스에 감염시키고, 후속하여 본 발명의 재조합 바이러스 및(또는) 백신을 투여한다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, 동물들을 28일 동안 야생형 바이러스에 감염시키고, 후속하여 본 발명의 재조합 바이러스 및(또는) 백신을 투여한다.

[0307] 감염 후, 동물들을 희생시키고, 그들의 비갑개 조직 및(또는) 폐 조직을 수거하여 바이러스 역가를 적절한 검정법, 예를 들어 플라크 검정법 및 TCID₅₀ 검정법으로 측정한다. 소혈청 알부민(BSA) 10 mg/kg을 음성 제어로서 사용할 수 있다. 접종시 혈청 중 항체 농도를 샌드위치 ELISA를 사용하여 측정할 수 있다.

[0308] **5.5.5. 임상 시험**

[0309] 시험관내 검정법 및 동물 모델로 시험되었던 본 발명의 백신 또는 그의 단편을 안전성, 허용성, 면역원성, 감염력 및 약동학에 대해서 모든 연령대를 포함하는 건강한 정상인 자원자군으로 추가적으로 평가할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 건강한 자원자는 약 6주 이상된 유아, 어린이 및 어른이다. 자원자에게 본 발명의 재조합 바이러스 및(또는) 본 발명의 백신의 1회량을 비강내 투여, 근육내 투여, 정맥내 투여 또는 폐 전달 시스템에 의해 투여한다. 음성혈청 반응을 보인 6 내지 60개월된 어린이에게는 본 발명의 바이러스 및(또는) 본 발명의 백신의 다수회 투여가 필요할 수도 있다. 본 발명의 바이러스 및(또는) 본 발명의 백신의 다수회 투여는 또한 생애의 첫 6개월 내에 국지적이고 전신적인 면역을 자극하고, 모체 항체에 의한 중화를 극복하는 데 필요할 수 있다. 바람직한 실시양태에서는, 2개월, 4개월 및 6개월령에서의 1차 투여 요법 및 생애의 2년 초반 무렵에 추가 투여를 사용한다. 본 발명의 재조합 바이러스 및(또는) 본 발명의 백신은 단독으로 투여되거나, 또는 상응하는 연령에 추천되는 소아 백신과 동시에 투여될 수 있다.

[0310] 바람직한 실시양태에서, 이중맹검 무작위, 플라시보 대조 임상 시험을 사용한다. 구체적인 실시양태에서, 컴퓨터로 생성시킨 무작위 계획표를 사용한다. 예를 들면, 연구에서 각각의 대상체는 단일 유닛으로서 등록되며, 유일한 사건 번호가 배정될 것이다. 한 가족 내의 여러 대상체는 등록 목적을 위해 개인으로서 처리될 것이다. 부모/보호자, 대상체 및 조사자는 처리군 대상체가 연구 기간 동안 배정되었다는 것에 대해 알지 못할 것이다. 혈청학 및 바이러스학 연구는 처리군 배정에 대해 알지 못하는 실험실 직원에 의해 수행될 것이다. 그러나, 백신 접종 후 얻어지는 비강 세척액으로부터 백신 바이러스를 단리시키는 것은 바이러스학 연구실 직원에 대한 알맞은 백신 접종자를 확인시킬 것으로 예상된다. 혈청학 및 바이러스학 직원은 분리되며, 혈청학군은 배양 결과에 대한 어떠한 지식도 입수하지 못하도록 할 것이다.

[0311] 각각의 자원자는 바람직하게는 본 발명의 재조합 바이러스 및(또는) 본 발명의 백신을 수용하기 전에 12시간 이상 모니터링되며, 각각의 자원자는 임상 부위에 투여량을 수용한 후 15분 이상 모니터링될 것이다. 이어서, 자원자들은 투여 1 내지 14일, 21일, 28일, 35일, 42일, 49일 및 56일 후에 외래 환자로서 모니터링된다. 바람직한 실시양태에서, 자원자들은 외래 환자로서 각각의 백신 접종 후 첫 1달 동안 모니터링된다. 심각한 유해 사례와 관련된 모든 백신은 시험의 전 기간 동안 보고될 것이다. 심각한 유해 사례는 1) 사망에 이르는 것, 2)

즉각적인 생명의 위협, 3) 영구적 또는 실질적인 장애가 됨, 4) 입원하게 되거나 입원 환자의 입원 기간 연장, 5) 선천적 기형이 됨, 6) 암 또는 7) 연구 백신의 과다 투여의 결과로 정의한다. 백신과 관련되지 않은 심각한 유해 사례는 첫 번째 백신 접종일(0일) 시작시 보고되며, 이후 최종 백신 접종까지 30일 동안 계속 보고될 것이다. 백신과 관련되지 않은 심각한 유해 사례는 30일의 보고 기간 이후 최종 백신 접종까지 5 내지 8개월 동안 보고되지 않을 것이다. 백신/플라시보의 투여는 어린이가 백신과 관련된 심각한 유해 사례에 이어 이전의 투여량을 갖는다면 주어지지 않을 것이다. 백신과 관련이 없는 것으로 생각되지만 관심있는 임의의 유해 사례는 다른 투여량을 투여하겠다고 결정하기 전에 임상 연구 모니터 및 의학 모니터가 논의할 것이다.

[0312] 혈액 샘플은 다음의 간격으로, 즉 (1) 본 발명의 재조합 바이러스 및(또는) 본 발명의 백신의 투여량을 투여하기 전, (2) 본 발명의 재조합 바이러스 및(또는) 본 발명의 백신의 투여량을 투여하는 도중, (3) 본 발명의 재조합 바이러스 및(또는) 본 발명의 백신을 투여한 지 5분, 10분, 15분, 20분, 30분, 1시간, 2시간, 4시간, 8시간, 12시간, 24시간 및 48시간 후, 및 (4) 본 발명의 재조합 바이러스 및(또는) 본 발명의 백신을 투여한 지 3일, 7일, 14일, 21일, 28일, 35일, 42일, 49일 및 56일 후에 내재 카테터 또는 직접 정맥 천자를 통해 수집한다(예를 들어, 10 ml 레드-탑(red-top) 진공 채혈관을 사용함). 구체적인 실시양태에서, 총 5개의 채혈(각각 3 내지 5 ml)을 얻으며, 각각 백신 또는 플라시보의 제1, 제3 및 추가 투여량 및 대략 1달 후 제3 및 추가 투여량 투여 바로 직전에 얻는다. 샘플을 실온에서 응고시키고, 혈청을 원심분리 후 수집한다.

[0313] 혈청을 본 발명의 바이러스에 대한 균주 특이적 혈청 적혈구 응집 억제(HAI) 항체 수준에 대해 검사한다. IgG, IgA 또는 중화 항체와 같은 면역원성의 다른 지표도 시험한다. 동시에 주어지는 하나 또는 그 이상의 다른 백신에 반응하는 혈청 항체를 측정할 수 있다. 환자로부터의 샘플 중 본 발명의 재조합 바이러스 및(또는) 본 발명의 백신에 대해 생성된 항체의 양을 ELISA로 정량화할 수 있다. PBMC, 폐 및 비강 세척물 내의 T-세포 면역(세포독성 및 조력 반응)도 모니터링할 수 있다.

[0314] 자원자의 혈청 중 항체 수준의 농도는 본 발명의 재조합 바이러스 및(또는) 본 발명의 백신의 투여량을 투여한 후 각 수집 간격에서의 혈청 수준으로부터 이전 투여량의 혈청 수준(배경 수준)을 빼서 교정한다. 각 자원자마다, 교정된 혈청 항체 또는 항체 단편 농도로부터 모델 독립적 접근법(문헌 [Gibaldi et al., eds., 1982, Pharmacokinetics, 2nd edition, Marcel Dekker, New York])에 따라 약동학 파라미터를 계산한다.

[0315] 백신/플라시보의 각각의 투여량 약 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일 또는 8일후에 얻어진 비강 세척물을 배양하여 본 발명의 백신 바이러스의 분체를 검출할 것이다. 바람직한 실시양태에서, 백신/플라시보의 각각의 투여량 7일 후에 얻은 비강 세척물을 배양한다. 또한 비강인두 면봉 채취물, 인두 면봉 채취물 또는 비강 세척물을 사용하여 연구 중 임의 시간에 의학적으로 속한 열병(102°F 이상의 직장 온도) 및(또는) 크룹, 세기관지염 또는 폐렴에 걸린 자원자 내에서의 다른 바이러스의 존재를 측정한다. 샘플을 드라이 아이스 상에서 연구용으로 지정된 부위에 옮긴다. 본 발명의 백신 바이러스의 단리 및 정량화용 검정법, 및 본 발명의 백신 바이러스를 확인하기 위해 MAb를 사용하는 면역염색 검정법을 사용한다(이러한 검정법의 예는 이하 실시예 부분에 주어짐). 비강 세척물 표본을 IgG, IgA 및 중화 항체를 포함하는 다른 바이러스 및 면역 반응에 대해 시험할 수 있다.

[0316] 5.5.6. 리포터 유전자

[0317] 특정한 실시양태에서, 조직 배양액 또는 동물 모델 중 리포터 유전자 발현의 측정을 위한 검정법을 본 발명의 방법과 함께 사용할 수 있다. 리포터 유전자의 뉴클레오타이드 서열을 바이러스, 예컨대 bPIV, hPIV 또는 b/hPIV3로 복제하며, (i) 리포터 유전자의 위치를 바꾸고, (ii) 리포터 유전자 측면의 유전자간 영역의 길이는 달라진다. 상이한 조합을 검사하여 리포터 유전자의 최적 발현을 및 리포터 유전자를 포함하는 바이러스의 최적 복제율을 측정한다.

[0318] 특정한 실시양태에서, 미니게놈 구조물이 생성되어 리포터 유전자를 포함시킨다. 미니게놈 구조물의 구축화는 5.5.1절에 기재되어 있다.

[0319] 과다한 리포터 유전자 생성물은 당업자에게 공지된 임의의 기술로 측정할 수 있다. 이러한 기술로는 각각 프로브 또는 항체를 사용하는, 리포터 유전자 특이적 노던 블롯 분석 또는 웨스턴 블롯 분석이 있지만, 이들로 한정되지는 않는다.

[0320] 특정한 실시양태에서, 리포터 유전자는 FACS에서 검출할 수 있는 형광 신호를 방출한다. FACS를 사용하여 리포터 유전자가 발현되는 세포를 검출할 수 있다.

[0321] 본 발명의 구체적인 측면을 실행하기 위한 기술은, 달리 지적되지 않는 한 당업자가 일상적으로 실시하는 분자

생물학, 미생물학, 및 재조합 DNA 조작 및 생산의 종래 기술을 사용할 것이다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook, 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition; DNA Cloning, Volumes I and II (Glover, Ed. 1985)] 및 문헌 [Transcription and Translation (Hames Higgins, Eds. 1984)]을 참고로 한다.

[0322] 리포터 유전자 생성물의 생화학적 활성은 리포터 유전자의 발현 수준을 나타낸다. 또한, 리포터 유전자 활성의 총 수준은 본 발명의 재조합 바이러스의 복제율에 좌우된다. 따라서, 재조합 바이러스로부터 리포터 유전자의 참발현 수준을 측정하기 위해, 총 발현 수준을 세포 배양액 또는 동물 모델에서의 재조합 바이러스의 역가로 나누어야 한다.

[0323] 본 발명의 방법과 함께 사용될 수 있는 리포터 유전자는 하기 표 4에 나열되어 있는 유전자를 포함하지만 이들 로 한정되지는 않는다.

표 4

[0324]

리포터 유전자 및 각각의 리포터 유전자 생성물의 생화학적 특성	
리포터 유전자	단백질 활성 및 측정
CAT(클로람페니콜 아세틸트랜스퍼라제)	방사성 아세틸기의 클로람페니콜로의 전이 또는 박막 크로마토그래피 및 자가방사선술에 의한 검출
GAL(b-갈락토시다아제)	무색 갈락토시드를 가수분해하여 유색 산물을 수득함
GUS(b-글루쿠론산 분해 효소)	무색 글루쿠로니드를 유색 산물을 수득함
LUC(루시페라제)	광자를 발산하면서 루시페린을 산화함
GFP(녹색 형광 단백질)	기질이 없는 형광 단백질
SEAF(분비된 알칼리성 인산 분해 효소)	적합한 기질 또는 발색단을 생성하는 기질과의 발광 반응
HRP(홍당무 과산화효소)	산화수소의 존재 하에 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘을 산화시켜 유색 착물을 형성함
AP(알칼리성 인산 분해 효소)	적합한 기질 또는 발색단을 생성하는 기질과의 발광 반응

[0325] 과량의 리포터 유전자는 특히 웨스턴 블롯 분석 또는 노던 블롯 분석, 또는 뉴클레오티드 서열의 전사, 그의 mRNA 단백질의 과량을 정량화하는 데 사용하는 임의의 다른 기술로 측정할 수 있다(문헌 [Short Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al. (editors), John Wiley & Sons, Inc., 4th edition, 1999] 참조). 특정한 실시양태에서, 리포터 유전자 생성물의 활성은 재조합 바이러스로부터 리포터 유전자 발현의 판독으로서 측정된다. 리포터 유전자 생성물의 활성을 정량화하기 위해, 리포터 유전자 생성물의 생화학적 특성을 조사할 수 있다(표 1 참조). 리포터 유전자 생성물의 생화학적 활성을 측정하는 방법은 당업자에게 널리 공지되어 있다. 본 발명의 방법과 함께 사용할 수 있는 예시적인 리포터 유전자의 보다 상세한 설명은 후술한다.

[0326] 루시페라제

[0327] 루시페라제는 산소 및 기질 (루시페린)의 존재 하에 빛을 방출하는 효소이며, 이는 세포 배양액, 개체 세포, 모든 유기체, 및 트랜스제닉 유기체에서의 유전자 발현의 실시간대 저광화상용으로 사용되어 왔다 (문헌 [Greer & Szalay, 2002, Luminescence 17(1):43-74] 참조).

[0328] 본원에서 사용된 바와 같이, 본 발명에서 사용되는 "루시페라제"란 용어는 모든 루시페라제, 또는 루시페라제 활성을 나타내는 루시페라제로부터 유도된 재조합 효소를 포함하는 것으로 의도된다. 반딧불의 루시페라제 유전자는, 예를 들어 포토누스(*Photinus*) 및 루시올라(*Luciola*) 중 (예를 들어 국제 특허 공보 WO 제95/25798호의 포토누스 피랄리스(*Photinus pyralis*), 유럽 특허 출원 EP 제0 524 448호의 루시올라 크루시아타(*Luciola cruciata*) 및 루시올라 라테랄리스(*Luciola lateralis*), 및 문헌 [Devine et al., 1993, Biochim. Biophys. Acta 1173(2):121-132]의 루실올라 밉그렐리카(*Luciola mingrelica*) 참조)에 그 특징이 잘 나타나 있다. 다른 진행 루시페라제 유전자는 바다 생물 (레닐라 레니포르미스(*Renilla reniformis*), 예를 들어 문헌 [Lorenz et al., 1991, Proc Natl Acad Sci U S A 88(10):4438-4442] 참조), 및 그로우 웜(glow worm) (람피리스 노크틸루카(*Lampyrus noctiluca*), 예를 들어 문헌 [Sula-Newby et al., 1996, Biochem J. 313:761-767] 참조)을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 박테리아성 루시페린-루시페라제 계는 지상 포토합두스 루미네센스(*Photorhabdus luminescens*)(예를 들어 문헌 [Manukhov et al., 2000, Genetika 36(3):322-30] 및 바다 박테리

아 비브리오 피세리(*Vibrio fischeri*) 및 비브리오 하벨리(*Vibrio harveyi*)(예를 들어 각각 문헌 [Miyamoto *et al.*, 1988, J Biol Chem. 263(26):13393-9], 및 문헌 [Cohn *et al.*, 1983, Proc Natl Acad Sci USA., 80(1):120-3] 참조)의 박테리아성 발광 유전자를 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 본 발명에 포함되는 루시페라제는 스쿼렐(Squirrel) 등에게 허여된 미국 특허 제6,265,177호 (본원에서 전체가 참고로 포함됨)에 기재된 돌연변이 루시페라제를 포함한다.

[0329] **녹색 형광 단백질**

[0330] 녹색 형광 단백질("GFP")은 형광하기 위해 추가의 기질 또는 보조 인자가 필요하지 않는 발색단의 형성시에 포함되는 65 내지 67 개의 아미노산을 갖는 238 개 아미노산 단백질이다 (예를 들어 문헌 [Prasher *et al.*, 1992, Gene 111:229-233; Yang *et al.*, 1996, Nature Biotechnol. 14:1252-1256; and Cody *et al.*, 1993, Biochemistry 32:1212-1218] 참조).

[0331] 본원에서 사용된 바와 같이, 본 발명에서 사용되는 "녹색 형광 단백질" 또는 "GFP"란 용어는 모든 GFP (녹색 이외의 색을 나타내는 다양한 GFP의 형태를 포함함), 또는 GFP 활성을 나타내는 GFP로부터 유도된 재조합 효소를 포함하는 것으로 의도된다. GFP의 천연 유전자는 생형광 해파리 아쿠오레아 빅토리아(*Aequorea victoria*)(예를 들어 문헌 [Morin *et al.*, 1972, J. Cell Physiol. 77:313-318] 참조)로부터 클로닝된다. 야생형 GFP는 395 nm에서 주 여기 피크를 나타내고, 470 nm에서 부 여기 피크를 나타낸다. 표준 형광 이소티오시아네이트(FITC) 여과 세트를 사용한, 470 nm에서의 흡수 피크를 통해 GFP 농도를 모니터링할 수 있다. GFP 유전자의 돌연변이는 발현을 촉진시키고, 여기 및 형광을 개질하는데 유용한 것으로 발견되었다. 예를 들어 65 위치의 세린이 알라닌, 글리신, 이소루신, 또는 트레오닌으로 치환된 돌연변이 GFP는 여기 최대치가 이동하고, 488 nm에서 여기되는 경우 야생형 단백질보다 더 밝은 형광을 나타내는 돌연변이 GFP를 생성한다 (예를 들어 문헌 [Heim *et al.*, 1995, Nature 373:663-664]; 미국 특허 제5,625,048호; 문헌 [Delagrave *et al.*, 1995, Biotechnology 13:151-154; Cormack *et al.*, 1996, Gene 173:33-38; and Cramer *et al.*, 1996, Nature Biotechnol. 14:315-319] 참조). 488 nm에서 GFP를 여기시키는 능력은 표준 형광 활성 세포 분류("FACS") 장치를 사용한 GFP를 사용하여 허용될 수 있다. 다른 실시양태에서, GFP는 해파리 이외의 유기체, 예를 들어 바다 생물 레닐라 레리포르미스(*Renilla reriformis*)(이에 제한되지 않음)로부터 단리된다.

[0332] EGFP는 포유동물 세포 중의 보다 밝은 형광 및 보다 높은 발현을 위해 최적화된 야생형 GFP(3-5)의 적색-이동 변이체이다 (여기 최대치 = 488 nm; 방출 최대치 = 507 nm). EGFP는 Phe-64에서 Leu 및 Ser-65에서 Thr로의 이중 아미노산 치환체를 함유하는 GFPmut1 변이체를 코딩한다. EGFP 유전자의 코딩 서열은 인간 코돈 사용 선호도에 상응하는 190 개를 초과하는 침묵 염기 변화체를 함유한다.

[0333] **베타 갈락토시다제**

[0334] 베타 갈락토시다제("β-gal")는 락토오스를 포함하는 b-갈락토시드, 및 갈락토시드 유사물인 o-니트로페닐-β-D-갈락토피라노시드("ONPG") 및 클로로페놀 레드-b-D-갈락토피라노시드("CPRG")의 가수분해를 촉매하는 효소이다 (예를 들어 문헌 [Nielsen *et al.*, 1983 Proc Natl Acad Sci USA 80(17):5198-5202; Eustice *et al.*, 1991, Biotechniques 11:739-742; and Henderson *et al.*, 1986, Clin. Chem. 32:1637-1641] 참조). β-gal 유전자는, 단백질 생성물이 세포 용해물 중의 단백질 분해성 퇴화에 매우 안정하고 내성을 가지며, 용이하게 측정되기 때문에, 리포터 유전자로서 양호하게 기능한다. ONPG가 기질로서 사용되는 경우, β-gal 활성도는 분광광도계 또는 마이크로플레이트 판독기로 정량될 수 있다.

[0335] 본원에서 사용된 바와 같이, 본 발명에서 사용되는 "베타 갈락토시다제" 또는 "β-gal"은 *lacZ* 유전자 생성물을 포함하는 모든 b-gal, 또는 b-gal 활성을 나타내는 b-gal로부터 유도된 재조합 효소를 포함하는 것으로 의도된다. b-gal 유전자는, 단백질 생성물이 세포 용해물 중의 단백질 분해성 퇴화에 매우 안정하고 내성을 가지며, 용이하게 측정되기 때문에, 리포터 유전자로서 양호하게 기능한다. ONPG가 기질로서 사용되는 일 실시양태에서, b-gal 활성도는 분광광도계 또는 마이크로플레이트 판독기로 정량되어, 420 nm에서 전환된 ONPG의 양을 결정할 수 있다. CPRG가 기질인 일 실시양태에서, b-gal 활성도는 분광광도계 또는 마이크로플레이트 판독기로 정량되어, 570 내지 595 nm에서 전환된 CPRG의 양을 결정할 수 있다.

[0336] **클로람페니콜 아세틸트랜스퍼라제**

[0337] 클로람페니콜 아세틸 트랜스퍼라제("CAT")는, 포유동물 세포가 검출 가능한 수준의 CAT 활성도를 나타내지 않기 때문에, 포유동물 세포 계에서 리포터 유전자로서 통상적으로 사용된다. CAT의 측정은 방사성표지된 클로람페니콜 및 적절한 보조 인자를 사용하여 세포 추출물을 인큐베이션하는 것, 생성물로부터 출발 물질을, 예를 들어

박층 크로마토그래피("TLC")를 사용하여 분리하는 것, 및 이어지는 섬광 수치 측정을 포함한다 (예를 들어 미국 특허 제5,726,041호 (본원에서 전체가 참고로 포함됨) 참조).

[0338] 본원에서 사용된 바와 같이, 본 발명에서 사용되는 "클로람페니콜 아세틸트랜스퍼라제" 또는 "CAT"란 용어는 모든 CAT, 또는 CAT 활성을 나타내는 CAT로부터 유도된 재조합 효소를 포함하는 것으로 의도된다. 세포 가공, 방사성 동위원소, 및 크로마토그래피 분리를 필요로 하지 않는 리포터 계는 높은 처리량 스크리닝에 더욱 노출될 수 있으나, 리포터 유전자로서의 CAT는 리포터 유전자의 안정성이 중요한 경우에 바람직할 수 있다. 예를 들어 CAT 리포터 단백질은 생체 안에서 약 50시간의 반감기를 나타내며, 이는 누적 변화 대 역동 변화형의 결과가 요구되는 경우 유리하다.

[0339] **분비된 알칼리성 포스파타제**

[0340] 분비된 알칼리성 포스파타제("SEAP") 효소는 알칼리성 포스파타제의 절단된 형태이며, 여기서 단백질의 막횡단 도메인의 절단은 상기 분비된 알칼리성 포스파타제가 세포로부터 주변 배지로 분비되는 것을 허용한다.

[0341] 본원에서 사용된 바와 같이, 본 발명에서 사용되는 "분비된 알칼리성 포스파타제" 또는 "SEAP"란 용어는 모든 SEAP 또는 알칼리성 포스파타제 활성을 나타내는 SEAP로부터 유도된 재조합 효소를 포함하는 것으로 의도된다. SEAP 활성도는, 형광 기질의 촉매 작용의 측정, 면역침전, HPLC, 및 방사성 검출을 포함하는 (이에 한정되지 않음) 다양한 방법으로 측정될 수 있다. 열량 검출법에 비해 민감도가 높기 때문에 발광법이 바람직하다. SEAP를 사용할 때의 장점은, SEAP 단백질이 세포로부터 분비되어 나와서 샘플링 및 측정 절차의 자동화가 촉진되기 때문에, 세포 분해 단계가 요구되지 않는다는 점이다. C 형 간염 바이러스 단백질 분해 효소 억제제의 세포를 기초로 하는 평가에서 사용되는 SEAP를 사용한 세포를 기초로 하는 측정은 포츠(Potts) 등에게 허여된 미국 특허 제6,280,940호 (본원에서 전체가 참고로 포함됨)에 기재되어 있다.

[0342] **5.5.7. 세포 배양계, 발육란, 및 동물 모델**

[0343] 세포 배양계는 당업계에 공지되어 있고, 본 발명의 바이러스의 활성도를 증식하거나 시험하는 데 사용될 수 있다 (예를 들어 문헌 [Flint *et al.*, PRINCIPLES OF VIROLOGY, MOLECULAR BIOLOGY, PATHOGENESIS, AND CONTROL, 2000, ASM Press pp25-29](본원에서 전체가 참고로 포함됨) 참조). 이러한 세포 배양액 계의 예로서 동물 조직으로부터 제조된 1차 세포 배양액 (예를 들어 원숭이 신장, 인간 배아 양막, 신장, 및 음경꺼풀, 및 닭 또는 마우스 배아로부터 유도된 세포 배양액); 균질 밀도의 단일체로 구성되고, 사망 전에 100 회까지 분할될 수 있는 이배수체 세포 균주 (예를 들어 인간 배아 폐로부터 유도된 WI-38 균주와 같은, 인간 배아로부터 유도된 세포 배양액); 및 배양액 중에 무제한으로 증식될 수 있는 단일 세포체로 구성된 연속 세포주 (예를 들어 HEp-2 세포, 헬라 세포, Vero 세포, L 및 3T3 세포, 및 BHK-21 세포)를 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0344] 또한, 본 발명의 바이러스는 배아 발육 계란 중에서 증식될 수도 있다. 수정 후 5 내지 14일에, 껍질에 구멍을 내고, 바이러스를 복제에 적합한 부위에 주입한다.

[0345] 당업계에 공지된 임의의 동물 모델이 본 발명에서의 다양한 목적들, 예를 들어 본 발명의 백신의 효율성 및 안전성을 결정하는 데 사용될 수 있다. 이러한 동물 모델의 예로서 코튼 쥐(시그모돈 히스피디스(*Sigmodon hispidus*)), 햄스터, 마우스, 원숭이, 및 침팬지가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 바람직한 일 실시양태에서, 시리안 골든(Syrian Golden) 햄스터가 사용된다.

[0346] **5.5.8. 중화 측정**

[0347] 변경된 바이러스 친화성 표현형을 생성할 수 있는 비리온 중으로 혼입되는 이종 표면 당단백질의 중요한 안전성 문제를 다루기 위해 중화 측정이 수행될 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "친화성"이란 용어는 특정 세포 유형에 대한 바이러스의 친화도를 나타낸다. 친화성은 일반적으로, 바이러스가 단지 특정 세포 유형으로만 들어갈 수 있게 하는 특정 세포 상의 세포 수용체의 존재 하에서 측정된다. 중화 측정은 이종 표면 당단백질의 MAbs (음성 가닥 RNA 바이러스의 F 단백질의 예로 제한되지 않음), 또는 이종 표면 당단백질에 대한 항체를 포함하는 폴리클로날 항혈청을 사용하여 수행된다. 본 발명의 키메라 바이러스가 중화될 수 있는지를 알아보기 위해 항체의 상이한 희석물을 시험한다. 이종 표면 당단백질은 항체 결합 및 중화를 생성할 정도로 충분한 양으로 비리온 표면 상에 존재해서는 안된다.

[0348] **5.5.9. 수크로스 구배 측정**

[0349] 이종 단백질의 비리온 중으로의 혼입 여부의 문제는 또한 생화학적 분석법을 사용함으로써 연구될 수 있다. 감염된 세포 용해물은 20 내지 60% 수크로스 구배 중에 분획될 수 있고, 여러 분획은 웨스턴 블롯에 의한 이종

단백질 및 벡터 단백질의 존재 및 분배를 위해 수집되고 분석된다. 분획 및 바이러스 단백질은 또한 플라크 분석법에 의해 피크 바이러스 역가에 대해 측정될 수도 있다. 수크로스 구배 분석의 예는 하기 단계 23에 나타나 있다. 이중 단백질이 비리온과 결합하고 있는 경우, 이들은 비리온과 함께 이동할 것이다.

[0350] **5.6. 키메라 바이러스를 사용한 백신 제제**

[0351] 본 발명은 본 발명의 조작된 음성 가닥 RNA 바이러스를 포함하는 백신 제제를 포함한다. 본 발명의 재조합 PIV 바이러스는 비히클로서 사용되어 임의의 다양한 병원체에 방어 반응을 유도하는 외부 에피토프를 발현할 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 hPIV 감염에 대해 보호하기 위해 백신 제제가 개질된 재조합 bPIV 바이러스 또는 약독화 hPIV의 용도를 포함한다.

[0352] 본 발명의 백신 제조는, 2가 및 3가 백신 제조를 포함하는 다가 백신을 포함한다. 본 발명의 2가 및 3가 백신은 각각의 이중 항원성 서열을 발현하는 1 종의 PIV 벡터 또는 각각 상이한 이중 항원성 서열을 코딩하는 2 종 이상의 PIV 벡터의 형태로 투여될 수 있다. 예를 들어 1 종 이상의 이중 항원성 서열을 발현하는 제1 키메라 PIV는 1 종 이상의 이중 항원성 서열을 발현하는 제2 키메라 PIV와 조합하여 투여될 수 있으며, 여기서 제2 키메라 PIV에서의 이중 항원성 서열은 제1 키메라 PIV에서의 이중 항원성 서열과 상이하다. 제1 및 제2 키메라 PIV에서의 이중 항원성 서열은 동일한 바이러스로부터 유도되지만 상이한 단백질을 코딩하거나, 또는 상이한 바이러스로부터 유도될 수 있다. 바람직한 일 실시양태에서, 제1 키메라 PIV에서의 이중 항원성 서열은 호흡기 합포체 바이러스로부터 유도되고, 제2 키메라 PIV에서의 이중 항원성 서열은 인간 메타뉴모바이러스로부터 유도된다. 다른 바람직한 실시양태에서, 제1 키메라 PIV에서의 이중 항원성 서열은 호흡기 합포체 바이러스로부터 유도되고, 제2 키메라 PIV에서의 이중 항원성 서열은 조류 뉴모바이러스로부터 유도된다.

[0353] 특정한 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 백신 제제는, 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 호흡기 합포체 바이러스, 및 포유동물 메타뉴모바이러스 (예를 들어 인간 메타뉴모바이러스)를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 음성 가닥 RNA 바이러스에 의해 야기되는 감염에 대해 보호하기 위해 사용된다. 더욱 구체적으로, 본 발명의 백신 제제는 인간 메타뉴모바이러스 및(또는) 조류 뉴모바이러스에 의한 감염에 대해 보호하기 위해 사용된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 백신 제제는 (a) 인간 메타뉴모바이러스 및 호흡기 합포체 바이러스; 및(또는) (b) 조류 뉴모바이러스 및 호흡기 합포체 바이러스에 의한 감염에 대해 보호하기 위해 사용된다.

[0354] 바람직한 실시양태에서, 본 발명은 단백질성 분자 또는 메타뉴모바이러스-특이적 바이러스성 단백질 또는 본 발명에 따른 핵산에 의해 코딩된 것의 기능성 단편을 제공한다. 유용한 단백질성 분자는, 예를 들어 본 발명에 따른 바이러스로부터 유도될 수 있는 임의의 유전자 또는 유전자성 단편으로부터 유도된다. 항원 또는 서브유닛 면역원으로서 F, SH 및(또는) G 단백질 또는 이들의 항원성 단편이 특히 유용하나, 불활성화된 모든 바이러스가 사용될 수도 있다. 또한, 계통발생학적 분석으로 확인된 재조합 핵산 단편에 의해 코딩된 단백질성 물질이 특히 유용하며, 물론, 특히 생체 내에서 (예를 들어 보호 목적을 위해 또는 진단용 항체를 제공하기 위해) 또는 시험관 내에 (예를 들어 파지 발현 기술 또는 합성 항체의 발생에 유용한 다른 기술에 의해) MPV 특이적 항체 또는 T 세포 반응을 유발하기 위한 계통발생학적 분석에서 유용한 ORF의 바람직한 범위 및 한계 내에 있는 것이 바람직하다.

[0355] 본 발명에 따른 바이러스, 핵산, 단백질성 분자 또는 이들의 단편, 항원 및(또는) 항체를 포함하는 제약 조성물은, 예를 들어 개체에게 본 발명에 따른 제약 조성물을 제공하는 것을 포함하는 MPV 감염 및(또는) 호흡기 질환의 치료 또는 예방법에서 사용될 수 있다. 상기 개체가 인간, 특히 5 세 미만의 인간일 경우 특히 유용한데, 이는 이러한 유아 및 어린 아이들은 대부분 본원에서 제공되는 바와 같은 인간 MPV에 의해 감염되기 쉽기 때문이다. 일반적으로, 급성 환자가 호흡기 및 다른 질병을 유발하는 상기도계 증상을 앓을 것이다. 또한, 다른 심각한 조건을 더 유발하는 하기도계 질환도 발생할 수 있다. 본 발명의 조성물은 암 환자, 이식 환자 및 노인을 포함하는, 면역손상 개체의 치료에 사용될 수 있다.

[0356] 본 발명은 또한, 본 발명에 따른 바이러스를 포함하는 세포 배양액 또는 실험 동물을 확립하는 것, 상기 배양액 또는 동물을 후보 항바이러스제로 치료하는 것, 및 상기 바이러스 또는 상기 배양액 또는 동물의 감염에서 상기 제제의 효과를 측정하는 것을 포함하는, 기도 질병의 치료에 유용한 항바이러스제를 수득하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 제약 조성물의 제조, 특히 구체적으로는 MPV 감염 또는 관련 질병에 의해 야기될 때의 기도 질병의 치료용 제약 조성물의 제조를 위한 본 발명에 따른 항바이러스제의 용도를 제공하고, MPV 감염 또는 호흡기 질환의 치료 또는 예방법에서 유용한 본 발명에 따른 항바이러스제를 포함하는 제약 조성물을 제공하며, 상기 방법은 개체에게 이러한 제약 조성물을 제공하는 것을 포함한다.

- [0357] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 백신은 포유동물 메타뉴모바이러스를 포함한다. 더욱 구체적인 특정 실시양태에서, 포유동물 메타뉴모바이러스는 인간 메타뉴모바이러스이다. 바람직한 실시양태에서, 백신 제제에서 사용되는 포유동물 메타뉴모바이러스는 약독화 표현형이다. 약독화 표현형을 달성하는 방법은 단계 5.4.를 참조한다.
- [0358] 본 발명은 PIV, RSV, APV, 및(또는) hMPV 감염의 예방 및 치료를 위한 백신 제제를 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 백신은 본 발명의 재조합 및 키메라 바이러스를 포함한다. 특정 실시양태에서, 바이러스는 약독화된다.
- [0359] 특정 실시양태에서, 백신은 APV를 포함하고, 인간의 hMPV 감염의 예방 및 치료에 사용된다. 이론에 의해 제한되지 않는 한, APV의 F 단백질과 hMPV의 F 단백질은 매우 상동성이 높기 때문에, APV에 의한 감염은 hMPV와 교차 반응하는 숙주 중에 항체를 생성하고, hMPV 및 관련 질병의 감염으로부터 숙주를 보호할 것이다.
- [0360] 다른 특정 실시양태에서, 백신은 hMPV를 포함하고, 조류, 예를 들어 칠면조 (이에 제한되지 않음)의 APV 감염의 예방 및 치료에 사용된다. 이론에 의해 제한되지 않는 한, APV의 F 단백질과 hMPV의 F 단백질은 매우 상동성이 높기 때문에, hMPV에 의한 감염은 APV와 교차 반응하는 숙주 중에 항체를 생성하고, APV 및 관련 질병의 감염으로부터 숙주를 보호할 것이다.
- [0361] 특정 실시양태에서, 본 발명의 백신 제제는 (a) 인간 메타뉴모바이러스 및 인간 파라인플루엔자 바이러스; 및(또는) (b) 조류 뉴모바이러스 및 인간 파라인플루엔자 바이러스 및 관련 질병에 의한 감염에 대해 보호하기 위해 사용된다.
- [0362] 특정 실시양태에서, 본 발명의 백신 제제는 (a) 인간 메타뉴모바이러스, 호흡기 합포체 바이러스, 및 인간 파라인플루엔자 바이러스; 및(또는) (b) 조류 뉴모바이러스, 호흡기 합포체 바이러스, 및 인간 파라인플루엔자 바이러스 및 관련 질병에 의한 감염에 대해 보호하기 위해 사용된다.
- [0363] 특정 실시양태에서, 본 발명의 백신 제제는 인간 메타뉴모바이러스, 호흡기 합포체 바이러스, 및 인간 파라인플루엔자 바이러스에 의한 감염에 대해 보호하기 위해 사용된다. 다른 특정 실시양태에서, 본 발명의 백신 제제는 조류 뉴모바이러스, 호흡기 합포체 바이러스, 및 인간 파라인플루엔자 바이러스, 및 관련 질병에 의한 감염에 대해 보호하기 위해 사용된다.
- [0364] 상이한 바이러스 종의 F 단백질 간의 상동성이 높기 때문에 (아미노산 서열의 비교예로서 도 1 참조), 본 발명의 백신 제제는 F 단백질을 코딩하는 이중 뉴클레오타이드 서열이 유도되는, 서로 상이한 바이러스로부터의 보호에 사용될 수 있다. 특정 실시양태의 예에서, 백신 제제는 조류 뉴모바이러스 타입 A로부터 유도된 이중 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 바이러스를 함유하고, 이 백신 제제는 조류 뉴모바이러스 타입 A 및 조류 뉴모바이러스 타입 B에 의한 감염으로부터 보호하기 위해 사용된다. 다른 특정 실시양태의 예에서, 백신 제제는 조류 뉴모바이러스 아군 C로부터 유도된 이중 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 바이러스를 함유하고, 이 백신 제제는 조류 뉴모바이러스 아군 C 및 조류 뉴모바이러스 아군 D에 의한 감염으로부터 보호하기 위해 사용된다.
- [0365] 본 발명은 PIV, hMPV, APV (APV C 및 APV D를 포함함), 인플루엔자, RSV, 센다이 바이러스, 볼거리, 후두기관염 바이러스, 원숭이 바이러스 5, 인간 유두종 바이러스, 및 기타 바이러스, 병원체 및 관련 질병으로부터 보호하기 위해 유용한, 인간 및 동물에게 투여되는 백신 제제를 포함한다. 본 발명은 추가로 인간 메타뉴모바이러스 감염, 조류 뉴모바이러스 감염, 및 관련 질병으로부터 보호하기 위해 유용한, 인간 및 동물에게 투여되는 백신 제제를 포함한다.
- [0366] 일 실시양태에서, 본 발명은 광견병 바이러스, 고양이 백혈병 바이러스(FLV) 및 개 홍역 바이러스를 포함하는 가정 동물 질병 치료제에 대해 유용한 백신 제제를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 수포성 구내염 바이러스, 광견병 바이러스, 우역 바이러스, 돈두 바이러스로부터 가축을 보호하고, 추가로 광견병 바이러스로부터 야생 동물을 보호하기 위해 유용한 백신 제제를 포함한다.
- [0367] 역 유전학적 접근에 의해 발생된 약독화 바이러스는 본원에 기재된 백신 및 제약 제제에 사용될 수 있다. 역 유전학적 기술은 또한 백신 제조에 있어서 중요한 다른 바이러스성 유전자에 대한 추가의 돌연변이를 유전자조작하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어 5' 비코딩 영역의 돌연변이는 mRNA 전사에 영향을 미칠 수 있고, 캡시드 단백질 중의 돌연변이는 바이러스성 어셈블리에 영향을 미치는 것으로 생각되며, 감온성 저온 적응 돌연변이는 종종 부모 바이러스보다 덜 병원성이다 (예를 들어 문헌 [Flint et al., PRINCIPLES OF VIROLOGY, MOLECULAR BIOLOGY, PATHOGENESIS, AND CONTROL, 2000, ASM Press pp670-683](본원에서 전체가 참고로 포함됨))

참조). 유용한 백신 군주 변이체의 에피토프는 약독화 바이러스로 유전자조작될 수 있다. 별법으로서, 다른 바이러스성 또는 비바이러스성 병원체로부터 유도된 항원을 포함하는, 완전한 외래 에피토프는 약독화 군주로 유전자조작될 수 있다. 예를 들어, HIV (gp160, gp120, gp41), 기생 항원 (예를 들어 말라리아), 박테리아성 또는 진균 항원, 또는 종양 항원과 같은, 관련없는 바이러스의 항원은 약독화 군주로 유전자조작될 수 있다. 별법으로서, 생체 내에서 바이러스의 친화성을 변경하는 에피토프는 본 발명의 키메라 약독화 바이러스로 유전자조작될 수 있다.

[0368] 실질적으로 모든 이중 유전자 서열은 백신에서의 용도를 위한 본 발명의 키메라 바이러스로 구축될 수 있다. 바람직하게는, 생물학적 반응 개질제로서 기능하는 잔기 및 펩티드는 백신에서의 용도를 위한 본 발명의 키메라 바이러스로 구축될 수 있다. 바람직하게는, 임의의 다양한 병원체, 또는 중화 항체에 결합하는 항원에 대한 보호 면역 반응을 유도하는 에피토프가 키메라 바이러스에 의해 또는 그의 일부로서 발현될 수 있다. 예를 들어 본 발명의 키메라 바이러스로 구축될 수 있는 이중 유전자 서열은 인플루엔자 및 파라인플루엔자 헤마글루티닌 뉴라미니다제 및 인간 PIV3의 HN 및 F 유전자와 같은 융합 당단백질을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또 다른 실시양태에서, 키메라 바이러스로 유전자조작될 수 있는 이중 유전자 서열은 면역 조절 활성을 나타내는 단백질을 코딩하는 서열을 포함한다. 면역 조절 단백질의 예로서 시토킨, 인터페론 타입 1, 감마 인터페론, 콜로니 자극 인자, 인터루킨-1, -2, -4, -5, -6, -12, 및 상기 제제의 길항제가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0369] 또한, 백신에서의 용도를 위한 본 발명의 키메라 바이러스로 구축될 수 있는 이중 유전자 서열은 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 바람직하게는 타입 1 또는 타입 2로부터 유도된 서열을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 바람직한 실시양태에서, 항원의 근원이 될 수 있는 면역유전성 HIV-유도 펩티드는 키메라 PIV로 구축될 수 있고, 이는 이어서 척추동물 면역 반응을 유도하는 데 사용될 수 있다. 이러한 HIV-유도 펩티드는 env 유전자 (즉, gp160, gp120, 및(또는) gp41의 전부 또는 일부를 코딩하는 서열), pol 유전자 (즉, 역전사효소, 엔도뉴클레아제, 프로티아제 및(또는) 인테그라제의 전부 또는 일부를 코딩하는 서열), gag 유전자 (즉, p7, p6, p55, p17/18, p24/25의 전부 또는 일부를 코딩하는 서열), tat, rev, nef, vif, vup, vpu, 및(또는) vpr로부터 유도된 서열을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0370] 다른 이중 서열은 B 형 간염 바이러스 표면 항원(HBsAg); A 형 또는 C 형 간염 바이러스 표면 항원, 엡스타인 바 바이러스의 당단백질; 인간 유두종 바이러스의 당단백질; 호흡기 합포체 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 센다이 바이러스, 원숭이 바이러스 5 또는 볼거리 바이러스의 당단백질; 인플루엔자 바이러스의 당단백질; 헤르페스바이러스의 당단백질; 폴리오바이러스의 VP1; 박테리아 및 기생체와 같은 비바이러스성 병원체의 항원성 결정인자 (일부만 명명됨)로부터 유도될 수 있다. 다른 실시양태에서, 이뮤노글로부린 유전자의 전부 또는 일부가 발현될 수 있다. 예를 들어 이러한 에피토프를 모방하는 항개별특이형 이뮤노글로부린의 다양한 영역은 본 발명의 키메라 바이러스로 구축될 수 있다.

[0371] 다른 이중 서열은 종양 항원으로부터 유도될 수 있고, 생성되는 키메라 바이러스는 생체 내 종양 퇴행을 야기하는 종양 세포에 대한 면역 반응을 발생시키는 데 사용될 수 있다. 이러한 백신은 종양의 치료를 위해 화학 요법, 방사선 요법, 수술, 골수 이식 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는 다른 치료 요법과 조합되어 사용될 수 있다. 본 발명에 따라서, 재조합 바이러스는 유전자조작되어, T 세포 (문헌 [Robbins and Kawakami, 1996, Curr. Opin. Immunol. 8:628-636](본원에서 전체가 참고로 포함됨)), gp100, MART-1/MelanA, TRP-1(gp75), 티로시나제를 포함하는 멜라닌세포 계열 단백질; 종양 특이적 광범위 공유 항원, MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1, GAGE-1, N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제-V, p15; 종양 특이적 돌연변이 항원, β -카테닌, MUM-1, CDK4; 유방, 난소, 자궁 및 췌장의 비멜라닌종 항원, HER-2/neu, 인간 유두종 바이러스-E6, -E7, MUC-1을 포함하는 (이에 제한되지 않음), 종양과 결합된 항원(TAA)을 발현할 수 있다.

[0372] 또 다른 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열은 인간 메타뉴모바이러스 및(또는) 조류 뉴모바이러스와 같은 메타뉴모바이러스로부터 유도된다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 바이러스는, 1 종은 인간 메타뉴모바이러스 및(또는) 조류 뉴모바이러스와 같은, 메타뉴모바이러스로부터 유도되고, 다른 1 종은 호흡기 합포체 바이러스로부터 유도되는, 2 종의 상이한 이중 뉴클레오타이드 서열을 함유한다. 이중 뉴클레오타이드 서열은 각각의 바이러스의 F 단백질 또는 G 단백질을 코딩한다. 특정 실시양태에서, 이중 뉴클레오타이드 서열은 키메라 F 단백질을 코딩하며, 이 키메라 F 단백질은 메타뉴모바이러스의 바깥 도메인, 및 파라인플루엔자 바이러스의 F 단백질의 관 도메인과 막횡단 도메인을 함유한다.

[0373] 살아있는 재조합 바이러스성 백신 또는 불활성 재조합 바이러스성 백신 모두가 제형될 수 있다. 숙주 내의 복

제는 자연적인 감염에서 발생하는 것과 유사한 종류 및 강도의 자극이 연장되게 하고, 따라서 실질적으로 장기간 지속되는 면역성을 부여하기 때문에, 살아있는 백신이 바람직할 수 있다. 이러한 살아있는 재조합 바이러스 백신 제제의 제조는 세포 배양액 또는 닭 배아의 요막 중에서의 바이러스의 증식, 및 이후의 정제를 포함하는 통상적인 방법을 사용하여 달성될 수 있다. 또한, bPIV는 인간에게 병원성이 아닌 것으로 실험되었기 때문에, 이 바이러스는 살아있는 백신으로서 사용되기에 매우 적절하다.

[0374] 이에 관하여, 백신을 목적으로 유전학적으로 유전자조작된 PIV (백터)를 사용할 시에 이러한 균주에 약독화 특성이 존재하는 것이 바람직할 수 있다. 적절한 돌연변이 (예를 들어 결손형)를 형질감염에 사용되는 주형 중에 도입함으로써 약독화 특성을 갖는 신규 바이러스를 제조할 수 있다. 예를 들어 감온성 또는 저온 적응과 결부된 특정 오인 돌연변이는 결손형 돌연변이로 제조될 수 있다. 이러한 돌연변이는 저온성 또는 감온성 돌연변이와 결부된 점 돌연변이보다 안정하여야 하며, 복귀 빈도가 매우 낮아야 한다.

[0375] 별법으로서, "자살" 특성을 갖는 키메라 바이러스가 구축될 수 있다. 이러한 바이러스는 숙주 내에서 단지 1회 또는 수 회의 복제를 견딜 수 있다. 백신으로서 사용되는 경우, 재조합 바이러스는 제한된 복제 주기를 견딜 수 있으며, 충분한 수준의 면역 반응을 유도할 수 있으나, 이는 추가로 인간 숙주 내에서 살아갈 수 없고, 질병을 야기할 수 없다. 1 종 이상의 PIV 유전자가 결핍되거나, 또는 돌연변이 PIV 유전자를 갖는 재조합 바이러스는 연속적인 복제를 수행할 수 없다.

[0376] 결손바이러스는 상기 유전자(들)를 영구적으로 발현하는 균주에서 생성할 수 있다. 필수 유전자(들)가 없는 바이러스는 이러한 균주에서 복제될 것이나, 인간 숙주에 투여될 경우에 복제회수를 완성할 수 없을 것이다. 그러한 제제는 (상기 불완전 주기에서) 면역 반응을 유도하기 위해 충분한 수의 유전자를 전사 및 번역할 수 있다. 별법으로, 보다 많은 양의 균주를 투여하여 상기 제제들이 불활성화된(사멸된) 바이러스 백신으로서 기능하게 할 수 있다. 불활성화 백신의 경우, 이중 유전자 생성물을 바이러스 성분으로 발현시켜, 유전자 생성물이 비리온과 결합하게 하는 것이 바람직하다. 그러한 제제의 이점은 그것이 천연 단백질을 함유하고 사멸된 바이러스 백신의 제조에 사용되는 포르말린이나 다른 작용제로 처리시 불활성화를 일으키지 않는다는 것이다. 별법으로, cDNA로부터 제조된 돌연변이화 PIV를 고도로 약독화하여 그것이 두세 회수 만을 복제하게 할 수 있다.

[0377] 특정 실시양태에서, 본 발명의 백신은 약독화 바이러스를 포함한다. 이론에 얽매임없이, 약독화 바이러스는 약독화된 바이러스가 세포로 하여금 새로운 감염성 바이러스 입자를 발생시키도록 할 수 없을지라도, 바이러스 단백질이 숙주의 세포질막에 삽입되어 면역 반응을 자극하기 때문에 백신으로서 효과적일 수 있다.

[0378] 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 불활성화 백신 제형은 키메라 바이러스를 "사멸시키는" 통상의 기술을 사용하여 제조할 수 있다. 불활성화 백신은 그의 감염성이 파괴되었다는 의미에서 "죽은" 것이다. 바이러스의 면역원성에 영향을 주지 않고 그의 감염성을 파괴하는 것이 이상적이다. 불활성화 백신을 제조하기 위해, 키메라 바이러스를 세포 배양액이나 닭배아의 요막에 배양하고, 구역 원심분리로 정제하고, 포르말데히드 또는 β -프로피오락톤으로 불활성화시키고, 폴링할 수 있다. 생성된 백신은 일반적으로 근육내 접종된다.

[0379] 불활성화 바이러스는 면역학적 반응을 향상시키기 위해 적합한 아췌반트와 제형화할 수 있다. 상기 아췌반트로는 광물 겔, 예컨대, 수산화알루미늄; 리졸레시틴, 플루로닉(pluronic) 폴리올, 다음이온과 같은 표면 활성 물질; 펩티드; 오일 에멀전; 및 잠재적으로 유용한 인간 아췌반트, 예컨대, BCG, 코리네박테리움 파르부름(*Corynebacterium parvum*), ISCOMS, 및 비로솜(virosome)이 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0380] 상기 백신 제형을 도입하기 위해 여러 가지 방법을 사용할 수 있으며, 여기에는 경구, 진피내, 근육내, 복막내, 정맥내, 피하, 경피, 및 비내 및 흡입 경로가 있으나, 이에 한정되지 않는다. 키메라 바이러스 백신 제형은 상기 백신이 목표로 하는 병원체의 자연적인 감염 경로를 통해 도입하는 것이 바람직할 수 있다.

[0381] 특정 실시양태에서, 본 발명은 면역원성 조성물에 관한 것이다. 면역원성 조성물은 키메라 PIV를 포함한다. 특정 실시양태에서, 면역원성 조성물은 약독화된 키메라 PIV를 포함한다. 특정 실시양태에서, 면역원성 조성물은 제약상 허용가능한 담체를 또한 포함한다.

[0382] 다양한 기술을 사용하여 본 발명에 따른 백신의 효과 및 안전을 평가할 수 있다. 효과적인 백신은, 최소한의 부작용으로 적당한 선천적 반응, 세포 반응 및 체액 반응을 일으킴으로써, 백신을 접종한 개체를 병원체로 인한 병으로부터 보호하는 백신이다. 백신은 질환을 유발해서는 안된다. 바이러스의 복제 및 백신을 접종한 대상체의 면역 반응을 측정할 수 있는 임의의 기술을 사용하여 백신을 평가할 수 있다. 예를 들어, 챌린지 연구 및 임상 실험을 사용할 수 있다. 단락 5.5.4 및 단락 5.5.5를 참조한다. 또한 비제한적 실시예를 하기 실시예 부분에서 제시하였다.

[0383] 5.6.1. 본 발명의 백신 또는 면역원성 제제의 투여량 처방(dosage regimen) 및 투여

[0384] 본 발명은 하나 이상의 이중 또는 비천연 항원성 서열을 발현하는 키메라 PIV를 포함하는 백신 및 면역원성 제제를 제공한다. 본 발명의 백신 또는 면역원성 제제는 단가 백신 또는 이가 및 삼가 백신을 비롯한 다가 백신을 포함한다. 본 발명의 백신 또는 면역원성 제형은 다양한 바이러스 감염에 대한 보호를 제공하는데 유용하다. 특히, 본 발명의 백신 또는 면역원성 제형은 숙주의 기도 감염에 대한 보호를 제공한다.

[0385] 본 발명의 재조합 바이러스 및(또는) 백신 또는 면역원성 제형은 단독으로, 또는 다른 백신과 조합하여 투여할 수 있다. 바람직하게는, 본 발명의 백신 또는 면역원성 제형은 기도 질환에 대한 보호를 제공하는 다른 백신 또는 면역원성 제형, 예컨대 호흡기 융합체 바이러스 백신, 인플루엔자 백신, 홍역 백신, 볼거리 백신, 풍진 백신, 폐렴알균 백신, 리케차 백신, 포도알균 백신, 백일해 백신 또는 기도암에 대한 백신을 포함하나 이에 제한되지 않는 백신 또는 면역원성 제형과 조합하여 투여한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 바이러스 및(또는) 백신은 해당 연령에 권장되는 소아백신과 동시투여한다. 예를 들어, 2, 4 또는 6개월의 연령에서, 본 발명의 바이러스 및(또는) 백신은 DtaP (IM), Hib (IM), 폴리오 (IPV 또는 OPV) 및 헤파티티스 B (IM)과 동시에 투여할 수 있다. 12 또는 15개월의 연령에서는, 본 발명의 바이러스 및(또는) 백신을 Hib (IM), 폴리오 (IPV 또는 OPV), MMRII(등록상표) (SubQ); 배리박스(Varivax)(등록상표) (SubQ), 및 헤파티티스 B (IM)과 동시에 투여할 수 있다. 본 발명의 방법에 사용할 수 있는 백신은 여러 문헌, 예를 들어, 그 전문이 본원에 참고로 인용되는 문헌 [The Jordan Report 2000, Division of Microbiology and Infectious Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, United States]에 기재되어 있다.

[0386] 본 발명의 백신 또는 면역원성 제형은 그 자체로, 또는 제약 또는 치유 조성물의 형태로 대상체에게 투여할 수 있다. 아쥬반트 및 본 발명의 면역원성 항원 (예컨대, 바이러스, 키메라 바이러스, 돌연변이화 바이러스)을 포함하는 제약 조성물은 통상적인 혼합, 용해, 과립화, 당의정 제조, 분말화(levigating), 에멀전화, 캡슐화, 포착(entrapping) 또는 동결건조 공정으로 제조할 수 있다. 제약 조성물은 본 발명의 면역원성 항원을 제약상 사용할 수 있는 제제로 가공하는 것을 용이하게 하는 하나 이상의 생리학상 허용가능한 담체, 희석제, 부형제 또는 보조제를 이용하여 통상의 방식으로 제형화할 수 있다. 적당한 제형은 선택된 투여 경로에 따라 달라지거나, 다른 무엇보다 선택된 투여 경로에 좌우된다.

[0387] 본 발명의 백신 또는 면역원성 조성물이 아쥬반트를 포함하거나, 또는 하나 이상의 아쥬반트와 함께 투여되는 경우에, 사용될 수 있는 아쥬반트로는 무기염 아쥬반트 또는 무기염 겔 아쥬반트, 입상 아쥬반트, 미립자 아쥬반트, 점막성 아쥬반트 및 면역자극 아쥬반트가 포함되나, 이에 한정되지 않는다. 아쥬반트의 예로는 수산화알루미늄, 인산알루미늄 겔, 프로인트 완전 아쥬반트, 프로인트 불완전 아쥬반트, 스쿠알렌 또는 스쿠알렌 유-중-수 아쥬반트 제형, 생체분해성 및 생체적합성 폴리에스테르, 중합된 리포솜, 트리테르페노이드 글리코시드 또는 사포닌 (예컨대, QuilA 및 QS-21, 스티물론(STIMULON), 이스코프렙(ISCOPREP)라는 상표명으로도 시판됨), N-아세틸-무라밀-L-트레오닐-D-이소글루타민 (트레오닐-MDF, 테르무르타디(TERMURTIDE)라는 상표명으로도 시판됨), LPS, 모노포스포릴 지질 A (MPL이라는 상표명으로도 시판되는 3D-MLA)가 포함되나, 이에 한정되지 않는다.

[0388] 본 발명의 백신 또는 면역원성 조성물이 투여되는 대상체는 바람직하게는 포유동물, 가장 바람직하게는 인간이지만, 영장류, 소, 말, 양, 돼지, 가금류 (예컨대, 닭, 칠면조), 염소, 고양이, 개, 햄스터, 마우스 및 설치류를 포함하나 이에 한정되지 않는 비-인간 동물일 수도 있다.

[0389] 본 발명의 백신 또는 면역원성 조성물을 도입하는데에는, 경구, 진피내, 근육내, 복막내, 정맥내, 피하, 경피, 비내 및 흡입 경로, 및 난절법 (두갈래 바늘 등을 사용하여 피부의 상층을 통해 긁음)가 있으나, 이에 한정되지 않는 여러 가지 방법을 사용할 수 있다.

[0390] 국소 투여의 경우, 본 발명의 백신 또는 면역원성 제제는 당업계에 익히 공지된 바와 같이, 액제, 겔, 연고, 크림, 현탁제 등으로 제형화할 수 있다.

[0391] 비내 또는 흡입 투여의 경우, 본 발명에 따라 사용되는 제제는 적합한 분사제, 예컨대, 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 기체를 사용하여 가압 팩 또는 분무기(nebulizer)로부터의 에어로졸 분무 형태로 편리하게 전달할 수 있다. 가압 에어로졸의 경우, 투여량 단위는 계량된 양을 전달하는 밸브를 제공하여 결정할 수 있다. 흡입기 또는 취입기에 사용하기 위한 젤라틴 등의 캡슐제 및 카트리지는 화합물과 락토오스 또는 전분과 같은 적합한 분말 기재의 분말 혼합물을 함유시켜 제형화할 수 있다.

[0392] 주사의 경우, 백신 또는 면역원성 제제는 수용액, 바람직하게는 행크액, 링거액 또는 생리학적 식염수 완충액과

같은 생리학상 적합한 완충액 중에 제형화할 수 있다. 용액은 현탁화제, 안정화제 및(또는) 분산제와 같은 제형 작용제를 함유할 수 있다. 별법으로, 단백질은 사용전에 적합한 비히클, 예컨대, 발열원-비함유 멸균수와 조합하여 사용하는 분말 형태일 수 있다.

[0393] 백신 또는 면역원성 제제의 유효한 투여량을 결정하는 것은 특히 본원에 제공된 상세한 설명에 비추어 볼 때 당업자의 능력 내에 든다.

[0394] 유효 투여량은 초기에 시험관내 분석으로 추측할 수 있다. 예를 들어, 당업계에 익히 공지된 기술을 사용하여 동물 모델에서 면역 반응 유도를 달성할 수 있는 투여량을 제형화할 수 있다. 당업자는 본원에 기재된 결과에 기초하여 모든 동물 종에 대한 투여를 용이하게 최적화할 수 있을 것이다. 투여의 양 및 간격은 개별적으로 조정될 수 있다. 예를 들어 면역원성 조성물로서 사용되는 경우에는, 적합한 투여량은 상기와 같이 투여되는 경우, 항체 반응을 유도할 수 있는 조성물의 양이다. 백신으로서 사용되는 경우, 본 발명의 백신 또는 면역원성 제제는 1 내지 36 주의 기간 동안 약 1 내지 3 회 투여할 수 있다. 바람직하게는, 1 회 또는 약 2 주 내지 약 4개월의 간격으로 2 회 투여하며, 그 후에 추가 접종 백신을 주기적으로 투여할 수 있다. 동물에 따라 별법의 프로토콜이 적절할 수도 있다. 적합한 투여량은 상기와 같이 투여되었을 때 면역화된 동물에서 적어도 4 내지 12개월 동안 감염으로부터 동물을 보호하기에 충분한 면역 반응을 일으킬 수 있는 백신 제제의 양이다. 일반적으로, 투여량 중에 존재하는 항원의 양은 숙주의 kg 당 약 1 pg 내지 약 100 mg, 전형적으로는 약 10 pg 내지 약 1 mg, 바람직하게는 약 100 pg 내지 약 1 μ g의 범위이다. 적합한 투여량은 주사 경로 및 환자의 크기에 따라 달라질 것이지만, 전형적으로는 약 0.1 mL 내지 약 5 mL의 범위이다.

[0395] 특정 실시양태에서, 본 발명의 바이러스 및(또는) 백신은 10^3 TCID₅₀ 이상, 10^4 TCID₅₀ 이상, 10^5 TCID₅₀ 이상의 개시 단일 투여량으로 투여된다. 다른 특정 실시양태에서, 본 발명의 바이러스 및(또는) 백신은 다수 투여량으로 투여된다. 바람직한 실시양태에서, 2, 4 및 6개월 연령에서의 1차 투여량 처방 및 생후 제2년이 시작될 때에 추가 접종 투여량을 사용한다. 보다 바람직하게는, 각각 10^5 TCID₅₀ 또는 10^6 TCID₅₀의 투여량이 다수 투여량 처방에 사용된다. 바이러스의 복제 속도는 임상 실험에서 백신의 투여량을 조정하는 지표로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 바이러스의 복제 속도를 시험하기 위한 분석 (예컨대, 성장 곡선, 이용가능한 분석법에 대해서는 단락 5.5. 참조)을 사용하여 본 발명의 바이러스 및(또는) 백신의 복제 속도를 종래 연구에서 입증된 bPIV3의 복제 속도 (문헌 [Clements et al., J. Clin. Microbiol. 29:1175-82 (1991)]; [Karron et al., J. Infect. Dis. 171:1107-14 (1995)]; 및 [Karron et al., Ped. Inf. Dis. J. 5:650-654 (1996)] 참조)와 비교할 수 있다. 이러한 연구는 소 PIV3 백신이 일반적으로 안전하고, 성인, 6 내지 60개월 연령의 어린이 및 2 내지 6개월 연령의 유아를 포함한 건강한 인간 자원자가 잘 견딜 수 있음을 보여주었다. 상기 연구에서, 대상체는 10^3 TCID₅₀ 내지 10^6 TCID₅₀의 bPIV3 백신을 1 회 이상의 투여량의 접종하였다. 12 명의 어린이에게 1 회의 투여량 대신 2 회의 10^5 TCID₅₀ PIV3 백신 투여량을 부작용 없이 접종하였다. bPIV3에 상응한 복제 속도는 상응한 투여량을 임상 실험에 사용할 수 있음을 시사한다. pPIV3에 비해 낮은 복제 속도는 보다 높은 투여량이 사용될 수 있음을 시사한다.

[0396] 5.6.2. 표적 모집단

[0397] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 치유 및 진단 방법을 위한 표적 모집단은 연령으로 한정된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 치유 및(또는) 진단을 위한 표적 모집단은 기도 감염 이외에 질환 또는 장애를 특징으로 한다.

[0398] 구체적인 실시양태에서, 표적 모집단은 2세 미만의 어린이를 포함한다. 보다 구체적인 실시양태에서, 2세 미만의 어린이는 기도 감염이 아닌 병에 걸리지 않는다.

[0399] 다른 실시양태에서, 표적 모집단은 5세 초과환자를 포함한다. 보다 구체적인 실시양태에서, 5세 초과환자는 낭성섬유증, 백혈병 및 비-호지킨 림프종, 또는 최근 이식된 골수 또는 신장 이식을 비롯한 부가의 질환 또는 장애를 앓는다.

[0400] 본 발명의 특정 실시양태에서, 표적 모집단은 hMPV 감염이 숙주의 면역억제와 연관되어 있는 대상체를 포함한다. 특정 실시양태에서, 대상체는 면역기능저하된 개체이다.

[0401] 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법을 위한 표적 모집단은 노인을 포함한다.

[0402] 특정 실시양태에서, 본 발명의 방법으로 치료되는 대상체는 동절기에 hMPV로 감염된다.

[0403] 하기 실시예는 본 발명을 예시하며, 본 발명을 제한하지 않는다. 실시예에서 사용한 세포 및 바이러스는 다음과 같이 유지하였다. RSV A2 균주, 소 파라인플루엔자 타입 3/인간 파라인플루엔자 타입 3 (b/h PIV3) 바이러스, 인간 메타뉴모바이러스 NL/1/00 균주 (hMPV), 소 파라인플루엔자 타입 3/인간 파라인플루엔자 타입 3 벡터 함유 RSV 바이러스 (b/h PIV3/RSV 바이러스), 및 소 파라인플루엔자 타입 3/인간 파라인플루엔자 타입 3 벡터 함유 인간 메타뉴모바이러스 (b/h PIV3/hMPV)를 겐타마이신의 존재하에 Opti-MEM (김코(Gibco)/BRL) 중의 Vero 세포에서 배양하였다. 파지 T7 RNA 중합효소를 발현하는 변형된 우두 바이러스 앙카라(Ankara) (MVA-T7) 또는 가끔-마마-T7 (FP-T7)을 닭 배아 신장 세포 (SPAFAS)에서 배양하였다. Vero 세포, HeLa 세포 및 Hep-2 세포를 10% 소태아혈청 (FBS), 2 mM L-글루타민, 비-필수 아미노산 및 항생제로 보충된 MEM (JRH 바이오사이언시즈(JRH Biosciences)) 중에 유지하였다.

실시예

[0404] **6. 실시예 1: 키메라 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 cDNA의 구축 및 클로닝**

[0405] bPIV3의 F 및 HN을 hPIV3의 것으로 치환하기 위해, 부가적인 제한 효소 부위를 감염성 bPIV3 cDNA에 도입하였다. 부위 지정 돌연변이를 사용하여, 유일한 Nhe I 부위를 뉴클레오티드 위치 5041에 도입하고, Sal I 부위를 bPIV3 cDNA의 nt 8529에 도입하였다. 변형된 전장 bPIV3 cDNA를 Nhe I 및 Sal I 제한 효소로 처리하고, F 및 HN 유전자를 제외한 바이러스성 bPIV3 서열을 모두 포함하는 약 14 kb의 DNA 단편을 겔 정제에 의해 분리하였다.

[0406] hPIV3 F 및 HN 유전자 서열을 얻기 위해, 융합성 Vero 세포의 10 cm 디쉬를 hPIV3 (hPIV3/Tex/12084/1983)의 균주로 감염시켰다. 37℃에서 3 일 동안 인큐베이션한 후, 세포를 수확하고, RNA STAT-LS 50 (텔-테스트 인크. (Tel-Test Inc.))을 사용하여 전체 RNA를 분리하였다. 바이러스 cDNA를 hPIV3 게놈의 4828 위치에서 hPIV3 특이적 올리고 어닐링을 사용한 역전사에 의해 발생시켰다. hPIV3 F 및 HN 유전자를 Taq 중합효소를 이용하여 PCR (중합효소 연쇄 반응)에 의해 증폭시켰다. PCR 생성물을 pT/A TOPO 클로닝 벡터 (인비트로젠) 내로 클로닝하고, 2개의 클론 (#11 및 #14)으로부터의 hPIV3 F 및 HN 유전자를 서열분석하였다. 서열 분석은 클론 #11의 경우, F 유전자는 정확하지만 HN 유전자가 이상 서열을 함유하고, 클론 #14의 경우, HN 유전자는 정확하지만 F 유전자가 이상 정지 코돈을 함유하는 것을 보여주었다. 따라서, 기능성 hPIV3 F 및 HN 유전자를 함유하는 플라스미드를 #11의 정확한 F 유전자와 #14의 정확한 HN 유전자를 아래의 방식으로 조합하여 구축하였다. 2개의 hPIV3 플라스미드 (#11 및 #14)를 NheI 및 EcoRI로 소화시켰다. 정확한 F 유전자를 보유한 1.6 kb 단편을 클론 #11로부터 분리하였고, 정확한 HN 유전자를 함유하는 8.5 kb 단편 및 플라스미드 서열을 클론 #14로부터 분리하였다. 2개의 단편을 라이게이션하여 온전한 hPIV3 F 및 HN 유전자를 함유하는 플라스미드를 생성하였다. 정확한 서열은 DNA 서열 분석으로 확인하였다. 마지막으로, "6의 법칙 (Rule of Six)"을 만족시키기 위해, 단일 뉴클레오티드를 비-번역 영역의 HN 유전자의 3' 말단에 부가하였다. 단일 뉴클레오티드의 부가는 퀵체인지 (QuickChange) 돌연변이 키트 (스트라타진(Stratagene))을 이용하여 달성하였고, DNA 서열분석으로 확인하였다. 이어서, 정확한 hPIV3 F 및 HN 유전자 DNA 단편을 NheI 및 Sal I로 소화시켜 분리하고, 3.5 kb DNA 단편을 겔 정제하였다.

[0407] 전장 b/h PIV3 키메라 cDNA를 상기한 bPIV3 서열을 보유하는 14.5 kb DNA 단편과 hPIV3 F 및 HN 유전자를 함유하는 3.5 kb DNA 단편을 라이게이션하여 구축하였다 (도 3 참조). 전장 키메라 플라스미드 DNA는 광범위한 제한 효소 맵핑에 의해 확인하였다. 또한, 키메라 구조물의 M/F 및 HN/L 유전자 접합부를 DNA 서열분석하여 둘다 bPIV3 및 hPIV3 서열 뿐 아니라 Nhe I 및 Sal I 제한 효소 부위를 각각 함유한다는 것을 확인하였다.

[0408] **7. 실시예 2: 키메라 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 벡터함유 호흡기 합포체 바이러스 F 또는 G cDNA의 구축 및 클로닝**

[0409] b/h PIV3 게놈의 1 또는 2 위치에 RSV 항원 삽입의 바이러스 복제에 미치는 효과를 측정하기 위해, 호흡기 합포체 바이러스 (RSV) F 및 G 유전자를 키메라 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 벡터 (b/h PIV3 벡터)의 상이한 위치로 클로닝하였다. 도 4를 참조한다.

[0410] 소/인간 (b/h) PIV3 cDNA 내로 외래 유전자를 삽입하기 위해, AvrII 제한 효소 부위를 퀵체인지 키트 (스트라타진)를 사용한 부위 지정 돌연변이에 의해 b/h PIV3 cDNA 플라스미드에 도입하였다 (문헌 [Haller et al., 2000; 2001] 참조, 이것은 실시예 6에서와 동일한 구조물임). 하나의 AvrII 부위를 올리고 5'GAA ATC CTA AGA CCC TAG GCA TGT TGA GTC3' 및 그의 보체를 이용하여 b/h PIV3 게놈 중의 뉴클레오티드 (nt) 104에 도입하여 4

개의 뉴클레오티드를 변경하였다. 상기 제한 효소 부위는 바이러스 게놈의 처음 (대부분 3') 위치에 RSV 유전자를 삽입하기 위해 사용되었다. 또 다른 AvrII 부위를 올리고 5'CCACAACCTCAATCAACCTAGGATTCATGGAAGACAATG 3' 및 그의 보체를 사용하여 nt 1774의 N-P 유전자간 영역(intergenic region)에 도입하여 2개의 뉴클레오티드를 변경하였다. 이 제한 부위는 RSV 유전자를 b/h PIV3의 N 및 P 유전자 사이의 제2 위치에 삽입하기 위해 사용하였다 (도 4). nt 104 및 nt 1774에 AvrII 부위를 보유하는 전장 b/h PIV3 cDNA의 기능성을 역유전에 의해 바이러스의 회복시켜 시험하였다.

[0411] RSV G 카세트 (N-P 유전자 정지/개시)의 구축: bPIV3 N-P 유전자간 영역 뿐 아니라 RSV G 유전자의 3' 말단 서열을 함유하는 DNA 단편을, b/h PIV3 cDNA를 PCR 주형으로서 사용하여 발생시켰다. 이 단편은 올리고 5'CCCAACACACCAGCCAGTAG TCACAAAGAGATGACCACTATCAC3' 및 5'CCCAAGCTTCCTAGGTGAATCTTTGGTTGATTGAGTTGTGG3'를 사용하여 PCR에 의해 발생시켰다. 이어서, RSV G 유전자에 bPIV3 N-P 유전자간 영역을 부가시키기 위해, 상기 단편을 사용하여 오버랩핑(overlapping) PCR을 행하였다. 제2 PCR 반응을 위해, RSV G 및 F 유전자를 함유한 플라스미드를 DNA 주형으로 사용하였고, 올리고 5'CAGCGGATCCTAGGGGAGAAAAGTGTGAAGAAAAATGTCC3', 및 상기 짧은 PCR 단편으로부터 발생된 올리고를 프라이머로 사용하였다. bPIV3 N-P 유전자간 영역에 연결된 RSV G 유전자를 함유하고 AvrII 제한 효소 부위를 플랭킹(fanking)하는 상기 생성된 PCR 단편을 pGEM3 내로 클로닝하였다. RSV G 유전자를 서열분석하여 온전한 오픈 리딩 프레임 및 예측된 아미노 산 서열의 존재를 확인하였다. RSV G 유전자를 보유하는 DNA 단편을, AvrII 제한 효소 부위를 사용하여 제1 또는 제2 위치내로 삽입하여, AvrII로 선형화된 bPIV3 (1-5 bPIV3) 게놈의 처음 5200개의 뉴클레오티드만을 보유하는 서브클론으로 하였다. 본 실시예 및 다른 실시예에서 사용된 바와 같이, 1-5 bPIV3은 소 PIV3 게놈의 뉴클레오티드 1 내지 5196 (또는 5200)을 가리킨다. 이 위치에 BstB1 부위가 있다.

[0412] RSV F 카세트(N-P 유전자 개시/정지)의 구축: RSV F 유전자 단편을 RSV F 유전자의 5' 및 3' 말단에 AvrII 부위가 부가된 올리고를 사용하여 전장 bPIV3/RSV F+G cDNA 플라스미드로부터 PCR에 의해 단리하고, AvrII로 선형화된, bPIV3 게놈의 처음 5200개의 뉴클레오티드 및 nt 1774의 AvrII 부위를 함유하는 1-5 bPIV3 플라스미드 내로 도입하였다. 올리고 5'GACGCGTCGACCACAAAGAGATGACCACTATCAC3' 및 bPIV3 F 오픈 리딩 프레임에서 어닐링된 올리고를 사용하여, bPIV3 N-P 유전자간 영역, AvrII 부위, 및 nt 5200까지의 bPIV3 서열을 함유하는 PCR 단편을 발생시켰다. PCR 단편을 SalI 및 NheI로 소화시키고, SalI 및 NheI로 소화시킨 RSV F 유전자를 위치 2에 보유하는 1-5 bPIV3 플라스미드에 부가시켰다. N-P 유전자간 영역을 함유하는 RSV F 유전자를 위치 1로 도입하기 위해, 1.8 kb RSV F 카세트를 ArvII를 사용하여 자르고, AvrII로 선형화시킨 AvrII 부위를 nt 104에 함유하는 1-5 bPIV3에 라이게이션하였다.

[0413] 짧은 유전자간 영역을 갖는 RSV F 카세트 (N 정지/N 개시)의 구축:

[0414] 주형으로서의 1-5 bPIV3/RSV F2, 올리고 5'GCGCGTCGACCAAGTAAGAAAACTTAGGATTAAAGAACCCCTAGGACTGTA3' 및 AvrII 제한 효소 부위를 포함하는 RSV F 유전자의 5' 말단의 상류를 어닐링시키는 올리고를 사용한 PCR 반응을 수행하여, 짧은 N-N 유전자간 영역을 갖는 RSV F 유전자를 발생시켰다. RSV F 유전자 및 짧은 N-N 유전자간 영역을 함유하는 PCR 생성물을 AvrII로 소화시키고, AvrII로 선형화시킨 1-5 bPIV3 nt 104로 도입하였다.

[0415] RSV G 및 RSV F 유전자 카세트를 서열분석하여 온전한 오픈 리딩 프레임, 예측된 아미노산 서열의 존재를 확인하였고, 6의 법칙을 확증하였다. RSV G 및 RSV F 전사 단위를 AvrII 제한 효소 부위를 사용하여 제1 또는 제2 위치내로 삽입하여, AvrII로 선형화시킨 서브클론 1-5 bPIV3으로 하였다. 제한 효소 맵핑에 의한 적당한 배향을 확인한 후, 제1 위치에 RSV 유전자를 보유하는 플라스미드를 SphI 및 BssHII로 소화시키고, 4kb (1-5 bPIV3/RSV G1) 또는 4.8 kb (1-5 bPIV3/RSV F1) DNA 단편을 단리하였다. 제2 클로닝 단계에서, b/h PIV3 게놈의 나머지를 SphI-BssHII 15.1 kb DNA 단편으로서 부가하여 전장 cDNA를 수득하였다. 제2 위치에 RSV 유전자를 보유하는 bPIV3 서브클론을 SphI 및 NheI로 절단하고, 5.8 kb (bPIV3/RSV G2) 및 6.5 kb (bPIV3/RSV F2) DNA 단편을 단리하였다. 제2 클로닝 단계에서, b/h PIV3 게놈의 나머지를 14 kb 크기의 NheI-SphI DNA 단편으로서 라이게이션하였다. 전장 키메라 b/h PIV3/RSV 플라스미드를 STBL-2 세포(김코/BRL) 중에서 번식시켜 전장 바이러스 cDNA 플라스미드를 고수율로 수득하였다.

[0416] 8. 실시예 3: 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 벡터함유 호흡기 합포체 바이러스 F 또는 G는 시험관 내 mRNA 생성 및 단백질 발현 뿐 아니라 바이러스 복제에 있어서 위치 효과를 나타냈다.

[0417] 실시예 2의 구조물의 RSV F 또는 G 유전자의 효과적인 발현을 확인하고 PIV3 게놈에서 유전자 삽입의 위치 효과를 측정하기 위해 3개의 실험을 행하였다.

- [0418] 먼저, 키메라 바이러스에 의한 RSV 단백질 발현을 입증하기 위해, 키메라 바이러스로 감염된 세포 용해질의 웨스턴 블롯을 행하고, RSV 특이적 항혈청으로 프로빙하였다. 도 5A를 참조한다. 웨스턴 블롯은 다음과 같이 실시하였다. 키메라 바이러스를 사용하여 (70 내지 80%) 아용합된 Vero 세포를 0.1 또는 1.0의 MOI로 감염시켰다. 감염 48시간 후, 배지 오버레이를 제거하고, 감염된 단층을 PBS 1 mL로 1회 세척하였다. 이어서 세포를 0.05% β -메르캅토에탄올 (시그마(Sigma))를 함유하는 라엠블리(Laemmli) 완충액 (바이오-래드(Bio-Rad)) 400 μ L 중에 용해시켰다. 각 샘플 15 mL를 12% 트리스-HCl 레디 겔(Ready Gel) (바이오-래드)상에서 분리하고, 반건조 이동 셀(바이오-래드)을 이용하여 나일론 막으로 이동시켰다. 나일론 막을 0.5% (v/v) 트윈-20 (시그마)를 함유하는 PBS [pH 7.6] (PBST)로 행구고, 5% (w/v) 분유를 함유하는 PBST (PBST-M)로 실온에서 20 내지 30 분 동안 차단하였다. 막을 PBST-M 중에 1:1000으로 희석된 RSV F 모노클로날 항체들의 혼합물 (WHO 1269, 1200, 1153, 1112, 1243, 1107, 그 전문이 본원에 참고로 도입되는 문헌 [Beeler and Coelingh, J. Virol. (1989) 63(7):2941-50] 참조) 또는 PBST-M 중에 1:2000으로 희석된 RSV G 10181 폴리클로날 항체 (오르비겐 (Orbigen))와 함께 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. PBST로 4 회 세척한 후, PBST-M 중에 1:12000으로 희석된 2차 홍당무 퍼옥시다제 접합된 염소 항마우스 항체 (다코(Dako))와 함께 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 막을 PBST로 4 회 세척하고, 화학발광 물질 (아머샴 파마시아(Amersham Pharmacia))를 이용하여 발현시키고, 바이오맥스 라이트 필름(Biomax Light Film) (코닥(Kodak))에 노출시켜 단백질 밴드를 시각화하였다.
- [0419] Vero 세포에서 b/h/RSV F1*N-N의 감소된 복제 효율과 일치하여 (하기 도 5C 참조), 감염 48시간 후에 검출되는 RSV F1의 양은 b/h PIV3/RSV F2 감염 세포 또는 야생형 RSV A2 감염 세포에서 나타나는 것보다 약 10 배 적었다 (도 5A에서 레인 2, 3 및 4 비교). RSV F1 단편을 나타내는 약 50 kDa의 밴드는 b/h PIV3/RSV F1 및 b/h PIV3/RSV F2 뿐만 아니라 야생형 RSV로 감염된 세포에서 검출되었다. b/h PIV3/RSV F1은 감염 48시간 후 (48 hpi)에 b/h PIV3/RSV F2에 대해 관찰되는 것과 유사한 RSV F1 단백질 수준을 발현하였다. b/h PIV3/RSV F1 및 b/h PIV3/RSV F2로 감염된 세포에서 단지 낮은 수준의 F0이 검출되었으며, 이는 F0 전구체가 야생형 RSV 감염에서도 관찰되는 것과 마찬가지로 감염 동안에도 효율적으로 프로세싱되었음을 나타낸다. 예상된 바와 같이, b/h PIV3 감염 세포 및 가상-감염 세포의 용해질에 대해서는 RSV F 단백질에 대한 신호가 획득되지 않았다. 야생형 RSV 용해질에는 존재하지 않는, 약 26 kDa의 보다 작은 밴드가 b/h PIV3/RSV F1 및 F2 용해질에서 관찰되었다. 이 밴드는 야생형 RSV-감염 세포에서 생성되지 않는 RSV F 단백질의 단백질 분해 단편을 나타낸다. RSV-감염 세포에서 단백질 분해 단편이 존재하지 않는 것은 RSV 단백질의 완전한 세트가 존재하기 때문일 수 있다. b/h PIV3/RSV F1*N-N 감염이 1.0 이상의 MOI에서 반복한 경우 (도 5A, 레인 1), b/h PIV3/RSV F1 감염 세포에서의 F1 단편은 감염 48시간 후에 야생형 RSV 수준으로 축적되었다. b/h PIV3/RSV F1 감염 세포 또는 b/h PIV3/RSV F2 감염 세포에서 50 kDa 및 26 kDa의 F1 단편의 상대적인 양은 약 1:5였다.
- [0420] 감염 48시간 후에 MOI 0.1에서 b/h PIV3/RSV G1, b/h PIV3/RSV G2 및 야생형 RSV 감염 세포에서의 RSV G의 상대적인 발현은 도 5A에 나타낸다. 이동된 RSV G의 미성숙 형태 및 글리코실화된 형태 둘다가 각각 대략 50 kDa 및 90 kDa에서 검출되었다. b/h PIV3/RSV G1 감염 세포는 야생형 RSV 감염 세포에서 보이는 것과 유사한 RSV G 발현 수준을 나타냈다 (도 5A, 레인 1 및 3). 그러나, b/h PIV3/RSV G2 감염 세포에는 야생형 RSV 감염 세포에 존재하는 것보다 약 2 내지 3배 더 많은 RSV G가 축적되었다 (도 5A, 레인 2 및 3). 보다 높은 수준의 RSV G 발현은 RSV 게놈에서의 RSV G 유전자 위치에 비해 PIV3 게놈에서의 RSV G 유전자가 보다 3' 근접 위치이기 때문일 수 있다. 위치 1에서의 RSV G에 대해 보다 높은 수준의 발현은 관찰되지 않으며, 이는 약독화된 바이러스 복제 표현형 때문일 수 있다. RSV G-특이적 밴드는 b/h PIV3 감염 세포 또는 가상-감염 세포로부터 유래된 세포 용해질에서는 관찰되지 않았다. 총괄적으로, 이러한 데이터는 키메라 b/h PIV3/RSV가 위치 1 또는 2에서 RSV 단백질을 효율적으로 발현시켰음을 나타냈다. b/h PIV3에 의한 RSV 단백질의 동등한 발현 수준은 위치 1 또는 2가 사용되는 가에 대해 독립적인 것으로 관찰되었지만, 위치 2에서 약간 보다 높은 수준의 RSV G 단백질이 발현된 것으로 나타났다. PIV3 게놈의 위치 1 또는 위치 2에서의 항체 발현 수준은 유사하므로 어느 위치든 유전자 삽입에 대해 사용될 수 있다.
- [0421] 다음, 노던 블롯 분석은 mRNA 전사가 웨스턴 블롯에 의해 입증된 단백질 발현의 결과와 관계됨을 나타냈다 (도 5B 참조). 노던 블롯은 하기와 같이 수행되었다. 전체 세포 RNA를 바이러스-감염 세포로부터 트리졸(Trizol) LS (라이프 테크놀로지스(Life Technologies))를 사용하여 준비하였다. 상기 RNA를 1회의 페놀-클로로포름 추출에 의해 추가 정제하고 에탄올로 침전시켰다. RNA 펠렛을 디에틸 폴리카르보네이트-처리된 물 중에 재현탁시키고, -80°C에 저장하였다. 동량의 전체 RNA를 1% 포름알데히드를 함유하는 1% 아가로스 겔 상에서 분리하고, 터보블롯터기(Turboblotter apparatus) (클라이처 앤 쉐일러(Schleicher & Schuell))를 이용하여 나일론 막 (아머샴 파마시아 바이오텍)으로 옮겼다. 디곡시게닌 (DIG) RNA 표지 키트 (로체 몰레큘라 바이오케미칼즈

(Roche Molecular Biochemicals))를 사용하여 시험관내 전사에 의해 합성된 DIG-UTP-표지된 리보프로브와 함께, 상기 블롯을 혼성화하였다. 혼성화를 익스프레스 하이브 (Express Hyb) 용액 (클론택(Clontech)) 중 68℃에서 12시간 동안 수행하였다. 상기 블롯을 68℃에서 2X SSC (0.015 M 나트륨 시트레이트와 함께 0.015 M NaCl을 함유한 1X SSC)-0.1% 나트륨 도데실 술페이트 (SDS)로 2회 세척한 다음, 0.5X SSC-0.1% SDS로 1회 세척하고, 0.1X SSC-0.1% SDS로 최종 세척하였다. 혼성화된 프로브로부터의 신호를 DIG-형광 검출 키트 (로체 몰레큘라 바이오케미칼즈)를 사용하여 검출하고, 바이오맥스(BioMax) ML 필름 (코닥)에 노출시킴으로써 시각화시켰다.

[0422] b/h PIV3/RSV F1*N-N, b/h PIV3/RSV F2, b/h PIV3/RSV G1 및 b/h PIV3/RSV G2의 노던 분석으로, RSV F 또는 RSV G에 대한 바이러스 mRNA 수준이, 관찰된 RSV 단백질 수준과 매우 관련되어 있음이 나타났다 (도 5B). 가장 낮은 수준의 RSV F mRNA가 b/h PIV3/RSV F1*N-N에 대해 관찰되었으며, 이는 또한 가장 적은 양의 RSV F 단백질이 생성되었음을 나타냈다. b/h PIV3/RSV G1은 b/h PIV3/RSV G2에 대해 관찰되는 것보다 더 적은 RSV G mRNA를 생성하여, 더 낮은 RSV G 단백질 수준을 나타냈다.

[0423] 마지막으로, 상이한 바이러스 (위치 1 또는 위치 2에 RSV F 또는 G 유전자를 가짐)의 성장은 단백질 발현 및 RNA 전사의 결과와 관련된다. 도 5C에서의 성장 곡선은 하기와 같이 얻어졌다. Vero 세포를 90% 융합이 되도록 성장시키고, MOI 0.01 또는 0.1에서 b/h PIV3, b/h PIV3 RSV F1, b/h PIV3 RSV G1, b/h PIV3 RSV F2 및 b/h PIV3 RSV G2로 감염시켰다. 감염된 단층을 37℃에서 인큐베이션하였다. 감염 0, 24, 48, 72, 96 및 120시간 후에, 세포 및 배지를 함께 수확하고, -70℃에 저장하였다. 각각의 수확 시점에 대한 바이러스 역가를 Vero 세포에서의 TCID₅₀ 또는 플라크 분석으로 측정하였다. TCID₅₀ 분석을 37℃에서 6일 동안 인큐베이션한 후에 CPE를 위해 시각적으로 검사하였고, 플라크 분석을 5일 인큐베이션한 후에 정량화를 위해 RSV 폴리클로날 항혈청으로 면역염색하였다.

[0424] MOI 0.01에서 Vero 세포 내에 제1 위치에 RSV G 또는 F 유전자를 보유하는 키메라 바이러스 (b/h PIV3 RSV G1 및 b/h PIV3 RSV F1*N-N)는 제2 위치에 RSV 유전자를 함유하는 바이러스보다 더 느린 속도로 복제되고, 더 낮은 피크 역가를 나타내고, 더 큰 잠복기를 나타냈다. 감염 96시간 후에 b/h PIV3/RSV F1*N-N 및 b/h PIV3/RSV G1의 피크 역가는 각각 $10^{6.7}$ 및 $10^{5.5}$ TCID₅₀/ml였다 (도 5C). 반대로, b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/RSV G2의 피크 역가는 감염 72 및 96시간 후에 각각 $10^{8.0}$ 및 $10^{7.4}$ 였다 (도 5C). b/h PIV3 대조군 바이러스는 각각 $10^{8.0}$ TCID₅₀/ml의 피크 역가를 나타냈다 (도 5C). b/h PIV3/RSV F2는 b/h PIV3/RSV F1*N-N보다 1.3 log₁₀ 높은 역가를 나타냈다. b/h PIV3/RSV G2는 b/h PIV3/RSV G1보다 1.9 log₁₀ 높은 역가로 복제되었다. 총괄적으로, 상기 데이터는 계놈 위치 1 또는 2에서 RSV 단백질을 발현시키는 b/h PIV3이 Vero 세포 내에서 10^6 내지 10^8 PFU/ml의 피크 역가로 복제됨을 나타냈다. 위치 2에 항체 삽입물을 보유하는 바이러스는 위치 1 내에 외래 유전자를 함유하는 바이러스보다 조직 배양 시 더 효율적으로 복제되었다.

[0425] b/h PIV3/RSV F1*N-N과 b/h PIV3/RSV G1의 보다 높은 역가가 적어도 달성될 수 있는지 측정하기 위해, 성장 곡선을 MOI 0.1 이상에서 반복하였다. MOI 0.1에서, b/h PIV3/RSV F1*N-N 및 b/h PIV3/RSV G1의 피크 역가는 0.5에서 1.3 log₁₀으로 증가하였다 (데이터는 나타나지 않음). 상기 바이러스의 잠복기는 감소되었고, 피크 역가는 성장 사이클 동안 더 빨리 달성되었다.

[0426] **9. 실시예 4: 바이러스 복제에 있어서 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 계놈 내 eGFP 삽입의 위치 효과**

[0427] 소/인간 PIV3 벡터 주쇄 내로의 유전자 삽입 효과는, PIV3의 모든 유전자 사이에 eGFP 유전자를 순차적으로 도입하고 바이러스 복제 및 eGFP 발현에 대한 효과를 관찰함으로써 계획적으로 평가하였다 (도 6). 이러한 유형의 분석법은 특정 비율의 바이러스 mRNA를 생성하는 파라믹소바이러스에 대해 관찰되는 전사 구배의 중요성을 연구한다. 외래 유전자의 삽입은 상기 특정 비율을 교란시키고, 바이러스 복제에 영향을 미칠 수 있는 상이한 양의 바이러스 단백질을 합성할 것이다. eGFP 유전자는 비리온 막 내로 혼입되지 않을 것이기 때문에 이러한 분석법에 대해 선택되었고, 따라서 패키징, 버딩, 도입 등과 같은 바이러스 과정을 방해하지 않을 수 있다. eGFP 유전자를 b/h PIV3 계놈의 4개의 위치에 삽입하고, 이들 중 3종의 위치는 eGFP 발현 및 바이러스 복제를 특징으로 하였다. eGFP 유전자 카세트는 bPIV3 N-P 유전자간 영역에 연결되었다. b/h GFP1은 b/h PIV3 계놈의 가장 3' 근접 위치에 eGFP 유전자 카세트를 보유하였다. b/h PIV3/GFP2는 b/h PIV3 계놈의 N 및 P 유전자 사이에 eGFP 유전자 카세트를 함유하였다. b/h PIV3/GFP3은 P 및 M 사이에 위치하고, b/h PIV3/GFP4는 b/h PIV3

의 M 및 F 사이에 eGFP 유전자를 가졌다 (도 6).

- [0428] eGFP 유전자 카세트의 구축: eGFP 유전자의 주형은 시판되며, 예를 들어 이것을 BD 바이오사이언시즈 (pIRES2-EGFP) 또는 클론텍 (pEGFP-N1)으로부터 구입할 수 있다. 문헌 [Hoffmann et al., Virology 267:310-317 (2000)]를 참조한다. eGFP 유전자를 PCR로 단리하고, bPIV3의 N-P 유전자간 영역을 올리고 5'ATTCTAGGATGGTGAGCAAGGGCG3', 5'GGACGAGCTGTACAAGTAAAAAATAGCACCTAATCATG3' 및 5'CTACCTAGGTGAATCTTTGGTTG3'를 사용하는 오버래핑 PCR 방법을 이용함으로써 첨가하였다. eGFP 카세트를 pCR2.1 내로 삽입하고, 서열분석하고, 6의 범칙에 대한 지지를 확인하였다. 이어서, eGFP 카세트를 AvrII로 소화시키고, 겔 정제하여, 하기 기재된 바와 같이 b/h PIV3의 위치 1, 2, 3 및 4 내로 삽입하였다.
- [0429] 위치 1 및 2 내에 eGFP 유전자를 보유하는 전장 cDNA의 생성: eGFP 유전자 카세트를 nt 1 내지 5200의 bPIV3 서열 및 nt 104 (위치 1) 또는 nt 1774 (위치 2)에 AvrII 제한 효소 부위를 함유하는 1-5 bPIV3 플라스미드 내에 삽입하였다. 제한 효소 맵핑에 의해 적절한 배향을 확인한 후에, 제1 위치에 eGFP 유전자를 보유하는 플라스미드를 SphI 및 BssHII로 소화시키고, 4 kb (1-5 eGFP1)의 DNA 단편을 단리하였다. 다음으로, 나머지 b/h PIV3 게놈을 SphI-BssHII 15.1 kb DNA 단편으로서 부가하여, 전장 cDNA를 수득하였다. 위치 2에 eGFP를 포함하는 전장 cDNA를 제작하기 위해, 제2 위치에 eGFP 유전자를 보유하는 bPIV3 서브클론을 SphI 및 NheI로 절단하고, 5.8 kb (1-5 eGFP2)의 DNA 단편을 단리하였다. 다음으로, 나머지 b/h PIV3 게놈을 크기 14 kb의 NheI-SphI DNA 단편으로서 부가하였다. 전장의 키메라 b/h PIV3/eGFP 플라스미드를 전장의 바이러스 cDNA 플라스미드를 높은 수율로 제공하는 STBL-2 세포 (김코/BRL) 내에서 증식시켰다.
- [0430] 위치 3 및 4에 eGFP 유전자를 보유하는 전장 cDNA의 생성: eGFP 카세트를 b/h PIV3 게놈의 위치 3에 삽입하기 위해, 2개의 뉴클레오티드가 변경된 nt 1 내지 5200의 bPIV3을 함유하는 서브클론의 P-M 유전자간 영역 내 nt 3730에 AvrII 제한 효소 부위를 도입하였다. 하기 올리고 및 그의 상보체를 킷체인지 PCR 반응에 사용하여 AvrII 부위 5'GGACTAATCAATCCTAGGAAACAATGAGCATCACC3'를 도입하였다. eGFP 카세트를 AvrII로 소화시키고, nt 3730에 AvrII 부위를 보유하고 AvrII로 선형화된 1-5 bPIV3 서브클론 내로 라이게이션시켰다. SphI에서 NheI의 5.5 kb DNA 단편을 GFP 함유 서브클론으로부터 단리하고, SphI 및 NheI로 소화시킨 b/h PIV3의 cDNA 내로 도입하여 전장 플라스미드를 제조하였다. eGFP 유전자 카세트를 b/h PIV3 게놈의 위치 4 내로 부가하기 위해, b/h PIV3 서열을 함유하는, 1 내지 8500의 서브클론을 제조하였다. 이 서브클론을 NheI (nt 5042)로 선형화하고, 합치성 AvrII 말단을 함유하는 eGFP 카세트를 삽입하였다. 이어서, eGFP 카세트를 보유하는 서브클론을 SphI 및 XhoI로 소화시키고, 7.1 kb DNA 단편을 단리하였다. b/h PIV3 플라스미드를 SphI 및 XhoI로 처리하고, 11 kb 단편을 제조하였다. 이러한 2개의 DNA 단편을 라이게이션하여 b/h PIV3/GFP4를 생성하였다.
- [0431] b/h PIV3/GFP1, 2 및 3에 의해 제조되는 eGFP의 양을 2가지 방법으로 평가하였다. 우선, Vero 세포를 b/h PIV3/GFP1, 2 및 3으로 MOI 0.1 및 0.01에서 20시간 동안 감염시킴에 따라 생성되는 그린 세포의 양을 형광 현미경을 이용하여 측정하였다 (도 7A). b/h PIV3/GFP3은 b/h PIV3/GFP1 또는 2보다 상당히 적은 그린 세포를 생성하였다.
- [0432] 두번째로, 웨스턴 분석을 감염된 세포에 대해 수행하였고, 블롯에서는 GFP MAb 뿐 아니라 PIV3 PAb를 사용하여 프로빙하였다. b/h PIV3/GFP3이 매우 적은 eGFP 단백질을 생성한다는 것을 개시 관찰에서 확인하였다 (도 7B). b/h PIV3 GFP1 및 GFP2가 유사한 양의 eGFP 단백질을 생성하였다. 웨스턴 블롯 방법은 PIV3 항체를 사용하여 프로빙함으로써 동부표의 로딩량에 대해 대조하였다 (도 7B). 흥미롭게는, 모든 3종의 바이러스가 유사한 양의 PIV3 단백질 (HN 단백질이 가장 우세한 밴드임)을 생성하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 b/h PIV3/GFP3이 위치 1 및 2에 비해 위치 3에서 더 적은 GFP mRNA를 전사하였음을 제안하였다. 이러한 데이터로 파라믹소바이러스에서 바이러스 mRNA의 전사 구배가 존재함을 확인하였다. PIV3 HN 단백질의 생성 수준은 eGFP 유전자 삽입에 의해 영향을 받지 않았다 (도 7B).
- [0433] GFP 유전자 삽입이 b/h PIV3/GFP1, 2 및 3의 바이러스 복제의 동역학에 대한 효과를 갖는지 측정하기 위해, Vero 세포에서의 다순환 성장 곡선을 수행하였다 (도 7C). 성장 곡선은 b/h PIV3/GFP1이 b/h PIV3/GFP2 또는 GFP3보다 감염 24 및 48시간 후에 바이러스 복제의 개시가 지연됨을 나타냈다. 그러나, 얻어지는 최종 피크 역가는 모든 3종의 바이러스에 대해 유사하였다. b/h PIV3/GFP2 및 GFP3에 대한 복제 동역학은 거의 동일하였다 (도 7C). 흥미롭게는, 바이러스 mRNA의 변경된 비율이 바이러스 복제에 유의하게 영향을 미치는 것으로 나타나지 않았다.
- [0434] 10. 실시예 5: 키메라 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 벡터함유 상이한 유전자간 영역을 갖는 호흡기 합포체 바이러스 F의 구축 및 클로닝

- [0435] 3종의 상이한 구조물을 사용하여 단백질 발현 및 바이러스 복제에 대한 유전자간 영역 (각각의 mRNA 사이의 뉴클레오티드, 예를 들어, F 유전자 및 N 유전자 사이의 뉴클레오티드)의 효과를 측정하였다. 도 8을 참조한다. 제1 구조물은 더 짧은 bPIV3의 N 유전자 정지 서열/N 유전자 출발 서열을 갖는, 위치 1에서의 b/h PIV3 벡터함유 RSV F1*N-N이었고 (도 4에서 RSV F1*N-N); 제2 구조물은 위치 1에서의 b/h PIV3 벡터함유 RSV F였으며 (도 4에서 RSV F2); 마지막 구조물은 위치 1에서 b/h PIV3 벡터함유 RSV였다 (도 4에서 RSV F1). 모든 3종의 구조물을 실시예 2, 단락 7에 기재되어 있는 클로닝 방법에 따라 제조하였다.
- [0436] 2개의 카세트 간에 가장 극적인 차이점은 단지 10 nt 길이의 b/h PIV3/RSV F1*N-N 중 N 유전자 출발 서열과 N 번역 출발 코돈 사이의 거리였다. 반면, b/h PIV3/RSV F2에서 상기 거리는 86 nt 길이였다. 다른 차이점은 b/h PIV3/RSV F2에서 P 유전자 출발 서열을 사용한 것과 달리 b/h PIV3/RSV F1*N-N에서 N 유전자 출발 서열을 사용한다는 것이다. 바이러스 전사 유닛의 전사 유전자 출발과 번역 출발 사이의 거리가 바이러스 복제에 영향을 미치는지 측정하기 위해, b/h PIV3/RSV F2에 대해 사용된 바와 동일한 RSV F 유전자 카세트를 함유하는 b/h PIV3/RSV F1 구조물을 제조하였다.
- [0437] **11. 실시예 6: 바이러스 복제에 효과를 갖는 호흡기 합포체 바이러스 유전자의 유전자간 영역의 하류의 길이 및 (또는) 성질**
- [0438] 실시예 5에서의 3종의 구조물을 하기 실험에 사용하여 바이러스 단백질 발현 및 바이러스 복제에 대한 유전자간 영역의 효과를 측정하였다. 도 9를 참조한다.
- [0439] 먼저, b/h PIV3/RSV F1, b/h PIV3/RSV F1*N-N 및 b/h PIV3/RSV F2에 대한 RSV F 단백질 발현을 감염 24 및 48 시간 후에 Vero 세포 내 MOI 0.1에서 웨스턴 브롯을 사용하여 비교하였다. 웨스턴 브롯을 하기와 같이 수행하였다. 키메라 바이러스를 사용하여 (70 내지 80%) 아용합된 Vero 세포를 0.1의 MOI로 감염시켰다. 감염 24시간 및 48시간 후에, 배지 오버레이를 제거하고, 감염된 단층을 PBS 1 ml로 1회 세척하였다. 이어서 세포를 0.05% β -머캅토포탄올 (시그마)을 함유하는 라에몰리 완충액 (바이오-래드) 400 ml 중에 용해시켰다. 각 샘플 15 ml를 12% 트리스-HCl 레디 겔 (바이오-래드) 상에서 분리하고, 반건조 이동 셀 (바이오-래드)를 이용하여 나일론 막으로 이동시켰다. 나일론 막을 0.5% (v/v) 트윈-20 (시그마)을 함유하는 PBS (pH 7.6) (PBST) 중에서 행구고, 실온에서 20 내지 30 분 동안 5% (w/v) 분유를 함유하는 PBST (PBST-M)로 차단시켰다. 상기 막을 PBST-M 중에 1:1000으로 희석된 RSV F 모노클로날 항체 (WHO 1269, 1200, 1153, 1112, 1243, 1107) 중 하나와 1시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다. PBST로 4 회 세척한 후, 막을 PBST-M 중에 1:2000으로 희석된 2차 홍당무 퍼옥시다제-접합된 염소 항-마우스 항체 (다코)와 1시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 상기 막을 PBST로 4회 세척하고, 화학발광 기질 (아머삼 파마시아)을 사용하여 현상하고, 바이오맥스 라이트 필름 (코닥)에 노출시켜 단백질 밴드를 시각화하였다.
- [0440] b/h PIV3/RSV F1은 감염 24 및 48시간 후에 b/h PIV3/RSV F2에 대해 관찰된 수준에 근접하지만 b/h PIV3/RSV F1*N-N의 수준보다는 더 높은 RSV F1 단백질 수준을 발현하였다. 따라서, 유전자 출발 요소와 번역 출발 코돈 사이의 이격은 바이러스 복제에 중요할 수 있다. N 유전자 출발 서열을 P 유전자 출발 서열로 변경하였으나, 이러한 변경은 단지 단일 뉴클레오티드 변경만을 초래하였다. 이러한 인자들 중 하나가 RSV F 단백질 발현 표현형을 얻는 데 작용할 수 있다.
- [0441] 다음으로, 다순환 성장 곡선을 수행하여 Vero 세포 내 MOI 0.1에서 b/h PIV3/RSV F1, b/h PIV3/RSV F1*N-N 및 b/h PIV3/RSV F2의 바이러스 복제의 동역학을 비교하였으며 (도 9B 참조), 이것은 하기와 같이 수행되었다. Vero 세포를 90% 전면생장으로 성장시키고 MOI 0.1에서 b/h PIV3, b/h PIV3/RSV F1*N-N, b/h PIV3/RSV F1 및 b/h PIV3/RSV F2로 감염시켰다. 감염된 단층을 37°C에서 인큐베이션하였다. 감염 0, 24, 48, 72 및 96시간 후에, 세포 및 배지를 함께 수집하고 -70°C에 저장하였다. 각 시점의 수확에 대한 바이러스 역가는 Vero 세포에서의 플라크 분석법으로 측정하였다. 인큐베이션 5일 후, 정량화를 위해 RSV 폴리클로날 항혈청으로 면역염색하여 플라크 분석하였다.
- [0442] 도 9B에 나타난 바와 같이, b/h PIV3/RSV F1*N-N 복제의 개시가 지연되고, 피크 역가가 b/h PIV3/RSV F2의 역가보다 낮았다. 반대로, b/h PIV3/RSV F1은 b/h PIV3/RSV F2에 대해 관찰된 것과 거의 동일한 성장 곡선을 나타냈다.
- [0443] **12. 실시예 7: 3가 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 벡터함유 구조물의 클로닝**
- [0444] 하기 실시예는 hPIV3, RSV F 및 hMPV F의 표면 당단백질 (F 및 HN)을 보유하는 3가 백신을 생성하여, 단일 약독화된 생바이러스 백신을 사용함으로써 RSV, hMPV 및 hPIV3에 의해 발병되는 질환으로부터 어린이를 보호하는 것

과 관련된다. 이러한 3가 바이러스를 역유전에 의해 회복시켰다.

[0445] 2개의 추가 이중 서열 (하나의 이중 뉴클레오티드 서열은 메타뉴모바이러스 F 유전자로부터 유래되고, 또다른 이중 뉴클레오티드 서열은 호흡기 합포체 바이러스 F 유전자로부터 유래됨)이 삽입된, 키메라 b/h PIV3 주체를 포함하는 각각의 2개의 바이러스 게놈의 구축을 하기와 같이 수행하였다 (도 10 참조). 플라스미드 b/h PIV3/RSV F2 또는 b/h PIV3/hMPV F2를 SphI 및 NheI로 소화시키고, 6.5 kb 단편을 단리하였다. b/h PIV3 RSV F1 또는 b/h PIV3/hMPV F1에 대한 전장 cDNA를 SphI 및 NheI로 소화시키고, 14.8 kb의 DNA 단편을 단리하고, 플라스미드 b/h PIV3/RSV F2 또는 b/h PIV3/hMPV F2로부터 유래된 6.5 kb의 DNA 단편과 라이게이션하여 전장의 바이러스 cDNA를 생성하였다.

[0446] 상기 기재된 구조물 (즉, 위치 1에서의 F_{RSV}와 위치 3에서의 F_{hMPV}, 및 위치 1에서의 F_{hMPV}와 위치 3에서의 F_{RSV})로부터 생성된 바이러스를 복제하고 Vero 세포에 패키징한다. 구해진 바이러스, 바람직하게는 본원에 언급된 제1 구조물을 포함하는 바이러스는 파라인플루엔자 바이러스 감염, 메타뉴모바이러스 감염 및 호흡기 합포체 바이러스 감염에 대한 3가 백신으로서 사용될 수 있다.

[0447] 13. 실시예 8: 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 벡터로의 2개의 호흡기 합포체 바이러스 F의 클로닝

[0448] 2개 RSV F 유전자 복제물을 운반하는 키메라 바이러스는 키메라 바이러스에 의해 생성된 더 많은 RSV 단백질이 개선된 면역원을 생성할 것인지를 측정하기 위해 고안되었다. 이 바이러스는 역유전에 의해 구해지고, Vero 세포에 생물학적으로 클로닝되고 증폭되어 1×10^6 pfu/ml의 역가를 갖는 바이러스 스톱을 생성하였다. 이 바이러스 (b/h PIV3/RSV F1F2)를 사용하여 바이러스 성장 동역학, RSV F 단백질 생성 및 햄스터에서의 복제 및 면역원을 평가할 수 있다.

[0449] 구조물을 하기 방식으로 수득하였다 (도 11 참조). 1-5 RSV F2 플라스미드를 SphI 및 NheI로 소화시키고, 6.5 kb 단편을 단리하였다. b/h PIV3 RSV F1을 위한 전장 cDNA를 SphI 및 NheI로 소화시키고, 14.8 kb DNA 단편을 단리하고, 1-5 bPIV3/RSV F2로부터 유래된 6.5 kb DNA 단편과 라이게이션시켜 전장 바이러스 cDNA를 생성하였다.

[0450] 14. 실시예 9: 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 벡터함유 인간 메타뉴모바이러스 F cDNA의 구축 및 클로닝

[0451] 인간 메타뉴모바이러스 (hMPV)의 F 유전자를 b/h PIV3 게놈의 위치 1 및 2에 삽입하였다 (도 12). hMPV F 유전자 카세트가 bPIV3 N-P 유전자간 영역에 보유되어 있다. hMPV F 유전자 (NL/1/00)를 운반하는 플라스미드 (pRF515)를 사용하였고, hMPV F 유전자 중 단일 뉴클레오티드 돌연변이를 교정하여 (즉, 뉴클레오티드 3352를 C에서 T (야생형)로 교정함), pRF515-M4를 생성하였다. bPIV3 N-P 유전자간 영역을 오버래핑 PCR를 이용하여 hMPV F 유전자의 3' 말단에 추가하였다. hMPV F에 대해, 오버래핑 PCR 올리고는 5'GGCTTCATACCACATAATTAGAAAAATAGCACCTAATCATGT TCTTACAATGGTCGACC 3'이었다. 상기 클로닝 단계 동안, 상기 올리고를 PCR 반응에서 AvrII 제한 효소 부위를 함유하는 hMPV F 유전자 카세트의 5' 말단 (5'GCA GCCTAGGCCGCAATAACAATGTCTTGAAAGTGGTGATC 3') 및 3' 말단 (5'CTACCTAGGTGAATCTTT GGTTG 3')에 사용하였다. hMPV F 유전자 카세트를 퀵체인지 돌연변이 키트 및 하기 올리고 (5'CCTAGGCCGCAATAGACAATGTCTTG3', 5'CCAAGACATTGTCTATTGCGGCTAGG 3')를 사용하여 6의 법칙에 순응하도록 조정하였다. 전장 b/h PIV3/hMPV F1 (위치 1) 및 F2 (위치 2) cDNA 플라스미드를 b/h PIV3/eGFP1 및 eGFP2에 대해 상기 실시예 4, 단락 9에 기재된 바와 동일한 방식으로 생성하였다.

[0452] hMPV F 유전자 카세트를 서열분석하여 완전한 오픈 리딩 프레임, 예측된 아미노산 서열을 확인하고 6의 법칙을 입증하였다. hMPV F 전사 유닛을 AvrII로 선형화된 서브클론 1-5 bPIV3 내로 AvrII 제한 효소 부위를 사용하여 제1 또는 제2 위치 내로 삽입하였다. 제한 효소 맵핑에 의해 적절한 배향을 확인한 후에, hMPV 유전자를 제1 위치에 보유한 플라스미드를 SphI 및 BssHII로 소화시키고, 4.8 kb (1-5 hMPV F1) DNA 단편을 단리하였다. 나머지 b/h PIV3 게놈을 SphI-BssHII 15.1 kb DNA 단편으로서 라이게이션하여 전장 cDNA를 수득하였다. hMPV 유전자를 제2 위치에 보유하는 bPIV3 서브클론을 SphI 및 NheI로 절단하고, 6.5 kb (bPIV3/hMPV F2) DNA 단편을 단리하였다. 나머지 b/h PIV3 게놈을 크기 14 kb의 NheI-SphI DNA 단편으로서 라이게이션하여 전장 cDNA 플라스미드를 생성하였다.

[0453] 15. 실시예 10: 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 벡터함유 인간 메타뉴모바이러스 F의 면역침전 및 복제 분석

- [0454] F 단백질이 위치 2에서 b/h PIV3 백터함유 인간 메타뉴모바이러스 F (hMPV F2)에서 발현되었음을 확인하기 위해, 기니아 피그 또는 인간 항혈청을 사용하여 hMPV F 단백질을 면역침전시켰다 (도 13A 참조). b/h PIV3/hMPV에 의해 발현된 hMPV F 단백질의 면역침전을 위해, Vero 세포를 b/h PIV3 또는 b/h PIV3/hMPV F1 또는 F2로 MOI 0.1 또는 0.05에서 감염시켰다. 감염 24시간 후에, 시스테인을 함유하지 않고 메티오닌을 뺀 DME (ICN)로 상기 세포를 1회 세척하고, 동일한 배지에서 30 분 동안 인큐베이션하였다. 배지를 제거하고, 100 μ Ci의 [³⁵S]-프로-믹스 (아머샴)를 함유하고 시스테인 및 메티오닌이 결핍된 DME 0.5 ml를 세포에 첨가하였다. 감염된 세포를 ³⁵S-동위원소의 존재하에 37°C에서 5시간 동안 인큐베이션하였다. 배지를 제거하고, 감염된 세포를 프로테아제 억제제를 함유한 0.3 M RIPA 완충액 중에 용해시켰다. 세포 용해질을 hMPV에 대한 기니아 피그 또는 인간의 폴리클로날 항혈청과 함께 인큐베이션하고, IgG-아가로스 (시그마)에 결합시켰다. 0.5 M RIPA 완충액으로 3회 세척한 후에, 샘플을 10% 단백질겔 상에서 분획하였다. 겔을 건조시키고 X-선 필름에 노출시켰다.
- [0455] b/h PIV3/hMPV F1 및 F2에 의한 hMPV F 단백질의 발현을 기니아 피그 hMPV 항혈청을 사용하는 면역침전에 의해 나타냈다 (도 13A). 흥미롭게도, 대략 80 kDa에서의 특이적인 밴드 이동이 b/h PIV3/hMPV F1 및 F2의 용해질에서 관찰되었다. 이 크기는 F 전구체 단백질, F0에 상응하였다. 또한, 상이한 크기의 비-특이적인 밴드가 b/h PIV3 및 가상-감염 대조군 레인에서 관찰되었다 (도 13). 이러한 데이터는 b/h PIV3/hMPV F1 및 F2가 hMPV F 단백질을 발현하였음을 제안하였다. F0 전구체의 F1 절단 생성물은 관찰되지 않았다. F 단백질 절단 부위의 분석은 hMPV F 단백질 절단 부위가 하전되지 않은 아미노산 잔기 (RQSRFVL)로 구성되는 반면 관련된 RSV 또는 APV A 유사 바이러스는 각각의 F 단백질 프로세싱 부위에 하전된 아미노산 (RKRRFLG 및 RRRRFVL)을 갖는다는 것을 나타낸다. 인플루엔자 바이러스로부터 절단 부위에 하전된 아미노산을 갖는 F 단백질이 F 단백질을 효율적으로 프로세싱하고 병독성의 표현형을 나타낼 수 있음이 공지되어 있다 (문헌 [Hatta et al., Science (2001) 293 (5536):1840-22001] 참고). hMPV F 단백질의 "약한" 절단 부위는, F1 및 F2 단편이 적용된 방법으로 검출되지 않을 수 있는 낮은 수준으로만 존재하기 때문에 F0 단백질만을 검출하는 데 작용할 수 있다. 불충분한 F 단백질 절단은 조직 배양액 중 hMPV 복제의 느린 성장과 관련된 하나의 프로세싱일 수 있고, 일부 hMPV 균주에 트립신이 요구되는 것을 설명할 수 있다 (van den Hoogen, 2001). 그러나, 사용가능한 hMPV 항체 시약은 제한되며, 이러한 혈청은 단지 hMPV F 단백질의 전구체와만 상호작용한다. 또한, 절단된 F1은 불안정하여 이 방법으로는 쉽게 시각화되지 않을 수 있다.
- [0456] 성장 곡선을 수행하여 b/h PIV3/hMPV F2의 바이러스 복제 동역학을 측정하고, 이들을 MOI 0.1에서 Vero 세포 내의 b/h PIV3 및 b/h PIV3/RSV F2에 대해 관찰되는 동역학과 비교하였다 (도 13B). 상기 데이터는 b/h PIV3/hMPV F2가 b/h PIV3/RSV F2와 비교하여 감염 24시간 후에 지연된 복제 개시가 나타남을 보여주었다. 그러나, 감염 48시간 이상 후에, 복제에서의 차이점은 더이상 관찰되지 않았다.
- [0457] 또한, 성장 곡선을 수행하여 b/h PIV3/hMPV F1의 바이러스 복제 동역학을 측정하고, 이들을 MOI 0.01에서 Vero 세포 내의 b/h PIV3/hMPV F2 및 b/h PIV에 대해 관찰되는 동역학과 비교하였다 (도 13C). 단락 8에 기재된 동일한 절차를 이용하여 b/h PIV3/RSV 키메라 바이러스에 대한 성장 곡선을 얻었다. 상기 데이터는 b/h PIV/hMPV F1의 복제 개시가 지연됨을 나타내고, b/h PIV3/hMPV F2 또는 b/h PIV3에 비해 더 낮은 피크 역가를 수득하는 것을 나타냈다. b/h hMPV F1의 플라크 크기는 또한 b/h hMPV F2에 비해 더 작았다.
- [0458] b/h PIV3 계능의 위치 2에 hMPV F 유전자를 보유하는 키메라 바이러스가 b/h PIV3에 대해 관찰된 수준으로 복제되었다. 감염 96시간 후에 b/h PIV3/hMPV F2에 대해 관찰된 피크 역가는 8.1 log₁₀ PFU/ml였다. 반대로, 위치 1로부터 hMPV F 단백질을 발현하는 PIV3에서는 바이러스 복제 개시가 지연되었고, 피크 역가는 감염 96시간 후에 b/h PIV3/hMPV F2에 비해 1.8 log₁₀까지 감소하였다. 6.3 log₁₀ PFU/ml의 역가만이 b/h PIV3/hMPV F1 감염된 Vero 세포로부터 얻어졌다. b/h PIV3/hMPV F1에 의해 나타나는 바이러스 복제 결함은 b/h PIV3/RSV G1 또는 b/h PIV3/RSV F1의 결함보다 더 심각하였으며, 이는 삽입물의 성질이 바이러스 복제에 대해 영향을 미칠 수 있다는 것을 제안한다.
- [0459] 통합적으로, 상기 데이터는 계능 1 또는 2번 위치의 hMPV를 발현시키는 b/h PIV3이 Vero 세포에서 10⁶-10⁸ PFU/ml의 피크 역가로 복제되었음을 나타내었다. 2번 위치에 항원이 삽입된 바이러스는 1번 위치에 외래 유전자를 함유하는 바이러스보다 조직에서 더 효율적으로 복제되었다.
- [0460] 또한, 키메라 바이러스 b/h PIV3/hMPV F1 및 F2를, 이들의 시리아 골든 햄스터(Syrian Golden hamster)에서의 감염 및 복제 능력에 대하여 평가하였다 (표 5). 이와 같이, 키메라 바이러스 b/h PIV3/hMPV F1 및 F2를 사용

하여 시리아 골든 햄스터를 비내 감염시키고, 기도에서의 복제능을 분석하였다 (표 15). 5주령의 시리아 골든 햄스터 (그룹당 6마리)를 100 μ l 부피의, 1×10^6 pfu 또는 1×10^4 PFU의 b/h PIV3, b/h PIV3/hMPV F1 또는 F2, 또는 hMPV/NL/1/00으로 비내 감염시켰다. 상이한 그룹을 미세-격리 케이지에서 별도로 사육하였다. 감염 시킨 후 4일째, 동물의 비갑개 및 폐를 수거하고, 균질화시켜 -70℃에 보관하였다. 조직에 존재하는 바이러스의 역가를 Vero 세포에서 TCID₅₀ 분석법으로 측정하였다. 시험감염 연구를 위해, 28일째에 동물을 1×10^6 pfu/ml의 hPIV3 또는 hMPV/NL/1/00으로 비내 접종하였다. 접종 후 4일째, 동물의 비갑개 및 폐를 분리하여 정량분석을 위해 면역염색한 Vero 세포 상에서의 플라크 분석법으로 접종 바이러스 복제에 대해 분석하였다.

표 5

햄스터에서 1 또는 2번 위치의 hMPV F 단백질을 발현시키는 b/h PIV3의 복제

바이러스 ^a	감염 후 4일째의 평균 바이러스 역가 (log ₁₀ TCID ₅₀ /g 조직 $\pm$ S.E.) ^b	
	비갑개	폐
b/h PIV3	4.8 $\pm$ 0.2	5.6 $\pm$ 0.6
b/h hMPV F1	5.3 $\pm$ 0.5	5.7 $\pm$ 0.4
b/h hMPV F2	5.7 $\pm$ 0.5	4.6 $\pm$ 0.3
hMPV	5.3 $\pm$ 0.1	3.6 $\pm$ 0.3

^a 6마리의 햄스터 그룹에 1×10^6 pfu의 지시된 바이러스를 비내 접종하였음.
^b 표준 오차
 주: 10일째에 TCID₅₀ 분석을 CPE에 대하여 판독하였음.

상기 결과는 b/h PIV3/hMPV F1 및 F2가 햄스터의 비갑개에서 각각 5.3 및 5.7 log₁₀TCID₅₀/g 조직의 높은 수준으로 복제되었음을 나타내었다. 이들 역가는 b/h PIV3 (4.8 log₁₀TCID₅₀/g 조직)에 대해 관찰한 것과 유사하였다. 이와 비교하여, 야생형 hMPV는 햄스터의 기도 상부에서 5.3 log₁₀TCID₅₀/g 조직의 역가를 나타내었다 (표 5). b/h PIV3/hMPV F1 및 F2가 햄스터의 폐에서 5.7 및 4.6 log₁₀TCID₅₀/g 조직의 높은 수준으로 복제되었다. 이들 역가는 b/h PIV3 (5.6 log₁₀TCID₅₀/g 조직)에 대해 관찰한 것과 유사하였다. 야생형 hMPV는 햄스터의 기도 하부에서 3.6 log₁₀TCID₅₀/g 조직의 감소된 역가를 나타내었다 (표 5). 이들 데이터는 b/h PIV3/hMPV F1 및 F2가 시리아 골든 햄스터의 상하 기도에서 효율적으로 감염 및 복제될 수 있음을 입증한다. 이들 데이터는 햄스터가 hMPV의 면역원성 연구 및 hMPV 백신 후보에 적합한 소동물 모델임을 시사한다.

16. 실시예 11: 가용성 호흡기 합포체 바이러스 F 유전자 생성물의 클로닝

가용성 RSV F 유전자의 단일 카피(copy)를 함유하는 생성물, 즉 막형단 및 세포질 도메인이 결여된 RSV F 유전자의 형태 (즉, b/h PIV3/so1 RSV F2)도 생성하였다 (도 14). 이 생성물을 사용하여 면역원성에 대해 시험하였다 (가용성 RSV F는 RSV 특이적 면역 반응을 여전히 유도할 것으로 예상됨). 이 생성물의 이점은 가용성 RSV F가 비리온 막으로 도입될 수 없는 점일 수 있다. 따라서, 이 바이러스는 바이러스의 향성이 변하지 않을 것으로 예상되기 때문에 보다 안전한 키메라 바이러스로 간주될 수 있다. b/h PIV3/so1 RSV F에 대한 cDNA 플라스미드는 역유전학에 의해 생성될 수 있었다. b/h PIV3/so1 RSV F2는 하기와 같이 제작되었다.

소/인간 (b/h) PIV3/so1 RSV F2 cDNA는 인간 PIV3으로부터 유래된 융합 (F) 및 적혈구응집소-뉴라미다제 (HN) 유전자를 보유하는 반면, 바이러스 계놈의 나머지는 bPIV3으로부터 유래되었다. 상기 기재된 플라스미드 1-5 bPIV3/RSV F2를 PCR용 DNA 주형으로 사용하였다. 이 플라스미드는 뉴클레오티드 (nt) 1-5200으로부터의 bPIV3 서열 및 nt 1774에 삽입된 RSV F 유전자를 함유하였다. RSV A2 계놈의 (F 유전자 중) nt 5946에서 어닐링하는 올리고 및 올리고 5'CGTGGTCGACCATTTGAAGAACATGATTAGGTGCTATTTTATTTAATTTGTGGTGGATTACCGGC3'를 사용하여 150 개의 뉴클레오티드를 결실시키면서 RSV F의 막형단 및 세포질 도메인을 제거하였다. 생성된 PCR 단편을 HpaI 및 SalI으로 분해시키고, HpaI 및 SalI으로 처리한 1-5 bPIV3/RSV F2에 도입하여 플라스미드 1-5

bPIV3/sol RSV F2를 생성하였다. 제2 위치에 sol RSV F 유전자를 보유하는 bPIV3 서브클론을 SphI 및 NheI로 절단하여 6.3 kb의 DNA 단편을 단리하였다. 나머지 소/인간 PIV3 게놈을 크기가 14 kb인 NheI-SphI DNA 단편으로 라이게이션시켜 전장 b/h PIV3/sol RSV F2 cDNA 플라스미드를 생성하였다. 재조합 바이러스를 역유전학에 의해 회수하였다. 고 역가의 바이러스 원액을 생성하고, RSV 염소 폴리클로날 항혈청을 사용하여 면역과산화효소로 염색한 Vero 세포 상에서 플라크 분석법으로 정량분석하였다. 상기 바이러스 원액을 -70℃에 보관하였다.

17. 실시예 12: 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 매개된 인간 메타뉴모바이러스 F로 감염된 세포에서의 인간 메타뉴모바이러스 F의 발현

b/h 104 hMPV F 바이러스 원액을 연속적으로 10배 희석하여 서브융합된(subconfluent) Vero 세포를 감염시키는데 사용하였다. 젠타마이신을 함유하는 옵티멤(optiMEM) 배지와 함께 감염된 세포를 도포하고 35℃에서 5일 동안 인큐베이션하였다. 세포를 100% 메탄올로 고정시키고, 항-hMPV001 기니아 피그 혈청의 1:1000 희석액에 이어 항-기니아 피그 HRP 접합된 항체의 1:1000 희석액으로 면역염색하였다. hMPV F의 발현을 AEC 기질 시스템(다코 코포레이션(DAKO corporation))의 존재하에서 특정 색의 발색에 의해 가시화하였다. (도 15A 참조).

b/h NP-P hMPV F 바이러스 원액을 연속적으로 10배 희석하여 서브융합된 Vero 세포를 감염시키는데 사용하였다. 페니실린/스트렙토마이신, L-글루타민 및 소 태아 혈청을 함유하는 1 x L15/MEM 배지를 보충한 EMEM/L-15 배지(JRH 바이오사이언시스(JRP Biosciences); 캔자스주 레백스 소재) 중 1% 메틸 셀룰로스 함께 감염된 세포를 도포하였다. 감염된 세포를 35℃에서 5일 동안 인큐베이션하고, 100% 메탄올로 고정시키고, 항-hMPV001 기니아 피그 혈청의 1:1000 희석액에 이어 항-기니아 피그 HRP 접합된 항체의 1:1000 희석액으로 면역염색하였다. (도 15B 참조). 항-hMPV001 기니아 피그 혈청은 hMPV001 단백질에 대해 특이적이며 b/h PIV3 단백질과 결합하지 않았다.

18. 실시예 13: 헬라 세포 및 Vero 세포에서의 키메라 소 파라인플루엔자형 3/인간 파라인플루엔자형 3 바이러스의 생성

키메라 b/h PIV3 바이러스의 생성은 bPIV3 생성 절차와 유사한 절차를 이용하여 수행하였다. 리포펙TACE(LipofectACE) (기브코(Gibco)/BRL)를 사용하여 역유전학에 의한 b/h PIV3 키메라 바이러스의 생성을 헬라 세포에서 수행하였다. 80% 전면 성장한 헬라 세포, Hep-2 세포 또는 Vero 세포를 4 MOI의 MVA로 감염시켰다. 감염 후 1시간째에 전장 항-게놈 b/h PIV3 cDNA (4 µg)를 NP (0.4 µg), P (0.4 µg), 및 L/pCITE (0.2 µg) 발현 플라스미드와 함께 감염된 헬라 또는 Vero 세포로 형질감염시켰다. 형질감염 후 40시간째에, 세포 및 세포 상청액을 수거하고 (P0), 1회 동결-해동 순환시켰다. 이어서, 생성된 세포 용해물을 사용하여 백신 바이러스의 복제 억제제인 1-베타-D-아라비노푸라노실사이토신 (ara C)의 존재하에 신선한 Vero 세포 단일층을 감염시킴으로써 P1 바이러스 원액을 생성하였다. 이들 플레이트로부터의 상청액 및 세포를 수거하고, 1회 동결-해동하여, PIV3-특이적 항혈청을 사용하는 바이러스 플라크의 면역염색법으로 bPIV3 바이러스 입자의 존재를 분석하였다. P1 수거물의 세포 용해물은 Vero 세포 단일층이 완전한 CPE를 생성하였으며 면역염색은 다량의 바이러스 감염의 존재를 나타내었다.

19. 실시예 14: 소 파라인플루엔자형 3/인간 파라인플루엔자형 3 매개된 인간 메타뉴모바이러스 F 바이러스의 생성

1번 위치 (b/h 104 hMPV F) 또는 2번 위치 (b/h NP-P hMPV F)에서 hMPV F를 발현시키는 b/h PIV3 바이러스를 하기와 같이 수득하였다. 6개의 웰 디쉬에서 80 내지 90% 전면 성장한 HEp-2 또는 Vero 세포를 0.1 내지 0.3 MOI의 Fowlpox-T7로 감염시켰다. Fowlpox-T7로 감염시킨 후에, 세포를 PBS로 1회 세척하고, 하기 양의 플라스미드 DNA로 형질감염시켰다: 전장의 b/h 104 hMPV F 또는 b/h NP-P hMPV F cDNA 2.0 µg, pCite N 0.4 µg, pCite P 0.4 µg, pCite L 0.2 µg. (pCite 플라스미드는 뇌심근염 바이러스 (EMCV)로부터 유래된 IRES 요소에 연결된 T7 프로모터를 가짐). 형질감염을 제작자의 지시서에 따라 리포펙타민(Lipofectamine) 2000 (인비트로젠)의 존재하에 수행하였다. 형질감염 반응물을 33℃에서 5 내지 12시간 동안 인큐베이션한 후에 리포펙타민 2000을 함유하는 배지를 젠타마이신을 함유하는 신선한 옵티멤 2 ml로 교체하였다. 형질감염시킨 세포를 33℃에서 2일 동안 추가로 인큐베이션하였다. 세포를 SPG로 안정화시키고, -80℃에서 1회 동결-해동 순환시켜 용해하였다. 조 세포 용해물을 사용하여 새로운 Vero 단일층을 감염시켜 생성된 바이러스를 증폭시켰다. 키메라 바이러스를 Vero 세포에서 희석 농도를 제한함으로써 정제하고, 10⁶ 내지 10⁸ PFU/ml의 고 역가 바이러스 원액을 생성하였다. hMPV F 단백질의 발현을 폴리클로날 hMPV 기니아 피그 항혈청으로 면역염색법에 의해 확인하였다.

[0473] 20. 실시예 15: 역유전학에 의한 소 파라인플루엔자형 3/인간 파라인플루엔자형 3 매개된 호흡기 합포체 바이러스 유전자의 생성

[0474] 감염 바이러스를 상기 기재된 형질감염 방법을 이용하여 HeLa 또는 HEp-2 세포에서 역유전학으로 회수하였다 (실시예 13 참조). 요컨대, 6개 웰 조직 배양 디쉬에서 80 내지 90% 전면 성장한 HEp-2 또는 Vero 세포를 각각 0.1 내지 0.3 또는 1 내지 5 MOI의 FP-T7 또는 MVA-T7로 감염시켰다. FP-T7 또는 MVA-T7로 감염시킨 후에, 세포를 PBS로 1회 세척하고, 하기 양의 플라스미드 DNA로 형질감염시켰다 (전장 b/h PIV3 RSV F 또는 G cDNA 2.0 μ g, pCITE/N 0.4 μ g, pCITE/P 0.4 μ g, pCITE/L 0.2 μ g). 형질감염을 제조업자의 지시에 따라 리포펙타민 2000 (인비트로젠)의 존재하에 수행하였다. 형질감염 반응물을 33°C에서 5 내지 12시간 동안 인큐베이션한 후에 리포펙타민 2000을 함유하는 배지를 젠타마이신을 함유하는 신선한 옵티맥 2 ml로 교체하였다. 형질감염시킨 세포를 33°C에서 2일 동안 추가로 인큐베이션하였다. 세포를 SPG로 안정화시키고, -80°C에서 1회 동결-해동 순환시켜 용해하였다. 조 세포 용해물을 사용하여 새로운 Vero 세포 단일층을 감염시켜 생성된 바이러스를 증폭시켰다. 키메라 바이러스를 Vero 세포에서 희석 농도를 제한함으로써 정제하고, 10^6 내지 10^8 PFU/ml의 고 역가 바이러스 원액을 생성하였다. 키메라 바이러스의 RSV 유전자를 RT-PCR로 단리하여 서열을 확인하였다. 감염시킨 Vero 세포 단일층을 RSV 염소 폴리클로날 항혈청 (바이오제네시스(Biogenesis))으로 면역염색함으로써 RSV 단백질의 발현을 확인하였다.

[0475] 21. 실시예 16: RT-PCR에 의한 키메라 소 파라인플루엔자형 3/인간 파라인플루엔자형 3 바이러스 생성의 확인

[0476] 생성된 바이러스가 자연에서 키메라 상태임, 즉 바이러스가 bPIV3 주쇄에 hPIV3 F 및 HN 유전자 서열을 함유함을 확인하기 위해, 바이러스 RNA 게놈을 RT-PCR에 의해 추가로 분석하였다. b/h PIV3의 독립적으로 유래된 단리물 3 가지의 P1 바이러스 원액으로 감염시킨 Vero 세포를 수거하고, 전체 RNA를 단리하였다. bPIV3의 위치 4757에서 어닐링된 올리고를 사용하여 바이러스 RNA를 증폭시켰다. nt 5255 내지 6255의 바이러스 영역을 PCR에 의해 증폭시켰다. 생성된 1 kb PCR 단편은 hPIV3 서열을 함유해야 한다. 이를 hPIV3에 특이적인 효소 (SacI 및 Bgl II) (이는 bPIV3의 상보적인 영역을 절단하지 않음)로 분해시켜 확인하였다 (도 2 참조). 예상한 바와 같이, PCR 단편을 SacI 및 Bgl II를 사용하여 더 작은 단편으로 절단함으로써 단리된 서열이 hPIV3으로부터 유래되었음이 확인되었다 (라인 3, 5, 7 참조). 또한, nt 9075 내지 nt 10469의 폴리머라제 L 유전자 영역을 PCR에 의해 증폭시켰다 (도 3). 이 영역은 bPIV3 서열을 함유해야 한다. 다시, hPIV3의 대응 영역을 절단하지 않는 bPIV3에 특이적인 효소 (PvuII 및 BamHI)를 사용하여 생성된 1.4 kb의 PCR 단편을 분해시켰다. 상기 1.4 kb 단편을 PvuII 및 BamHI 둘다로 분해시킴으로써 폴리머라제 유전자가 bPIV3에서 유래되었음을 확인하였다 (도 3의 라인 3, 4, 6, 7, 9 및 10 참조). 요컨대, RT-PCR 분석은 생성된 b/h PIV3 바이러스가 자연에서 키메라 형태임을 나타내었다. 이는 bPIV3 유전자 주쇄에 hPIV3 F 및 HN 유전자를 함유한다.

[0477] 22. 실시예 17: 소 파라인플루엔자형 3/인간 파라인플루엔자형 3 매개된 호흡기 합포체 바이러스 및 인간 메타뉴모바이러스 유전자의 유전자 안정성

[0478] b/h PIV3/RSV 및 b/h PIV3/hMPV 키메라 바이러스가 유전학적으로 안정하며 도입된 RSV 또는 hMPV 유전자 카세트를 보유함을 입증하기 위해, 감염된 세포 용해물을 Vero 세포에서 연속적으로 10회 단순 계대 배양하였다. T25 플라스크 내의 서브-융합된 Vero 세포를 0.1 MOI의 b/h PIV3/RSV 또는 b/h PIV3/hMPV로 감염시키고, CPE가 가시화될 때까지 33°C에서 4일 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 기간 말미에 감염된 세포 및 배지를 수거하고, 2회 동결 및 해동시켜 생성된 세포 용해물을 사용하여 새로운 T25 플라스크 내의 Vero 세포를 감염시켰다. 상기 순환을 10회 반복하였다. 모든 세포 용해물 P1 내지 P10을 플라크 분석 및 면역염색에 의해 RSV 또는 hMPV 단백질의 발현 및 바이러스 역가에 대하여 분석하였다. 10번째 세대에서, RSV F, RSV G, 또는 hMPV F 유전자 카세트를 P10 용해물로부터 RT-PCR에 의해 단리하고, DNA 서열 분석으로 입증하였다 (가능한 뉴클레오타이드 변형을 확인함). 모든 단리물은 RSV 또는 hMPV 유전자 카세트를 보유하였으며, 10회 계대 배양하는 동안 RSV 또는 hMPV 단백질 발현을 분석하였다. PIV3 게놈, 1 또는 2번 위치의 유전자 삽입 위치에 따라 RSV 또는 hMPV 유전자를 발현시키는 PIV3의 증가된 삽입체 안정성이 관찰되지 않았다.

[0479] 23. 실시예 18: 수크로스 구배 상에서의 소 파라인플루엔자형 3/인간 파라인플루엔자형 3 매개된 호흡기 합포체 바이러스 유전자의 바이러스 분획화

[0480] RSV 단백질이 b/h PIV3 비리온에 혼입되었는지의 여부를 생화학적 분석법을 이용하여 추가로 조사하였다. Vero

세포를 0.1 MOI의 각 키메라 b/h PIV3/RSV 바이러스로 접종하였다. 피크 CPE가 가시화되었을 때, 감염된 단일층을 동결 해동시키고, 2000 rpm에서 10분 동안 회전시켰다. 투명한 상층액을 20% 수크로스 쿠션(sucrose cushion)을 통해 100,000 x g에서 90분 동안 회전시켰다. 이어서, 펠렛을 PBS 중에 재현탁시키고, 20 내지 66 % 수크로스 구배의 상단부에서 부드럽게 층이 형성되었다. 구배를 100,000 x g에서 20시간 동안 회전하여 평형을 이루었다. 구배의 상단부로부터 출발하여 18개의 2 ml 분획물을 수거하였다. 바이러스 역가 측정을 위해 각 분획물의 0.4 ml를 분리하였다. 각 분획물을 20% PBS의 2 부피 중에 재현탁시키고, 100,000 x g에서 1시간 동안 회전시킴으로써 농축하였다. 이어서, 펠렛을 램블리(Laemmli) 완충액 (바이오라드(Biorad)) 0.05 ml 중에 재현탁시키고, RSV F MAb (NuMax L1FR-S28R), RSV (바이오제네시스) 및 bPIV3 (VMRD) 폴리클로날 항혈청을 사용하여 RSV 및 PIV3 단백질에 대해 웨스턴 블롯으로 분석하였다. 균질하게 정제한 바콜로바이러스에서 발현되는 C-말단 절단된 RSV F 단백질로 수크로스 구배 상에서 분석하였다.

[0481] 분획물을 또한 플라크 분석으로 피크 바이러스 역가에 대해 분석하였다. 유리 RSV F (바콜로바이러스에서 C-말단 절단되어 생성됨), RSV A2 및 b/h PIV3의 대조군 구배를 초기에 수행하였다. 대부분의 유리 RSV F는 구배의 상단부의 분획 3, 4, 5 및 6에 존재하였다 (도 16A). RSV 비리온의 최고 농도는 분획 10, 11 및 12 (도 16B)에서 관찰되었다. RSV 분획물을 RSV 폴리클로날 항혈청 뿐만 아니라 RSV F MAb으로 프로빙하였다. RSV 비리온의 피크량을 함유하는 분획물은 또한 RSV F에 대해 가장 강한 신호를 나타냈으며, 이는 RSV F 단백질이 RSV 비리온과 함께 이동하며 이와 결합되어 있음을 시사한다 (도 16B). 이들 분획물은 또한 가장 높은 바이러스 역가를 나타내었다 (도 16B). b/h PIV3 비리온은 보다 다형성일 수 있으며, 따라서 b/h PIV3 비리온을 함유하는 피크 분획의 분포는 보다 넓었다. b/h PIV3 비리온은 분획 9, 10, 11, 12 및 13에 존재하였다 (도 16C). 다시, 가장 많은 양의 비리온을 보유하는 분획물은 플라크 분석법에 의해 가장 높은 바이러스 역가를 나타내었다 (도 16C). b/h PIV3/RSV F2의 수크로스 구배 분획물을 PIV3 폴리클로날 항혈청 및 RSV F MAb 둘다로 분석하였다 (도 16D). PIV3 항혈청을 사용한 웨스턴에 의해 나타난 바와 같이 대부분의 비리온을 함유하는 분획은 분획 11, 12, 13 및 14였다. 이에 상응하여, 이들은 또한 RSV F 단백질의 가장 많은 양을 나타낸 분획이었다. 그러나, 특정 유리 RSV F는 또한 분획 5 및 6에 존재하였다. 분획 1, 12, 13 및 14는 피크 바이러스 역가를 나타내었다 (도 16D). 이와 유사하게, 가장 많은 양의 b/h PIV3/RSV G2 비리온을 함유하는 분획(분획 9, 10, 11 및 12)은 또한 RSV G 단백질에 대해 가장 강한 신호를 나타내었다 (도 16E). 다시, 이들은 가장 높은 바이러스 역가 (도 16E)를 갖는 분획이었다. 통합적으로, 이들 데이터는 대부분의 RSV F 및 G 단백질이 b/h PIV3 비리온과 함께 이동하며 결합되어 있음을 시사한다. 그러나, 특정 유리 RSV 단백질 또한 구배의 상단 분획에 존재하였다.

[0482] 24. 실시예 19: 키메라 소 파라인플루엔자형 3/인간 파라인플루엔자형 3 매개된 호흡기 합포체 바이러스 (RSV)는 RSV 항혈청으로 중화되지 않을 수 있다.

[0483] b/h PIV3 비리온으로 혼입된 RSV 표면 당단백질은 바이러스 항성 표현형을 변형시키는지 아닌지에 따른 중요한 안정성 문제를 논의하기 위해, 중화 분석법을 수행하였다 (표 6 및 7). Vero 세포를 사용하여 b/h PIV3, b/h PIV3/RSV 키메라 바이러스 또는 RSV에 대해 중화 분석법을 수행하였다. RSV 폴리클로날 항혈청 (바이오제네시스; 잉글랜드 폴 소재), 주디 빌러 박사(Dr. Judy Beeler) 및 WHO 시약 बैं크 (문헌 [Beeler and Coelingh, J. Virol. (1989) 63 (7): 2941-50])로부터 입수한 RSV F MAb (1200 MAb), 및 hPIV3 F (C191/9) 및 HN (68/2) MAbs (문헌 [van Wyke Coelingh and Tierny, J Virol. 1989 63 (9): 3755-60]; [van Wyke Coelingh et al., 1985])의 연속 2배 희석액을 옵티맵 0.5 ml 중 대략 100 PFU의 b/h PIV3, b/h PIV3/RSV 키메라 바이러스 또는 RSV와 함께 실온에서 60분 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후에, 바이러스-혈청 혼합물을 Vero 세포 단일층으로 옮기고, 35°C에서 1시간 동안 인큐베이션하고, EMEM/L-15 배지 (JRH 바이오사이언시스; 미국 켄자스 주 레넥사 소재) 중 1% 메틸 셀룰로스로 도포하고, 35°C에서 인큐베이션하였다. 접종 후 6일째, 감염시킨 세포 단일층을 면역염색하였다. 바이러스 플라크 50%를 억제하는 가장 높은 혈청 희석 농도의 역수로서 중화 역가를 표현하였다. RSV F MAbs (WHO 1200 MAb)는 1:2000 희석 농도에서 야생형 RSV A2의 50%를 중화하였다 (표 6). 이와 대조적으로, 심지어 1:25의 희석 농도에서조차 키메라 b/h PIV3/RSV를 전혀 중화하지 못했다. 이와 유사하게, 폴리클로날 RSV 항혈청 (바이오제네시스)의 1:400 희석액은 RSV A2의 50%를 중화하였으나, 심지어 1:15.6 희석액은 b/hPIV3 RSV를 중화하지 못했다 (표 6).

표 6

[0484] b/h PIV3 RSV 키메라 바이러스는 RSV 항체에 의해 중화되지 않는다.

중화 분석법에 사용된 바이러스	1/50% 중화 항체 희석률	
	RSV F MAb	RSV Ab
RSV	2000	400.0
b/h PIV3	<25	<15.6
b/h RSV F1*N-N	<25	<15.6
b/h RSV F2	<25	<15.6
b/h RSV G1	ND	<15.6
b/h RSV G2	ND	<15.6

[0485] hPIV3 F MAb C191/9는 1:500 희석률에서 b/h PIV3/RSV 뿐만 아니라 b/h PIV3 50%를 중화하였다. hPIV3 HN MAb 68/2는 1:16,000 희석률에서 b/h PIV3를 중화하고, 1:32,000 희석률에서 b/h PIV3/RSV를 중화하였다 (표 7)

표 7

[0486] b/h PIV3 RSV 키메라 바이러스는 hPIV3 Mab에 의해 중화되지 않는다.

중화 분석법에 사용된 바이러스	1/50% 중화 항체 희석률	
	hPIV3 Mab	hPIV3 HN Mab
RSV	62.5	<500
b/h PIV3	500	16000
b/h RSV F1*N-N	500	32000
b/h RSV F2	500	32000
b/h RSV G1	ND ^d	32000
b/h RSV G2	ND	32000
^d 측정하지 않음		

[0487] 이들 분석을 기니아 피그 상보체의 존재하라는 점을 제외하고는 동일한 조건을 이용하여 수행하였으며, b/h PIV3/RSV의 중화는 여전히 관찰되지 않았다. RSV 폴리클로날 및 RSV F 모노클로날 항체를 사용하여 수득한 결과는 b/h PIV3에 의해 발현되는 RSV F 단백질은 비리온 외피로 혼입되지 않았음을 시사하였다. 사용된 분석법이 비리온 표면 상에서 소량의 RSV F 단백질을 검출하는데 충분히 민감할 수 없었다. 그러나, 낮은 수준의 RSV F가 b/h PIV3/RSV F2 비리온 표면 상에 존재하면, RSV F 단백질은 PIV3 F 단백질을 기능적으로 대체할 수 없었다. 이 문제를 추가로 연구하기 위해, 비리온 막으로 삽입될 수 없는 RSV F 단백질을 제공하는 막형단 및 세포질 도메인이 결합된 RSV F 단백질의 가용성 형태를 발현시키는 b/h PIV3를 생성하였다 (도 14). RSV F 단백질의 C 말단에서 50개의 아미노산을 결실시킴으로써 막형단 및 세포질 도메인을 제거하였다. so1 RSV F 유전자 카세트의 bPIV3 유전자 말단 및 유전자 출발 서열은 전장 RSV F 유전자 카세트의 그것과 동일하게 남아있었다 (도 14). 두가지의 키메라 b/h PIV3는 천연 및 가용성 RSV F 단백질을 충분히 발현하며 조직 배양에서 10^7 내지 10^8 PFU/ml의 고 역가로 복제되었다. 이들 데이터는 추가로 RSV 단백질이 기능적이지 않음, 즉 RSV F 단백질이 hPIV3 F 항체에 의해 차단되는 hPIV3 F 단백질을 기능적으로 대체할 수 없음을 나타내었다. 따라서, RSV 및 hMPV로부터 유래된 외래 항원을 발현시키는 b/h PIV3의 바이러스 항성의 변화는 없었다.

[0488] 25. 실시예 20: 생체내 투여의 경우에서 키메라 소 PIV는 독성약화 표현형을 입증하며 강한 보호 반응을 유도한다.

[0489] 5주령 시리아 골든 햄스터를 5×10^5 pfu의 야생형 bPIV3, 재조합 bPIV3, hPIV3, 인간/소 PIV3, 및 플라시보로 감염시켰다. 5개의 상이한 동물 그룹을 미세격리 케이지에서 별도로 사육하였다. 감염 후 4일째에, 동물을 희

생시켰다. 동물의 비갑개 및 폐를 균질화하여 -80°C 에 보관하였다. 조직에 존재하는 바이러스를 37°C 에서 MDBK 세포에서 TCID₅₀ 분석법에 의해 측정하였다. 기니아 피그 적혈구를 사용하는 혈구 흡착에 의해 바이러스 감염을 확인하였다. 표 8은 햄스터의 폐 및 비갑개에서의 상이한 PIV3 균주의 복제 역가를 나타내었다. 재조합 bPIV3 및 b/h PIV3 키메라 바이러스는 햄스터의 폐에서 약화시켰음을 주목하였다.

표 8

[0490] 시리아 골든 햄스터의 비갑개 및 폐에서의 PIV3 바이러스의 복제

햄스터의 상부 및 하부 기도에서의 bPIV3, r-bPIV3, r-bPIV3(1), hPIV3 및 소/인간 PIV3(1)의 복제		
	감염 후 4일째의 평균 바이러스 역가 ($\log_{10}\text{TCID}_{50}/\text{g} = \text{S.E.}$) ^b	
바이러스 ^a	비갑개	폐
bPIV3	5.3 ± 0.3	5.3 ± 0.2
r-bPIV3	5.0 ± 0.3	3.5 ± 0.2
r-bPIV3(1)	5.5 ± 0.2	5.4 ± 0.2
hPIV3	4.9 ± 0.2	5.4 ± 0.2
소/인간 PIV3(1)	4.9 ± 0.2	4.5 ± 0.2
^a 4가지의 햄스터 군에 5×10^5 PFU의 지시된 바이러스를 비내 접종하였음		
^b 표준 오차		

[0491] 더욱이, 감염 전 및 감염 후 21일째에 햄스터로부터 수집된 혈청 샘플을 적혈구응집 억제 분석법으로 분석하였다. 효소를 파괴하는 수용체 (RDE, 덴카 세이켄 코포레이션(DENKA Seiken Co.))로 혈청 샘플을 처리하고, 기니아 피그 적혈구 세포와 함께 1시간 동안 빙상에서 인큐베이션함으로써 비-특이적인 응집소를 제거하였다. 야생형 bPIV3 및 hPIV3을 2배 연속 희석시킨 햄스터 혈청 샘플에 첨가하였다. 최종적으로, 기니아 피그 적혈구 세포 (0.5%)를 첨가하고, 적혈구응집이 실온에서 일어나도록 허용하였다. 표 9는 상이한 PIV3 균주로 감염시키자 햄스터에서 항체 반응이 발생하였음을 나타내었다. b/h PIV3 키메라 바이러스는 재조합 또는 야생형 bPIV3에 의해 생성되는 반응을 훨씬 초과하는, hPIV3에 대해 야생형 hPIV3만큼 강한 항체 반응이 생성됨을 주목하였다.

표 9

[0492]

상이한 PIV3 바이러스로 감염된 햄스터로부터의 혈청을 사용한 적혈구응집 억제 분석법		
햄스터의 접종에 사용된 바이러스	wt bPIV3 및 hPIV3에 대한 햄스터 혈청 역가	
재조합 bPIV3	1:16	1:16
Wt bPIV3	1:16	1:8
Wt hPIV3	1:4	1:128
b/h PIV3 키메라 바이러스	1:8	1:128
플라시보	<1:4	<1.4

[0493] 상기 결과는 백신 제형에 사용하기 적합한 상기 재조합을 이루는 본 발명의 b/h PIV3 키메라 바이러스의 특성을 나타낸다. b/h PIV3 키메라 바이러스는 생체내에 투여되는 경우에 약화된 표현형을 나타낼 뿐만 아니라, 야생형 hPIV3과 같은 강한 항체 반응을 생성해낸다. 따라서, 본 발명의 키메라 바이러스가 약화된 표현형을 가지며 야생형 hPIV3과 같은 강한 면역 반응을 유도하는 독특한 조합을 갖기 때문에, 상기 키메라 바이러스는 인간에서 PIV로의 감염을 억제하고(하거나) 보호하는데 성공적으로 사용하기 위해 필요한 특성을 갖는다.

[0494] 26. 실시예 21: 햄스터의 상부 및 하부 기도에서의 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 매개된 호흡기 합포체 바이러스 G 또는 F 단백질의 복제

[0495] 5주령 시리아 골든 햄스터 (군 당 6마리의 동물)에게 100 μ l 부피의 1×10^6 PFU 또는 1×10^4 PFU의 b/h PIV3, b/h PIV3/RSV, RSV A2 또는 플라시보 매질로 비내 감염시켰다. 상이한 군을 미세-격리 케이지에서 별도로 사육하였다. 감염시킨 후 4일째에, 동물의 비갑개 및 폐를 수거하고, 균질화하고, -70℃에서 보관하였다. 조직에 존재하는 바이러스의 역가를 Vero 세포에서 TCID₅₀ 분석법에 의해 측정하였다. 접종 분석법인 경우에, 28일째에 동물에게 1×10^6 pfu/ml의 hPIV3 또는 RSV A2를 비내 접종하였다. 접종한 후 4일째에, 동물의 비갑개 및 폐를 단리하고 정량화를 위해 면역염색한 Vero 세포 상에서의 플라크 분석법으로 접종 바이러스 복제에 대해 분석하였다. 표 10은 햄스터의 폐 및 비갑개에서 상이한 군주의 복제 역가를 나타낸다.

표 10

[0496]

햄스터의 상부 및 하부 기도에서 RSV G 또는 F 단백질을 발현시키는 소/인간 PIV3의 복제		
	감염시킨 후 4일째 평균 바이러스 역가 ($\log_{10}$ TCID ₅₀ /g 조직 = S.E.) ^b	
바이러스 ^a	비갑개	폐
b/h PIV3	4.8±0.4	4.4±0.3
RSV A2	3.4±0.5	3.3±0.5
b/h RSV G1	4.2±0.7	2.9±0.7
b/h RSV F1	3.9±0.4	2.7±0.2
b/h RSV F1 N-P	4.6±0.4	3.5±0.2
b/h RSV G2	4.2±0.9	4.3±0.2
b/h RSV F2	4.6±0.6	4.4±0.5
^a 4마리의 햄스터 군에게 5×10^6 PFU의 지시된 바이러스를 비내 접종함.		
^b 표준 오차		

[0497]

시리아 골든 햄스터는 재조합 bPIV3 및 hPIV3 유전자 조작된 바이러스의 복제 및 면역원성을 평가하기에 적합한 소동물 모델을 대표한다. 외래 항원은 비리온으로 혼입되지 않기 때문에 RSV 항원의 도입이 키메라 b/h PIV3의 햄스터에서의 감염 및 복제 능력을 변화시키지 않을 것으로 기대된다 (표 6 및 표 7). 동물을 비내 면역화시키는 경우에, 결과는 키메라 b/h PIV3/RSV 모두가 햄스터의 비갑개에서 4.2 내지 4.6 $\log_{10}$ TCID₅₀/g 조직으로 복제되었음을 나타내었다 (표 10). 상기 복제 수준은 4.8 $\log_{10}$ TCID₅₀/g 조직을 나타내는 b/h PIV3에 대해 관찰된 수준과 유사하였다 (표 10). 시리아 골든 햄스터는 RSV로의 감염에 대해 오직 반-복제 허용적이었다. 햄스터의 상부 기도에서 관찰된 RSV의 역가는 b/h PIV3의 역가에 비해 1.4 $\log_{10}$ TCID₅₀/g 조직만큼 감소하였다 (표 10). 1번 위치에서 RSV 유전자를 보유하는 b/h PIV3/RSV는 b/h PIV3에 비해 햄스터의 폐에서 0.9 내지 1.5 $\log_{10}$ 감소된 역가를 나타내었다 (표 10). 이와 반대로, 2번 위치에 유전자가 삽입된 b/h PIV3/RSV는 햄스터의 하부 기도에서 b/h PIV3에 대해 관찰된 역가의 0.1 $\log_{10}$ 이내로 복제되었다 (표 10). 1 또는 2번 위치에서 외래 유전자를 보유하는 키메라 PIV3은 b/h PIV3과 같은 수준으로 햄스터의 하부 및 상부 기도에서 효율적으로 복제되는 능력을 유지하였다. 1 또는 2번 위치에서 b/h PIV3 게놈으로 추가의 유전자를 도입시켜도 생체내 바이러스 복제에 대해 바이러스를 상당히 약화시키지는 않았다.

[0498]

27. 실시예 22: 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 매개된 호흡기 합포체 바이러스 면역화된 햄스터를 인간 파라인플루엔자 3 및 호흡기 합포체 바이러스 A2의 접종으로부터 보호하였다.

[0499]

b/h PIV3/RSV에 대해 관찰된 복제 수준이 햄스터에서 보호 면역 반응을 유도하기에 충분한지를 평가하기 위해서, 예방 접종한 후 28일째에 동물에게 동물 당 10^6 PFU의 RSV 또는 hPIV3을 비내 접종하였다. b/h PIV3/RSV로 면역화된 동물은 hPIV3 및 RSV로부터 완전히 보호되었다 (표 11). RSV 접종 바이러스는 매우 낮은 수준으로 검출되었으며, hPIV3 접종 바이러스는 햄스터의 상부 및 하부 기도에서 전혀 관찰되지 않았다. 오직 플라시보 매질을 투여한 동물만이 상부 및 하부 기도에서 4.4 및 4.1 $\log_{10}$ TCID₅₀/g 조직의 hPIV3, 및 3.6 및 3.1 $\log_{10}$ pfu/g 조직의 RSV를 나타내었다 (표 11). 또한 이 연구는 RSV로 면역화된 동물이 hPIV3으로의 접종으로부터 보호되지 않는다는 것을 보여준다. 유사하게, hPIV3로 예방접종된 동물은 높은 역가의 RSV 접종 바이러스를 나타내었다 (표 11).

표 11

[0500]

b/h PIV3/RSV 면역화된 햄스터를 hPIV3 및 RSV A2로의 접종으로부터 보호하였다		
접종 바이러스:	hPIV3	RSV A2
	접종한 후 4일째 평균 바이러스 역가 ($\log_{10}$ TCID ₅₀ /g 조직 $\pm$ S.E.) ^{b,c}	접종한 후 4일째 평균 바이러스 역가 ($\log_{10}$ pfu/g 조직 $\pm$ S.E.) ^b
면역화 바이러스 ^a	비갑개 폐	비갑개 폐
b/h PIV3	<1.2 $\pm$ 0.0 <1.0 $\pm$ 0.1	ND ND
b/h RSV G1	<1.2 $\pm$ 0.1 <1.1 $\pm$ 0.1	<1.0 $\pm$ 0.3 <0.7 $\pm$ 0.1
b/h RSV F1	<1.2 $\pm$ 0.2 <1.0 $\pm$ 0.0	<1.1 $\pm$ 0.5 <0.6 $\pm$ 0.0
b/h RSV F1 NP-P	<1.0 $\pm$ 0.0 <1.0 $\pm$ 0.0	<0.8 $\pm$ 0.1 <0.5 $\pm$ 0.0
b/h RSV G2	<1.2 $\pm$ 0.2 <1.1 $\pm$ 0.2	<0.8 $\pm$ 0.1 <0.8 $\pm$ 0.3
b/h RSV F2	<1.2 $\pm$ 0.1 <1.0 $\pm$ 0.1	<1.3 $\pm$ 0.6 <1.6 $\pm$ 1.0
RSV A2	4.5 $\pm$ 0.6 4.8 $\pm$ 0.6	<0.6 $\pm$ 0.2 <0.6 $\pm$ 0.1
플라시보	4.4 $\pm$ 0.1 4.1 $\pm$ 0.1	3.6 $\pm$ 0.8 3.1 $\pm$ 0.7
^a 0일째에 6마리의 햄스터의 군을 면역화시키는데 사용된 바이러스. ^b 28일째에, 햄스터에게 10 ⁶ pfu의 hPIV3 또는 RSV A2로 접종함. 접종한 후 4일째에, 동물의 폐 및 비갑개를 수거함. ^c 표준 오차.		

[0501]

28. 실시예 23: 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 매개된 호흡기 합포체 바이러스로 햄스터를 예방접종하여 혈청 HAI 및 중화 항체를 유도한다.

[0502]

접종 투여량을 투여하기 이전에, 혈청 샘플을 b/h PIV3/RSV 면역화된 동물로부터 28일째에 수득하였다. 햄스터 혈청을 50% 플라크 감수 분열 분석법을 사용하여 RSV 중화 항체의 존재에 대해 분석하고 적혈구응집 억제 (HAI) 분석법을 수행함으로써 PIV3 HAI 혈청 항체에 대해 분석하였다 (표 12). 50% 플라크 감수 분열 분석법 (중화 분석법)을 다음과 같이 수행하였다: 햄스터 혈청을 연속적으로 2배 희석시키고 1시간 동안 100 PFU의 RSV A2와 함께 인큐베이션하였다. 이어서 바이러스-혈청 혼합물을 Vero 세포 단일층으로 전달하고 메틸셀룰로오스를 도포하였다. 35℃에서 5일 동안 인큐베이션한 후에, 단일층을 정량화를 위해 RSV 폴리클로날 항혈청을 사용하여 면역염색하였다. 28일째 햄스터 혈청의 연속 2배 희석액을 V-바닥 96-웰 플레이트에서 hPIV3과 함께 25℃에서 30분 동안 인큐베이션함으로써 적혈구응집-억제 (HAI) 분석법을 수행하였다. 이후에, 기니아 피그 적혈구를 각 웰에 첨가하고, 90분 동안 계속해서 추가로 인큐베이션하고, 각 웰에서 적혈구응집의 존재 또는 부재를 기록하였다. 역가는 적혈구응집을 억제하는 최고 혈청 희석액 농도의 평균 log₂의 역수로서 나타내었다.

표 12

[0503]

b/h PIV3/RSV로 햄스터를 예방접종하는 것은 혈청 HAI 및 중화 항체를 유도한다		
바이러스 ^a	RSV ^{b,c} 에 대한 중화 항체 반응 (평균 1/log ₂ ±SE)	hPIV3 ^c 에 대한 HAI 항체 반응 (평균 1/log ₂ ±SE)
RSV	7.9 $\pm$ 1.00	ND
b/h RSV F1 * N-N	7.8 $\pm$ 0.85	6.6 $\pm$ 0.5
b/h RSV F1	5.5 $\pm$ 0.53	5.5 $\pm$ 0.5
b/h RSV G1	3.4 $\pm$ 0.50	6.6 $\pm$ 0.7
b/h RSV F2	6.9 $\pm$ 0.65	6.7 $\pm$ 0.8
b/h RSV G2	3.4 $\pm$ 0.50	5.2 $\pm$ 0.4
b/h PIV3	ND	7.2 $\pm$ 0.5
^a 햄스터를 면역화시키는데 사용된 바이러스 ^b 중화 항체 역가를 50% 플라크 감수 분열 분석법으로 측정함. ^c 햄스터 예비-혈청의 중화 항체 역가는 1.0 미만이고 HAI 항체 역가는 4.0 미만이었다.		

[0504] 상기 결과는 1 또는 2번 계층 위치에서 RSV F 단백질을 발현시키는 바이러스가 각각 5.5 및 6.9 log2의 RSV 중화 항체 역가를 가짐을 나타내었다. 상기 역가는 야생형 RSV로 예방접종된 동물로부터 수득된 혈청에 대해 관찰된 항체 역가보다 약간 낮았다 (표 12). 이와 반대로, RSV G 단백질을 발현시키는 바이러스는 50%까지 감수 분열된 RSV 중화 항체 역가를 나타내었다 (표 12). 모든 키메라 b/h PIV3/RSV 햄스터 혈청은 b/h PIV3에 대해 관찰된 수준에 비해 0.5 내지 2.0 log2만큼 감소된 HAI 혈청 항체의 수준을 나타내었다 (표 12). 상기 결과는 키메라 b/h PIV3/RSV가 햄스터에서 효율적으로 감염 및 복제되고, hPIV3 및 RSV에 대한 보호 면역 반응을 유도할 수 있음을 나타내었다.

[0505] 29. 실시예 24: 낮은 투여량의 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 매개된 호흡기 합포체 바이러스의 예방접종은 호흡기 합포체 바이러스 A2로의 접종으로부터 햄스터를 보호하고 혈청 HAI 및 중화 항체를 유도한다.

[0506] 가장 우수한 백신 후보를 확인하기 위해서, 상이한 구조물 (실시예 2 참조)를 갖는 낮은 투여량 바이러스를 햄스터를 면역화시키는데 사용하였다. 접종 실험의 결과를 표 13에 요약하였다.

표 13

b/h PIV3/RSV-낮은 투여량 면역화된 햄스터를 RSV A2로의 접종으로부터 보호하였다		
	복제	RSV A2로의 접종
	예방접종한 후 4일째 평균 바이러스 역가 ($\log_{10}$ TCID ₅₀ /g 조직 $\pm$ S.E.) ^{b,c}	접종한 후 4일째 평균 바이러스 역가 ($\log_{10}$ pfu/g 조직 $\pm$ S.E.) ^b
면역 바이러스 ^a	비감개 폐	비감개 폐
b/h PIV3	4.9 $\pm$ 0.5 4.8 $\pm$ 1.0	ND ND
b/h RSV G1	3.0 $\pm$ 0.8 3.1 $\pm$ 0.5	<0.9 $\pm$ 0.5 <0.7 $\pm$ 0.4
b/h RSV F1 * N-N	3.4 $\pm$ 0.1 3.5 $\pm$ 0.1	<1.4 $\pm$ 0.7 <0.5 $\pm$ 0.0
b/h RSV G2	4.1 $\pm$ 0.6 3.8 $\pm$ 0.4	<0.8 $\pm$ 0.0 <0.5 $\pm$ 0.1
b/h RSV F2	5.2 $\pm$ 0.6 3.9 $\pm$ 0.4	<0.7 $\pm$ 0.1 <0.5 $\pm$ 0.1
RSV A2	2.8 $\pm$ 0.3 2.7 $\pm$ 0.6	<0.8 $\pm$ 0.1 <0.5 $\pm$ 0.0
플라시보	ND ^d ND	3.0 $\pm$ 0.8 3.2 $\pm$ 0.9
^a 0일째 10 ⁴ PFU/ml의 낮은 투여량으로 6마리의 햄스터의 군을 면역화시키는데 사용된 바이러스. ^b 28일째에, 햄스터를 10 ⁶ pfu의 RSV A2로 접종함. 접종한 후 4일째에, 동물의 폐 및 비감개를 수거함. ^c 표준 오차. ^d 측정하지 않음.		

[0508]

[0509] 다음에, 중화 항체 역가를 50% 플라크 감수 분열 분석법 (중화 분석법)으로 측정하였다. 중화 분석법을 Vero 세포를 사용하여 b/h PIV3, b/h PIV3/RSV 키메라 바이러스 또는 RSV에 대해 수행하였다. RSV 폴리클로날 항혈청 (영국 폴 소재의 바이오제네시스(Biogenesis)), MedImmune으로부터 수득된 RSV F Mab (WHO 1200 Mab) 또는 hPIV3 F (C191/9) 및 HN (68/2) Mab의 연속 2-배 희석액을 실온에서 60분 동안 옵티맥 0.5 ml 중에서 대략 100 PFU의 b/h PIV3, b/h PIV3/RSV 키메라 바이러스 또는 RSV와 함께 인큐베이션하였다. 인큐베이션한 후에, 바이러스-혈청 혼합물을 Vero 세포 단일층으로 전달하고, 35℃에서 1시간 동안 인큐베이션하고, EMEM/L-15 배지 (미국 캔자스주 레넥사 소재의 JRH 바이오사이언시스(Biosciences)) 중에 1% 메틸셀룰로오스로 도포하고 35℃에서 인큐베이션하였다. 인큐베이션한 후 6일째에, 감염된 세포 단일층을 면역염색하였다. 중화 역가는 50%의 바이러스 플라크를 억제하는 최고 혈청 희석액 농도의 역수로서 표현하였다. 또한 감염시킨 후 28일째에 b/h PIV3, b/h PIV3/RSV 키메라 바이러스, 또는 RSV A2로 면역화시킨 햄스터로부터 수득된 혈청에 대해 중화 분석법을 수행하였다. 햄스터 혈청을 2-배 연속적으로 희석시키고, 1시간 동안 100 PFU의 RSV A2와 함께 인큐베이션하였다. 이어서, 바이러스-혈청 혼합물을 Vero 세포 단일층으로 전달하고 메틸셀룰로오스를 도포하였다. 35℃

에서 5일 동안 인큐베이션한 후에, 정량화를 위해 RSV 폴리클로날 항혈청을 사용하여 단일층을 면역염색하였다. 햄스터 예비-혈청의 중화 항체 역가는 1.0 미만이고 HAI 항체 역가는 4.0 미만이었다.

[0510]

V-바닥 96-웰 플레이트에서 30분 동안 25℃에서 28일째 햄스터 혈청의 연속 2-배 희석액을 hPIV3과 함께 인큐베이션함으로써 적혈구응집-억제 (HAI) 분석법을 수행하였다. 이후에, 기니아 피그 적혈구를 각 웰에 첨가하고, 90분 동안 계속해서 추가로 인큐베이션하고 각 웰에서의 적혈구응집의 존재 또는 부재를 기록하였다. 표 14에 결과를 요약하였다:

표 14

[0511]

더 낮은 투여량의 b/h PIV3/RSV로 햄스터를 예방접종하는 것은 혈청 HAI 및 중화 항체를 유도한다		
바이러스 ^a	RSV ^{b,c} 에 대한 중화 항체 반응 (평균 1/log ₂ ±SE)	hPIV3 ^c 에 대한 HAI 항체 반응 (평균 1/log ₂ ±SE)
RSV	6.5±0.7	ND
b/h RSV F1 * N-N	2.5±0.7	5.7±0.6
b/h RSV G1	2.0±0.0	6.0±0.0
b/h RSV F2	3.8±1.5	6.7±0.6
b/h RSV G2	3.8±1.3	5.5±0.6
b/h PIV3	ND	6.5±0.7
^a 10 ⁴ pfu/ml의 낮은 투여량으로 햄스터를 면역화시키는데 사용된 바이러스.		
^b 중화 항체 역가를 50% 플라크 감수 분열 분석법으로 측정함.		
^c 햄스터 예비-혈청의 중화 항체 역가는 1.0 미만이고 HAI 항체 역가는 4.0 미만이었다.		

[0512]

접종 투여량이 동물 당 1 x 10⁴ PFU으로 감소되는 경우에 제1 위치에서 RSV 유전자를 소유하는 키메라 바이러스의 제한된 복제 표현형은 악화되었다. 햄스터의 상부 기도에서 b/h PIV3/RSV F1 및 G1은 b/h PIV3의 역가에 비해 1.0 내지 2.0 log₁₀만큼 감소된 역가로 복제되었다 (표 13). 이와 반대로, 2번 위치에서 RSV 유전자를 갖는 b/h PIV3/RSV는 b/h PIV3에 대해 관찰된 수준으로 상부 기도에서 복제되었다. 햄스터의 폐에서의 복제는 또한 제1 위치에서 RSV 유전자를 보유하는 b/h PIV3/RSV에 대해 더욱 제한적이었다 (표 13). 이와 반대로, b/h PIV3/RSV F2는 여전히 비감개 및 폐에서 각각 10^{5.2} 및 10^{3.9}의 높은 역가로 복제되었다 (표 13). 예방접종된 햄스터를 28일째에 1 x 10⁶ pfu의 RSV A2로 접종하였다 (표 13). 햄스터의 기도에서 낮은 수준의 복제가 관찰됨에도 불구하고, 동물은 하부 및 상부 기도 모두에서 RSV로의 접종으로부터 보호되었다 (표 13). 보호 정도는 wt RSV로 예방접종된 동물에서 관찰되는 것만큼 양호하였다. 오직 플라시보 매만을 투여한 동물에서만 비감개 및 폐에서 높은 바이러스 역가를 나타내었다 (표 13). 28일째에 면역화된 햄스터로부터 혈청을 수집하고, RSV 중화 및 PIV3 HAI 혈청 항체의 존재에 대해 분석하였다 (표 14). wt RSV 혈청에 대해 관찰된 역가에 비해 RSV 중화 항체 역가의 대략 50%가 감소하는 것이 b/h PIV3/RSV로 면역화된 햄스터로부터 수득한 혈청에서 관찰되었다 (표 14). 그러나 2번 위치에서 RSV 유전자를 보유하는 b/h PIV3을 투여한 동물로부터 수득된 혈청은 여전히 1번 위치에서 RSV 유전자를 갖는 b/h PIV3/RSV로부터의 혈청에 대해 관찰된 것보다 더 높은 RSV 중화 항체 역가를 나타내었다. PIV3 HAI 혈청 항체 역가는 또한 b/h PIV3 혈청에 비해 약간 감소하였다 (표 14).

[0513]

30. 실시예 25: 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 매개된 인간 메타뉴모바이러스 F 면역화된 햄스터를 인간 파라인플루엔자 바이러스 3 또는 인간 메타뉴모바이러스 NL/001로의 접종으로부터 보호하였다.

[0514]

5개 군의 시리아 골든 햄스터 (각 군은 6마리의 햄스터를 포함함)를 각각 b/h PIV3, b/h hMPV F1, b/h hMPV F2, hMPV 또는 플라시보로 면역화시켰다. 5개의 상이한 동물 군을 미세-격리 케이지에서 별도로 사육하였다. 면역화시킨 후 28일째에, b/h PIV3/hMPV F에 의해 유도된 면역원성을 평가하기 위해서 1 x 10⁶ PFU의 hPIV3 또는 hMPV (NL/001 군주)로 햄스터를 접종하였다. 접종한 후 4일째에, 동물을 희생시켰다. 동물의 비감개 및 폐를 균질화하고, -80℃에서 보관하였다. 조직에 존재하는 바이러스를 37℃에서 MDBK 세포에서 TCID₅₀ 분석법으로 측정하였다. 기니아 피그 적혈구 세포를 사용하는 혈구 흡착에 의해 바이러스 감염을 확인하였다. 표 15에 햄스터의 폐 및 비감개에서 PIV3 군주 및 MPV 군주의 복제 역가를 나타내었다.

표 15

[0515]

b/h PIV3/hMPV F-면역화된 햄스터를 hPIV3 또는 hMPV/NL/001로의 접종으로부터 보호하였다		
접종 바이러스:	hPIV3	hMPV
	접종한 후 4일째 평균 바이러스 역가 ($\log_{10}$ TCID ₅₀ /g 조직 $\pm$ S.E.) ^b	접종한 후 4일째 평균 바이러스 역가 ($\log_{10}$ PFU/g 조직 $\pm$ S.E.) ^b
면역 바이러스 ^a	비갑개 폐	비갑개 폐
b/h PIV3	$<1.3\pm0.2$ $<1.1\pm0.1$	ND
b/h hMPV F1	$<1.3\pm0.1$ $<1.1\pm0.1$	3.5 ± 0.8 $<0.5\pm0.2$
b/h hMPV F2	$<1.2\pm0.1$ $<1.2\pm0.1$	$<0.9\pm0.4$ $<0.5\pm0.1$
hMPV	ND	$<0.8\pm0.3$ $<0.4\pm0.0$
플라시보	4.3 ± 0.3 4.5 ± 0.5	6.0 ± 0.3 4.5 ± 1.3
^a 0일째에 6마리의 햄스터의 군을 면역화시키는데 사용된 바이러스.		
^b 28일째에, 햄스터를 10 ⁶ pfu의 hPIV3 또는 hMPV로 접종함. 접종한 후 4일째에, 동물의 폐 및 비갑개를 수거함.		
ND = 측정하지 않음.		

[0516]

상기 결과는 b/h PIV3/hMPV F2 (2번 위치에서 F)가 투여된 동물은 hPIV3 뿐만 아니라 hMPV로부터 완전히 보호된다는 것을 나타내었다 (표 15). 그러나, b/h PIV3/hMPV F1 (1번 위치에서 F)은 단지 상부 기도 (예를 들어, 비갑개)에서 2.5 log2만큼 감염된 hMPV의 역가를 감소시키는 반면, 하부 기도 (예를 들어, 폐)에서 hMPV 및 hPIV3 둘 모두의 감염으로부터 완전하게 보호되었다 (표 15). 플라시보 매질을 투여한 동물은 하부 및 상부 기도에서 높은 역가의 접종 바이러스를 나타내었다 (표 15).

[0517]

31. 실시예 26: 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 매개된 인간 메타뉴모바이러스 예방접종된 햄스터가 hMPV 중화 및 PIV3 HAI 혈청 항체를 생성하였다.

[0518]

접종 바이러스를 투여하기 전에 28일째의 햄스터로부터 혈청 샘플을 수득하고, hMPV 중화 항체 및 HAI 혈청 항체의 존재에 대해 분석하였다 (표 16). 높은 수준의 hMPV 중화 항체(7.36 log2)가 wt hMPV-감염된 동물로부터 유래된 혈청에 대해 관찰되었다. b/h PIV3/hMPV F1 또는 F2-예방접종된 햄스터로부터 수득한 혈청은 각각 야생형 hMPV 혈청에 대해 관찰된 역가와 등가인 7.77 및 7.38 log2의 중화 항체 역가를 나타내었다 (표 16). HAI 항체 수준은 또한 바이러스 벡터 b/h PIV3에 대해 관찰된 수준과 유사하였다. 키메라 b/h PIV3/hMPV F1 및 F2는 각각 b/h PIV3-감염된 햄스터 혈청으로부터 수득한 HAI 역가에 비해서 1.2 및 0.7 log2만큼 감소된 5.78 및 6.33 log2의 HAI 역가를 나타내었다 (표 16).

표 16

[0519]

b/h PIV3/hMPV로 햄스터를 예방접종하는 것은 PIV3 혈청 HAI 및 hMPV 중화 항체를 유도한다		
바이러스 ^a	hMPV ^{b,c} 에 대한 중화 항체 반응(평균 1/log ₂ $\pm$ SE)	hPIV3 ^c 에 대한 HAI 항체 반응 (평균 1/log ₂ $\pm$ SE)
hMPV	7.36 ± 1.5	ND
b/h hMPV F1	7.77 ± 1.0	5.78 ± 0.7
b/h hMPV F2	7.38 ± 1.0	6.33 ± 0.5
b/h PIV3	ND	7.00 ± 0.8
^a 햄스터를 면역화시키는데 사용된 바이러스.		
^b 중화 항체 역가를 50% 플라크 감수 분열 분석법으로 측정함		
^c 햄스터 예비-혈청의 중화 항체 역가는 1.0 미만이고 HAI 항체 역가는 2.0 미만이었다.		
ND: 측정하지 않음.		

[0520]

요컨대, 상기 결과는 b/h PIV3 계놈의 1 또는 2번 위치에서 hMPV F 단백질을 발현시키는 b/h PIV3이 시리아 골

든 햄스터에서 효율적으로 감염 및 복제되고, 보호 면역 반응을 유도하며, hPIV3 및 hMPV로의 접종으로부터 보호될 수 있다는 결과를 나타내었다. 상기 키메라 바이러스로의 햄스터의 면역화는 또한 각각 wt hMPV 또는 b/h PIV3에 대해 관찰된 것과 비슷한 수준으로 hMPV 중화 항체 및 HAI 혈청 항체의 생성을 유도하였다.

[0521] 32. 실시예 27: 3가의 소 파라인플루엔자 3/인간 파라인플루엔자 3 매개된 구조물을 햄스터에서 복제하고 hMPV/NL1/00, hPIV3 및 RSV A2로부터 햄스터를 보호하였다.

[0522] 5주령 시리아 골든 햄스터 (군 당 6마리 동물)를 각각 0.1 ml 부피의 1.0×10^6 PFU의 b/h PIV3 바이러스 및 1.0×10^5 PFU의 3가의 바이러스 b/h PIV3/RSV F1/hMPV F3으로 비내 감염시켰다. 상이한 군을 미세-격리 케이지에서 별도로 사육하였다. 감염시킨 후 4일째에, 동물의 비갑개 및 폐를 수거하고, 균질화하고, -70°C 에서 보관하였다. 조직에 존재하는 바이러스의 역가를 Vero 세포에서 TCID₅₀ 분석법으로 측정하였다. 표 17은 햄스터의 폐 및 비갑개에서 상이한 군주의 복제 역가를 나타내었다.

표 17

햄스터에서 3가의 바이러스의 복제		
바이러스 ^a	감염시킨 후 4일째 평균 바이러스 역가 ($\log_{10}$ PFU/g 조직 $\pm$ S.E.) ^b	
	비갑개	폐
b/h PIV3	5.4 ± 0.3	5.4 ± 1.2
b/h PIV3/RSV F1/hMPV F3	2.3 ± 0.7	2.7 ± 0.5
^a RSV/hMPV 동물에게 0.1 ml 부피의 1.0×10^5 PFU 바이러스를 비내 접종하고, b/h PIV3 동물은 1.0×10^6 PFU 바이러스를 투여함.		
^b 표준 오차.		

[0524] b/h PIV3/RSV F1/hMPV F3에 대해 관찰된 복제 수준이 햄스터에서 보호 면역 반응을 유도하기에 충분한지 아닌지를 평가하기 위해서, 28일째에 동물을 1×10^6 PFU의 hPIV3, 1×10^6 PFU의 RSV, 및 1.0×10^5 PFU의 hMPV/NL/1/00으로 비내 접종하였다. 접종한 후 4일째에, 동물의 비갑개 및 폐를 분리하여 정량화를 위해 면역염색된 Vero 세포 상에서 플라크 분석법으로 접종 바이러스 복제에 대해 분석하였다. 이 연구는 예방 접종한 후 28일째에, b/h PIV3/RSV F1/hMPV F3으로 면역화된 동물이 세 가지 바이러스, 즉, hPIV3, RSV 및 hMPV (hMPV/NL/1/00) 바이러스 모두로부터 보호된다는 것을 나타내었다 (표 18).

표 18

3가의 바이러스는 hMPV/NL/1/00, hPIV3 및 RSV A2로부터 햄스터를 보호한다		
접종에 사용된 바이러스 ^a	감염시킨 후 4일째 평균 바이러스 역가 ($\log_{10}$ PFU/g 조직 $\pm$ S.E.) ^b	
	비갑개	폐
hPIV3	$<1.2 \pm 0.0$	$<1.2 \pm 0.2$
플라시보	4.7 ± 0.1	5.2 ± 0.6
RSV	$<1.6 \pm 0.3$	$<0.9 \pm 0.5$
플라시보	3.0 ± 0.3	2.7 ± 0.6
hMPV/NL/1/00	$<0.5 \pm 0.1$	$<0.5 \pm 0.1$
플라시보	6.0 ± 0.3	5.3 ± 0.3
^a 1.0×10^5 PFU 바이러스를 투여한 hMPV 동물을 제외한 모든 동물에게 0.1 ml 부피의 1×10^6 PFU 바이러스를 비내 접종함.		
^b 표준 오차.		

[0526] 33. 실시예 28: RSV의 천연 또는 가용성 융합 단백질을 발현시키는 b/h PIV3은 아프리카 푸른 원숭이에서 RSV 감염으로부터 완전하게 보호한다

- [0527] 비-인간 영장류 모델에서의 효능 및 면역원성에 대한 연구에서 두 가능성있는 RSV 백신 후보, b/h PIV3/RSV F2 (실시에 2 참조) 및 b/h PIV3/sol RSV F2 (실시에 11 참조)를 평가하였다. b/h PIV3 백신을 사용하여 N과 P 사이에 병렬된, PIV3 게놈 2번 위치로부터 RSV F 단백질의 천연 및 가용성 형태를 발현시켰다. b/h PIV3/RSV F2의 이전 분석은 높은 수준의 RSV F 단백질이 상기 게놈 위치로부터 키메라 b/h PIV3에 의해 발현되고 상기 백신으로 예방접종된 햄스터는 RSV 및 hPIV3 모두의 접종으로부터 보호된다는 것을 나타내었다. 비리온 외피로 삽입될 수 있는 천연 RSV F 단백질 또는 비리온으로 혼입될 수 없는 가용성 RSV F 단백질을 발현시키는 두 b/h PIV3 백신의 효능을 비교하였다. 가용성 RSV F 단백질은 막형단 도메인의 부재로 인하여 비리온 외피에 고정될 수 없다.
- [0528] b/h PIV3에 의한 RSV F 단백질의 발현에 대응하여 생성된 항체는 RSV의 모든 균주에 의한 감염에 대하여 교차-중화 및 교차-보호되도록 예상되며, 이는 RSV F 유전자가 RSV의 하위 집단 A와 B 사이에 고도로 보존되어 있기 때문이다. b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/sol RSV F2 모두는 PIV3 게놈 2번 위치로부터 효율적으로 RSV F 단백질을 발현시킨다. 상기 RSV 백신을 아프리카 푸른 원숭이 (AGM)의 기도에서의 복제 수준 및 야생형 RSV 접종으로부터 보호 면역 반응을 유도하는 능력에 대해 분석하였다.
- [0529] 이 실시예에서 기재된 연구는 두 RSV 백신 후보, b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/sol RSV F2 모두가 효능이 있고 RSV 접종으로부터 비-인간 영장류를 완전히 보호한다는 것을 나타내었다. PIV3 매개된 RSV 키메라 모두는 인간 임상 실험에서 추가로 평가될 유력한 백신을 대표하였다. 지금까지, 생성된 보호 면역 반응 및 생성된 RSV 및 hPIV3 항체 역가에 기초하여, b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/sol RSV F2는 동등한 반응을 나타내었다. 햄스터 연구에서 조직 친화성뿐만 아니라 코튼 래트 모델에서 향상된 RSV 질환에 대한 추가의 안정성 평가를 수행하여 PIV3/RSV 백신 후보 모두에 대해 더욱 상세한 안전성 프로파일을 확립할 수 있다. 가장 우수한 안전성 프로파일을 나타내는 PIV3/RSV 백신은 효능이 있지만 여전히 안전한 RSV 백신을 수득하기 위해서 임상 실험에서 성인 및 아동에게 더욱 평가될 것이다.
- [0530] **1. 재료 및 방법**
- [0531] 세포 및 바이러스
- [0532] Vero 세포를 2 mM L-글루타민, 비필수 아미노산 (NEAA), 항생물질 및 10% FBS로 보충된 변형된 이글(Eagle) 배지 (MEM) (JRH 바이오사이언시스) 중에 유지하였다. b/h PIV3/RSV F2, b/h PIV3/sol RSV F2, RSV A2, RSV B 9320, hMPV/NL/1/00을 Vero 세포에서 증식시켰다. 세포를 0.1 PFU/세포의 감염 다중도 (MOI)로 바이러스로 감염시켰다. 감염시킨 후 3 내지 5일 후에, 세포 및 상등액을 수집하고 1x의 최종 농도에 이를 때까지 10 x SPG (10 x SPG는 2.18 M 수크로즈, 0.038 MKH₂PO₄, 0.072 M K₂HPO₄, 0.054 M L-글루타메이트임)를 첨가하여 안정화시켰다. 바이러스 보관고를 -70℃에서 보관하였다. 바이러스 역가를 Vero 세포 상에서 플라크 분석법으로 측정하였다. PIV3 (VMRD) 또는 RSV 염소 폴리클로날 항혈청 (바이오제네시스)을 사용한 면역형광항체법 염색 후에 플라크를 정량화하였다.
- [0533] 영장류 연구
- [0534] RSV- 및 PIV3-혈청 반응 음성의 아프리카 푸른 원숭이(Cercopithecus aethiops) (3.5 내지 6.5년생, 2.6 내지 5.8 kg)를 연구 시작 14일 전에 수집된 영장류 예비-혈청에 대한 RSV F IgG 엘리사(ELISA) 면역-생물학 래보라토리즈(Immuno-Biological Laboratories) 및 적혈구응집 억제 (HAI) 분석법 (하기에 기재됨)을 사용하여 구별하였다. 영장류를 개별적인 미세-격리 케이지 안에 수용하였다. 원숭이를 케타민-발름 혼합물로 마취시키고 b/h PIV3/RSV F2, b/h PIV3/sol RSV F2, RSV A2 및 hMPV/NL/1/00으로 비내 및 기관내 감염시켰다. 코 투여량 부피는 콧구멍 당 0.5 ml이고 기관내 투여량 부피는 1 ml이었다. 1일째에, 각 동물은 2 내지 3 x 10⁵ PFU의 바이러스를 함유하는 2 ml의 투여량을 투여받았다. 플라시보 동물 군은 동일한 투여량 부피의 Opti-MEM을 투여받았다. 28일째에, 모든 동물을 7 x 10⁵ PFU의 RSV A2 (각 자리에서 1 ml)로 기관내 및 비내 접종하였다. 비강 인두 (NP) 면봉을 11일 동안 매일 수집하고 기관 세척 (TL) 표본을 면역 및 접종한 후 1, 3, 5, 7 및 9일째에 수집하였다. 대퇴부 정맥으로부터 수득된 혈액 샘플을 혈청학적 분석을 위해 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 및 56일째에 수집하였다. 동물을 열병, 감기 증상, 콧물, 코막힘, 식욕 부진 및 신체 중량을 나타내는 신체 온도 변화에 대해 모니터링하였다. 영장류 NP 및 TL 표본에 존재하는 바이러스를 RSV 염소 폴리클로날 항혈청으로 면역염색된 Vero 세포를 사용한 플라크 분석법으로 정량화하였다. 평균 피크 바이러스 역가는 임의의 후속 면역화 또는 접종한 후 11일째 각 동물에 대해 측정된 피크 바이러스 역가의 평균을 대표하였다.

- [0535] 플라크 감소 중화 분석법 (PRNA):
- [0536] 각각 b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/sol RSV F2로 감염된 영장류로부터 투여 후 1, 28 및 56일째에 수득된 혈청에 대해 PRNA를 수행하였다. 영장류 혈청을 연속적으로 2배 희석시키고 기니아 피그 보충의 존재하에 4℃에서 1시간 동안 100 PFU의 RSV A2와 함께 인큐베이션하였다. 바이러스-혈청 혼합물을 Vero 세포 단일층으로 전달하고 2% FBS 및 1% 항생물질을 함유하는 EMEM/L-15 배지 (미국 캔자스주의 레네사에 소재한 JRH 바이오사이언시스) 중 1% 메틸셀룰로오스로 도포하였다. 35℃에서 인큐베이션 6일 후에, 정량화를 위해 RSV 염소 폴리클로날 항혈청을 사용하여 단일층을 면역염색하였다. 중화 역가를 50%의 바이러스의 플라크를 억제하는 최고 혈청 희석액의 $\log_2$ 의 역수로서 표현하였다.
- [0537] RSV F IgG 엘리사:
- [0538] 제조업자의 지시에 따라서 예방접종된 동물로부터 1, 28 및 56일째 수집한 영장류 혈청을 RSV F IgG의 존재에 대해 엘리사 키트 (독일 함부르크 소재의 이뮤노-바이오로지칼 래보라토리즈)를 사용하여 분석하였다. 이차 원숭이 항혈청 (로크랜드 인코포레이티드(Rockland Inc.))을 1: 1000 희석액으로 사용하였다. RSV F IgG 항체 역가는 $\log_2$ IgG U/ml로서 표현하였다.
- [0539] hPIV3 미세중화 분석법:
- [0540] Vero 세포에 대해 마이크로중화 분석을 수행하였다. 영장류 혈청의 연속 2배 희석액들 (1:4로 출발함)을 100 TCID₅₀의 hPIV3과 함께 60 분간 37 °C에서 인큐베이션하였다. 이후, 바이러스-혈청 혼합물을 96-웰 플레이트의 세포 단층으로 옮기고, 6 일간 37 °C에서 인큐베이션한 다음, 모든 웰에서 CPE를 관측하였다. 중화 역가는 CPE를 억제하는 최대 혈청 희석 배수의 역수로 표현하였다. 1:4 (시험한 최소 혈청 희석 배수) 이하의 중화 항체 역가는 2의 역 $\log_2$ 역가로 지정된다.
- [0541] PIV3 적혈구 응집 억제 (HAI) 분석:
- [0542] 영장류 혈청의 연속 2배 희석액들을 30 분간 25 °C에서 HA 8 유닛/bPIV3 또는 hPIV3 0.05 ml와 함께 인큐베이션하여 HAI 분석을 수행하였다. 이어서, 기니아 피그 적혈구를 각 웰에 첨가하고, 90 분간 계속 인큐베이션하고, 각 웰에서 적혈구 응집을 관측하였다. HAI 역가는 적혈구의 바이러스-매개된 응집을 억제하는 항혈청의 최대 희석 배수의 역수로 표현하였다.
- [0543] **2. 결과**
- [0544] b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/sol RSV F2는 AGM의 기도에서 효율적으로 복제되었음
- [0545] AGM의 하기도 및 상기도에서는 고수준의 RSV A 및 RSV B 복제가 지지되는 것으로 나타났다. b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/sol RSV F2 백신의 복제 효율을 연구하기 위해 다음과 같이 실험을 설계하였다 (도 17 참조). 요약하면, 1 일차에 RSV 및 PIV3 혈청-음성 AGM (1군 당 4마리의 동물)을 $2-3 \times 10^5$ PFU 용량의 b/h PIV3/RSV F2 또는 b/h PIV3/sol RSV F2로 비내 및 기관지내로 면역화시켰다. 양성 대조군을 야생형 RSV A2로 감염시키고, 음성 대조군에게는 플라시보 매질을 투여하였다. 28 일차에 모든 동물을 7×10^5 PFU의 야생형 RSV A2로 비내로 및 기관지내로 공격하였다. 연구 기간 동안 동물들은 마이크로-아이솔레이터 케이지 (micro-isolator cage)에서 사육하였다. 면역화후 및 공격후 11 일간 매일 비인두 도찰물 (swab)을 수집하고, 면역화후 및 공격후 2, 4, 6, 8 및 10 일차에 기관지 세척 샘플을 얻었다. 연구 기간 내내 7일 마다 항체 분석용 혈청 샘플을 수집하였다 (도 17 참조).
- [0546] 하기 표 19에 제시된 바와 같이, 원숭이에게 b/h PIV3/RSV F2로 백신접종한 후, 바이러스가 비인두에서는 7 일간 증식되어 $5.6 \log_{10}$ PFU/ml의 평균 피크 역가가 나타났고, 기관지에서는 9 일간 증식되어 $7.0 \log_{10}$ PFU/ml의 평균 피크 역가가 나타났다. 가용성 형태의 RSV F 단백질인 b/hPIV3/sol RSV F2를 발현하는 백신 바이러스로 AGM을 면역화시킨 결과, 바이러스가 비인두에서는 8 일간 증식되어 $5.6 \log_{10}$ PFU/ml의 평균 피크 역가가 나타났고, 기관지에서는 7 일간 증식되어 $6.8 \log_{10}$ PFU/ml의 평균 피크 역가가 나타났다 (표 19). 이와 달리, wt RSV A2로 감염된 영장류에서는 비인두에서 6 일간의 바이러스 증식으로 $3.3 \log_{10}$ PFU/ml의 평균 피크 역가에 도달하였고, 기관지에서는 8 일간의 바이러스 증식으로 $5.0 \log_{10}$ PFU/ml의 피크 역가가 나타났다. 플라시보 매질이 투여된 동물에서는 바이러스가 증식되지 않았다 (표 19). 따라서, 인간이 아닌 영장류를 b/h PIV3/RSV F2

또는 b/h PIV3/sol RSV F2로 면역화시킨 경우에는 바이러스 증식의 복제 및 기간이 시험된 두 종류의 백신 후보체 모두에서 상기와 유사한 높은 수준이다. 실제로, b/h PIV3/RSV 백신 후보체의 경우, 바이러스 복제가 야생형 RSV A2에 비해 URT에서는 200배 높았고, LRT에서는 63 내지 100배 높았다.

표 19

b/h PIV3/RSV F2 또는 b/h PIV3/sol RSV F2로 면역화된 아프리카 녹색 원숭이는 야생형 RSV A2의 공격으로부터 완전히 방어되었음

면역화 바이러스 *	동물 수	공격전 평균 피크 역가 #		공격후 [§] 평균 피크 역가	
		NP	BAL	NP	BAL
RSV A2	3	3.3 ± 1.5	5.0 ± 0.4	< 1.2 ± 0.2	< 1.0 ± 0.0
b/h PIV3/RSV F2	4	5.6 ± 1.0	7.0 ± 0.4	< 1.2 ± 0.4	< 1.2 ± 0.3
b/h PIV3/sol RSV F2	4	5.6 ± 0.2	6.8 ± 0.4	< 1.1 ± 0.2	< 1.0 ± 0.0
hMPV	3	ND	ND	4.0 ± 0.1	5.0 ± 0.2
플라시보	2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	4.3 ± 0.3	5.7 ± 0.3

* 상기 명시된 바이러스 2-3 x 10⁶ PFU를 1 ml의 용량으로 동물의 각 부위에 비내로 및 기관지내로 접종하였다.

평균 피크 바이러스 역가는 log₁₀ PFU/ml ± 표준 오차로 표현되며, 연구 기간 동안 특정 군에서의 각 동물의 최대 바이러스 역가의 평균치이다.

§ 28 일차에 7 x 10⁶ PFU의 RSV A2로 동물을 공격하였다.

ND = 측정되지 않음.

[0547]

[0548]

백신접종 후 11 일간 RSV 질환의 징후, 예를 들어 비루, 콧물, 감기 또는 열병에 대해 동물을 관찰하였다. 급격히 바이러스가 복제되는 이 기간 동안 질환의 징후는 전혀 나타나지 않았다.

[0549]

상기 연구에서, 백신 후보체 b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/sol RSV F2 모두가 AGM의 URT 및 LRT에서 각각 5.6 및 7.0 log₁₀ PFU/ml의 높은 역가로 복제되었다. AGM의 기도에서 두 종류의 RSV 백신 후보체에 대해 관측된 복제 역가가 야생형 RSV A2의 경우보다 높았다. 투여후 28 일차에는 상기 잠재적인 RSV 후보체 백신에 대해 관측된 복제 수준으로써 RSV 공격에 대한 완전한 방어가 유도되었다. 플라시보 매질이 투여된 동물, 또는 면역학적 교차 방어를 유도하지 않는 hMPV (관련 파라믹소바이러스)로 백신접종된 동물에서만 RSV A2 공격 바이러스의 높은 복제 역가가 관측되었다.

[0550]

b/h PIV3/RSV F2 또는 b/h PIV3/sol RSV F2로 면역화된 AGM은 야생형 RSV A2의 공격으로부터 완전히 방어되었음

[0551]

RSV 감염으로부터의 면역 방어력을 평가하기 위해, 백신접종된 영장류를 면역화후 4 주차에 대용량의 야생형 RSV A2로 공격하였다. 감염된 동물의 URT 및 LRT에서 증식된 RSV 공격 바이러스의 역가 감소치로 효능을 측정하였다. b/h PIV3/RSV F2 또는 b/h PIV3/sol RSV F2로 면역화된 영장류는 RSV A2 공격으로부터 효과적으로 방어되었다 (표 19). b/h PIV3/RSV F2로 백신접종된 한 동물에서만 비인두에서 1 일간 저수준의 공격 바이러스 증식 (1.8 log₁₀ PFU/ml) 및 기관지에서 1 일간 저수준의 공격 바이러스 증식 (1.6 log₁₀ PFU/ml)이 나타났다. 상기 치료군에서의 평균 피크 역가는 URT에서 1.2 log₁₀ PFU/ml이었고, LRT에서 1.2 log₁₀ PFU/ml이었다. b/h PIV3/sol RSV F2가 투여된 동물도 wt RSV 공격으로부터 완전히 방어되었다 (표 19). 한 동물의 비인두에서는 3 일간 저수준의 공격 바이러스 증식 (1.3 log₁₀ PFU/ml)이 나타났으나, 이 동물의 기관지에서는 RSV가 증식되지 않았다. b/h PIV3/sol RSV F2-면역화된 영장류에서 관측된 평균 피크 역가는 비인두에서 1.1 log₁₀ PFU/ml 및 기관지에서 1.0 log₁₀ PFU/ml이었다. wt RSV A2로 감염된 AGM들에서 유사 수준의 면역 방어력이 관측되었다 (표 19). 이 군에서는 비인두 및 기관지에서 RSV 공격 바이러스가 각각 1.2 log₁₀ PFU/ml 및 1.0 log₁₀ PFU/ml 수준으로 증식된 것으로 나타났다. 1 일차에 RSV로 감염된 한 동물에서는 RSV 공격 바이러스가 비인두에서 1 일간 저수준 (1.3 log₁₀ PFU/ml)으로 증식되었다. 이와 달리, 플라시보 매질이 투여된 치료군에서는 고수준의 RSV 공격 바이러스 복제가 나타났고 (비인두에서 4.3 log₁₀ PFU/ml 및 기관지에서 5.7 log₁₀ PFU/ml), 영장류에서는 URT 및 LRT 모두에서 8 일간 공격 바이러스가 증식되었다. 1 일차에 hMPV (관련 파라믹소바이러스)가 투여된 AGM은 RSV 공격으로부터 방어되지 않았으며, URT 및 LRT에서 8 일간 RSV 공격 바이러스가 증식되었다. AGM의 URT 및 LRT에서 4.0 log₁₀ PFU/ml 및 5.0 log₁₀ PFU/ml의 평균 피크 역가가 관측되었다 (표 19). 이러한

결과는 상기 RSV 백신 후보체들 중 하나를 사용한 백신접종이 후속의 야생형 RSV 감염으로부터 인간이 아닌 영장류를 효과적으로 방어할 수 있음을 나타낸다.

[0552] b/h PIV3/RSV F2 또는 b/h PIV3/sol RSV F2로 면역화된 AGM은 방어성 RSV 혈청 항체를 생성하였음

[0553] b/h PIV3-백터함유 RSV 백신 후보체의 효능을 면역화후 4 주차에 형성된 RSV 중화 항체 역가 및 RSV F IgG 혈청 항체 역가 수준으로써 더 평가하였다. 50% 플라크 감소 중화 분석법 (PRNA)을 이용하여 RSV 중화 항체 역가를 결정하였다 (표 20).

표 20

b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/sol RSV F2로 백신접종된 아프리카 녹색 원숭이는 RSV 중화 항체 역가 및 RSV F-특이적 IgG 혈청 항체 역가를 나타냈음

면역화 바이러스	혈청 수집 일자*	평균 RSV 중화 항체 역가* (50% 역log ₂ ± SE)		RSV F IgG (U/ml) 기하 평균 log ₂ 항체 역가*
		RSV A [#]	RSV B [#]	
RSV A2	28	9.0 ± 1.0	4.2 ± 1.0	8.6
	56	10.7 ± 0.6	4.3 ± 1.3	9.1
b/h PIV3/RSV F2	28	4.0 ± 1.0	3.4 ± 1.8	8.2
	56	4.1 ± 2.0	5.0 ± 1.4	9.0
b/h PIV3/sol RSV F2	28	4.1 ± 1.5	4.6 ± 1.4	8.0
	56	4.3 ± 1.0	5.0 ± 1.1	9.4
플라시보	28	<2.2 ± 0.3	<2.0 ± 0.0	2.3
	56	9.0 ± 0.1	2.0 ± 0.0	8.1

* 1 일차에 모든 동물에서 2.4 log₂ U/ml 미만의 RSV 중화 항체 역가 및 3.6 log₂ U/ml 미만의 RSV F IgG 역가가 나타났고, 혈청은 1 일차 (면역화전), 28 일차 (RSV 공격전) 및 56 일차 (RSV 공격후 4 주차)에 수집하였다.

[#] 상기 중화 분석에서는 항원으로서 RSV A2 및 RSV B 9320을 사용하였다.

[0554]

[0555] 야생형 RSV A2로 감염된 AGM에서는 PRNA에서 RSV 아군 A가 항원으로 사용되는 경우, 감염후 4 주차에 9 log₂의 높은 RSV 중화 항체 역가가 나타났다. PRNA에서 RSV 아군 B가 사용되는 경우에는 5 log₂ 감소된 RSV 중화 항체 역가가 관측되었다. 백신 후보체 b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/sol RSV F2는 RSV 아군 A 또는 아군 B가 항원으로 사용되는 경우, 투여후 28 일차에 약 4 log₂의 RSV 중화 항체 역가를 나타냈다. 이와 달리, 플라시보 매질이 투여된 동물로부터 유도된 혈청은 RSV 아군 A 또는 B에 대한 RSV 중화 항체 역가를 나타내지 않았다. 또한, 56 일차 (RSV 공격후 4 주차)에 얻어진 혈청에서 RSV 중화 항체의 존재 여부를 시험하였다 (표 20). 야생형 RSV A2로 감염된 AGM으로부터 유도된 56 일차 혈청에서는 아군 A를 시험하는 경우에 1.7 log₂ 증가된 RSV 중화 항체 역가가 나타났으나, 아군 B의 경우에는 RSV 중화 항체 역가가 증가하지 않았다. 아군 A 또는 B 항원에 대해 b/h PIV3/RSV F2- 또는 b/h PIV3/sol RSV F2-면역화된 영장류로부터 유도된 56 일차 혈청에서는 중화 항체 역가의 유의한 상승은 관측되지 않았다. 56 일차 플라시보 동물 혈청 샘플에서, RSV 아군 A에 대한 RSV 중화 항체 역가는 7 log₂ 증가하였으나, 아군 B에 대한 중화 항체 역가는 저수준으로만 증가한 것으로 나타났다.

[0556] 백터함유 PIV3/RSV 백신에 의해 유도된 면역 반응을 더 측정하기 위해, 투여전 (1 일차), 투여후 4 주차 (28 일차) 및 공격후 4 주차 (56 일차)의 RSV F 단백질 특이적 IgG 수준을 분석하였다 (표 20). 모든 치료군으로부터의 투여전 영장류 혈청은 3.6 log₂ IgG U/ml 미만의 값을 나타냈는데, 이는 RSV F-특이적 IgG의 부재를 나타낸다. 이와 달리, 백신접종후 4 주차에는 b/h PIV3/RSV F2 또는 b/h PIV3/sol RSV F2로부터 유도된 혈청의 RSV F-특이적 IgG 수준이 각각 8.2 및 8.0 log₂의 역가를 나타냈다. 유사 수준의 RSV F IgG 역가 8.6 log₂가 RSV A2-감염된 동물로부터 유도된 28 일차 혈청에서 관측되었다. 오직 플라시보 동물의 28 일차 혈청만이 RSV F IgG를 함유하지 않았다. RSV A2, b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/sol RSV F2-면역화된 동물로부터의 56 일차 혈청의 RSV F IgG 역가는 28 일차 혈청에서 관측된 수준의 역가로부터 0.5 내지 1.4 log₂ 만큼 상승하였다. 이와 달리, wt RSV A2로 공격받은 플라시보 동물로부터 얻어진 56 일차 혈청에서는 약 7 log₂ 증가된 RSV F-특이적 IgG 역가가 나타났다. PIV3/RSV F 백신으로 백신접종된 인간이 아닌 영장류는 RSV 공격으로부터 상기 동물을 완전히 방어할 만큼 충분한 RSV 특이적 중화 항체 역가 및 IgG 항체 역가를 분명하게 나타냈다.

[0557] 키메라 b/h PIV3/RSV F 백신은 RSV 아군 A 및 B 모두에 대해 특이적인 RSV 중화 항체를 생성하였다. 아군 A와

B의 RSV F 단백질간에는 아미노산 서열이 고도로 보존되어 중화 에피토프가 공유되었다. b/h PIV3/RSV F에 대한 RSV 중화 항체 역가 수준은 야생형 RSV A2로 감염된 AGM로부터 얻어진 영장류 혈청에서 관측된 것보다 5 log₂ 낮았다. b/h PIV3/RSV 백신에서 RSV 중화 항체는 전체 RSV 바이러스 입자가 아니라 RSV F 단백질에 대해서만 반응하여 생성되었다. 야생형 RSV A2로 감염된 AGM으로부터 얻어진 혈청에 대한 RSV B 교차-중화 항체 수준은 동종의 RSV A2 항원 시험시 관측된 항체 수준에 비해 5 log₂ 만큼 감소되었다. 이와 달리, b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/sol RSV F2에 의해 나타나는 RSV B 특이적-중화 항체 역가의 감소는 관측되지 않았다.

[0558] 상기 결과는 RSV F 단백질에 의해 유도된 혈청 중화 항체 수준이 영장류를 RSV 공격으로부터 완전히 방어할 만큼 충분하다는 것을 나타냈다. b/h PIV3/RSV F 영장류 혈청에 대한 RSV 중화 항체 역가는 낮아도, 아군 A 및 B RSV 균주에 대한 중화 활성은 동일하였다. 야생형 RSV 감염으로부터 유도된 영장류 혈청은 동종의 RSV A 항원에 대해 높은 RSV 중화 역가를 나타냈고, RSV B 항원에 대해서는 벡터함유 PIV3/RSV F 백신의 경우에서 관측된 것과 유사한 저수준의 역가를 나타냈다. RSV A2로 감염되거나 b/h PIV3/RSV F 백신으로 면역화된 영장류에서는 RSV F IgG 항체 역가의 유의한 상승 (6 log₂ 초과)이 관측되었다. b/h PIV3/RSV F 또는 b/h PIV3/sol RSV F로 백신접종된 동물에서는 RSV 공격에 따른 RSV 중화 항체 역가 또는 IgG 항체 역가의 추가적 상승이 관측되지 않았다. PIV3/RSV F 백신의 경우에 측정된 RSV 중화 항체 역가가 wt RSV로 감염된 영장류로부터 얻어진 혈청에 대해 관측된 것보다 낮기 때문에, 세포 면역 반응은 RSV 공격에 대해 유효한 방어력을 형성하는 역할을 할 수가 있다. 생-약독화 PIV3/RSV 백신의 효능에 대한 세포 면역계의 기여를 설명하기 위한 추가의 연구가 수행될 수 있다.

[0559] 아동에서 안전한 것으로 입증된 PIV3으로부터 대부분의 바이러스 게놈이 유도되기 때문에, b/h PIV3 벡터는 인간에서 약독화될 것으로 예상되었다 (문헌 [Karron et al., *Pediatr. Infect. Dis. J.* 15:650-654 (1996)] 참조). 스킴아도폴로스 (Skiadopoulos) 등은 붉은털 원숭이 약독화 모델을 사용하여 bPIV3 약독화 표현형이 본질적으로 다인성임을 명확하게 제시하였다 (문헌 [Skiadopoulos et al., *J. Virol.* 77:1141-1148 (2003)]; [Van Wyke Coelingh et al., *J. Infect. Dis.* 157:655-662 (1988)] 참조). bPIV3 F 및 HN 유전자가 약독화를 구제화하는 특정 유전성 결정인자를 함유할 수는 있으나, 약독화 표현형에 대해 가장 많이 기여한 것은 bPIV3 N 및 P 단백질이었다. 슈미트 (Schmidt) 등은 붉은털 원숭이의 기도에서 복제를 위한 여러 PIV3 게놈 위치로부터 RSV 항원을 발현하는 b/h PIV3의 수를 측정하였다 (문헌 [Schmidt et al., *J. Virol.* 76:1089-1099 (2002)]; [Van Wyke Coelingh et al., *J. Infect. Dis.* 157:655-662 (1988)] 참조). RSV 단백질을 발현하는 모든 키메라 b/h PIV3은 URT에서 b/h PIV3보다 덜 효율적으로 복제되었고, 붉은털 원숭이의 LRT에서는 벡터 b/h PIV3에 비해 아주 약간 높은 역가 (약 0.5 log₁₀ TCID₅₀/ml)가 관측되었다. 상기 데이터는 b/h PIV3/RSV가 인간에서 약독화될 것이라는 예상을 추가로 입증한다.

[0560] 유아는 잘 발달된 면역계를 보유하지 않으므로, RSV에 대해 장기간 지속되는 방어 면역을 발달시키기 위해서는 다수의 백신 투여가 필요할 수 있다. 추정되는 백신접종 일정으로는 생후 2, 4 및 6개월이 고려될 수 있으며, 다른 정기적 소아 백신접종과 동시에 계획하는 것이 이상적이다. PIV3은 면역원성이 높아, 최초 PIV/RSV 백신 접종은 고수준의 PIV3 항체를 유도한다. 이는 PIV/RSV를 사용한 후속의 면역화시 항체 역가의 추가 상승을 유발하지 않도록 하는 벡터 면역을 유도할 수 있다. 캐론 (Karron) 등의 최근 연구에서는 약물 투여 간격이 충분히 길다면, PIV3의 다중 투여가 벡터 면역을 유도하지 않을 것이라고 발표하였다 (문헌 [Karron et al., *Pediatr. Infect. Dis. J.* 22:394-405 (2003)] 참조). 단일 용량의 cp-45 PIV3 백신 (저온-계대배양된 (cold-passaged) 온도-민감성 바이러스) 투여는 2차 용량의 투여 후에 백신 복제를 상당히 제한하였다. 그러나, 2차 용량의 백신 투여시 감염 빈도는 투여 간격에 분명하게 좌우되었다. 2차 용량의 백신을 1 개월 후에 투여한 경우, 유아의 24%에서만 바이러스가 증식되었다. 이와 달리, 1차 용량 투여후 3 개월 뒤에 2차 용량을 투여한 경우에는 유아의 62%에서 바이러스가 증식되었다. 상기 결과는 PIV3 벡터 면역 효과를 최소화하기 위해서는 백신접종 간격이 1 개월 초과 3 개월 미만이어야 함을 나타냈다.

[0561] AGM의 PIV3/RSV 면역화는 hPIV3 중화 항체 및 HAI 혈청 항체의 생성을 유도하였음

[0562] b/h PIV3/RSV 백신의 RSV 및 hPIV3 감염에 대한 방어 여부를 평가하기 위해, 영장류 혈청에서 hPIV3 중화 항체 및 HAI 혈청 항체의 존재 여부를 분석하였다 (표 21).

표 21

b/h PIV3/RSV F2 또는 b/h PIV3/sol RSV F2로 면역화된 AGM에서는 hPIV3 중화 항체 및 HAI 혈청 항체가 유도되었음

면역화에 사용된 바이러스	혈청 수집 일차*	hPIV3 중화 기하 평균 역log ₂ 항체 역가	역 기하 평균 PIV3 HAI 항체 역가	
			hPIV3 [#]	bPIV3 [#]
b/h PIV3/RSV F2	28	6.1	128.0	11.3
	56	5.6	64.0	8.0
b/h PIV3/sol RSV F2	28	5.8	128.0	16.0
	56	5.7	64.0	8.0
플라시보	28	< 2.0	< 4.0	< 4.0
	56	< 2.0	< 4.0	< 4.0

* 1 일차 예비-혈청에서는 2.0 log₂ 미만의 hPIV3 중화 항체 역가 및 4.0 미만의 PIV3 HAI 역가가 나타났다.

HAI 분석에서는 항원으로서 hPIV3/Wash/47885/57 및 bPIV3/Kansas/15626/84를 사용하였다.

[0563]

[0564]

b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/sol RSV F2로 면역화된 동물로부터의 28 및 56 일차 영양류 혈청은 약 6 log₂의 hPIV3 중화 항체 역가를 나타냈다. b/h PIV3/RSV F2 및 b/h PIV3/sol RSV F2에 대한 28 및 56 일차 혈청에서는 각각 128 및 64의 인간 PIV3-특이적 HAI 항체 역가가 관측되었다. 28 일차 혈청을 사용하여 bPIV3 항원을 시험한 경우, 11.3 및 16.0의 낮은 HAI 항체 역가가 나타났다. 56 일차 혈청은 더욱 낮은 8.0의 bPIV3 HAI 역가를 나타냈다. b/h PIV3/RSV 바이러스의 표면 당단백질 F 및 HN은 인간 PIV3으로부터 유도되기 때문에, 이중의 bPIV3 항원보다 동종의 항원 (hPIV3)에 대한 HAI 혈청 항체 역가가 더 높게 관측되었다. 플라시보 수용자로부터 유도된 혈청에서는 hPIV3 중화 항체 또는 PIV3 HAI 혈청 항체가 검출되지 않았다. 이러한 결과는 b/h PIV3/RSV 백신이 또한 hPIV3 감염에 대해 효능이 있을 수 있음을 나타낸다.

[0565]

상기 연구에서는 hPIV3 혈청 HAI 항체 역가 및 중화 항체 역가가 백신접종에 반응하여 형성되는지에 대한 여부를 결정하였다. 두 종류의 b/h PIV3/RSV F 백신 모두로 면역화된 동물로부터 얻어진 영양류 혈청에서 관측된 hPIV3 HAI 항체 및 중화 항체의 수준은 b/h PIV3으로 백신접종된 붉은털 원숭이에서 나타난 역가와 유사하였다. b/h PIV3으로 면역화된 붉은털 원숭이는 야생형 hPIV3의 공격으로부터 완전히 방어되었다. 상기 결과는 2가 백신으로서의 b/h PIV3-백터함유 RSV 백신이 RSV 및 hPIV3 감염 및 질환 모두로부터 유아를 방어하는 데 효과적인 수 있음을 나타낸다.

[0566]

34. 실시예 29: 아프리카 녹색 원숭이에서 MPV의 항원성 단백질을 발현하는 b/h PIV3의 효능 및 면역원성의 평가

[0567]

인간이 아닌 영양류 모델, 예를 들어 아프리카 녹색 원숭이에서 잠재적인 MPV 백신 후보체, 예를 들어 MPV의 항원성 단백질, 예를 들어 MPV F를 발현하는 b/h PIV3를 효능 및 면역원성을 평가하였다.

[0568]

Vero 세포를 2 mM L-글루타민, 비펩수 아미노산 (NEAA), 항생제 및 10% FBS가 보강된 개질 이글 배지 (MEM) (제이알에이치 바이오사이언시스사 (JRH Biosciences))에 유지시켰다. MPV의 항원성 단백질을 발현하는 b/h PIV3 (예를 들어, b/h PIV3/MPV F2) 및 야생형 MPV (예를 들어, hMPV/NL/1/00)를 Vero 세포 중에 번식시켰다. 세포를 상기 바이러스로 0.1 PFU/세포의 감염 다중도 (MOI)로 감염시켰다. 감염후 3 내지 5 일차에 세포 및 상등액을 수집하고, 10x SPG (10x SPG는 수크로스 2.18 M, KH₂PO₄ 0.038 M, K₂HPO₄ 0.072 M, L-글루타민 0.054 M)를 첨가하여 1x의 최종 농도로 안정화시켰다. 상기 바이러스 스톱을 -70 °C에서 저장하였다. 플라크 분석법에 의해 Vero 세포에서 바이러스 역가를 결정하였다. PIV3 (브이엠알디사 (VMRD)) 또는 MPV 염소 폴리클로날 항혈청 (바이오제네시스사 (Biogenesis))을 사용하여 면역과산화효소 염색 후에 플라크를 정량화하였다.

[0569]

연구 시작일로부터 14 일전에 수집한 영양류 예비-혈청에 대한 MPV F IgG ELISA (이뮤노-바이올로지칼 래보러토리즈사 (Immuno-Biological Laboratories)) 및 적혈구 응집 억제 (HAI) 분석에 의해 MPV-혈청-음성 및 PIV3-혈청-음성 아프리카 녹색 원숭이 (세르코피테쿠스 에티오피스 (*Cercopithecus aethiops*)) (3.5 내지 6.5 년생, 2.6 내지 5.8 kg)를 식별하였다. MPV F IgG ELISA를 다음과 같이 수행하였다: ELISA 키트 (독일 함부르크에 소재한 이뮤노-바이올로지칼 래보러토리즈사)를 사용설명서에 따라 사용하여 백신접종된 동물로부터의 1, 28 및 56 일차 영양류 혈청에서 MPV F IgG의 존재 여부를 분석하였다. 제2 원숭이 항혈청 (락랜드 인크. (Rockland Inc.))을 1:1000 희석액으로 사용하였다. MPV F IgG 항체 역가는 log₂ IgG U/ml로 표현하였다. 영양류 혈청의 연속 2배 희석액들을 30 분간 25 °C에서 HA 8 유닛/bPIV3 또는 hPIV3 0.05 ml와 함께 인큐베이션하여 HAI 분석

을 수행하였다. 이어서, 기니 피그 적혈구를 각 웰에 첨가하고, 90 분간 계속 인큐베이션하고, 각 웰에서 적혈구 응집을 관측하였다. HAI 역가는 적혈구의 바이러스-매개된 응집을 억제하는 항혈청의 최대 희석 배수의 역수로 표현하였다.

[0570] 영장류들을 각각의 마이크로-아이솔레이터 케이지에서 사육하였다. 원숭이를 케타민-발륨 혼합물로 마취시키고, MPV의 항원성 단백질을 발현하는 b/h PIV3 벡터 (예를 들어, b/h PIV3/MPV F2) 및 야생형 MPV (예를 들어, hMPV/NL/1/00)로 비내로 및 기관지내로 감염시켰다. 비내 투여 용량은 콧구멍 하나당 0.5 ml이고, 기관지내 투여 용량은 1 ml이었다. 1 일차에 바이러스 $2-3 \times 10^5$ PFU를 함유하는 2 ml의 용량을 각 동물에게 투여하였다. 플라시보 동물군에게는 동일한 투여 용량의 옵티-멤 (Opti-MEM)을 투여하였다. 28 일차에 모든 동물을 7×10^5 PFU의 hMPV/NL/100으로 기관지내로 및 비내로 공격하였다 (각 부위당 1 ml). 비인두 (NP) 도찰물을 11 일간 수집하고, 기관지 세척 (TL) 표본을 면역화후 및 공격후 1, 3, 5, 7 및 9 일차에 수집하였다. 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 및 56 일차에는 대퇴 정맥으로부터 얻어진 혈청학적 분석용 혈액 샘플을 수집하였다. 열을 나타내는 동물의 체온 변화, 감기 징후, 콧물, 재채기, 식욕 상실 및 체중을 모니터링하였다. MPV 염소 폴리클로날 항혈청으로 면역염색된 Vero 세포를 사용하여 플라크 분석법에 의해 영장류의 NP 및 TL에 존재하는 바이러스를 정량화하였다. 평균 피크 바이러스 역가는 면역화후 또는 공격후 11 일차에 각 동물에서 측정된 피크 바이러스 역가의 평균치를 나타낸다.

[0571] MPV의 항원성 단백질을 발현하는 b/h PIV3 벡터, 예를 들어 b/h PIV3/MPV F2로 감염된 영장류로부터 투여후 1, 28, 56 일차에 얻어진 혈청에 대해 플라크 감소 중화 분석 (PRNA)을 수행하였다. 영장류 혈청을 2배 연속 희석시키고, 1 시간 동안 4 °C에서 기니 피그 보체의 존재 하에 100 PFU의 hMPV/NL/100을 인큐베이션하였다. 바이러스-혈청 혼합물을 Vero 세포 단층으로 옮기고, 2% FBS 및 1% 항생제를 함유하는 EMEM/L-15 배지 (미국 캔자스 레벡사에 소재한 제이알에이치 바이오사이언시스사) 중의 1% 메틸 셀룰로스로 덮히게 하였다. 35 °C에서 6 일간 인큐베이션한 후, 정량화를 위해 상기 단층을 MPV 염소 폴리클로날 항혈청으로 면역염색하였다. 중화 역가는 바이러스 플라크의 50%를 억제하는 최대 혈청 희석 배수의 역log₂로 표현하였다.

[0572] Vero 세포에 대해 hPIV3 마이크로중화 분석을 수행하였다. 영장류 혈청의 연속 2배 희석액들 (1:4로 출발함)을 100 TCID₅₀의 hPIV3과 함께 60 분간 37 °C에서 인큐베이션하였다. 이후, 바이러스-혈청 혼합물을 96-웰 플레이트의 세포 단층으로 옮기고, 6 일간 37 °C에서 인큐베이션한 다음, 모든 웰에서 CPE를 관측하였다. 중화 역가는 CPE를 억제하는 최대 혈청 희석 배수의 역수로 표현하였다. 1:4 (시험한 최소 혈청 희석 배수) 이하의 중화 항체 역가는 2의 역log₂ 역가로 지정된다.

[0573] MPV 백신 후보체의 복제 효능을 연구하기 위해, 다음과 같이 실험을 설계하였다. 1 일차에 MPV 및 PIV3 혈청-음성 아프리카 녹색 원숭이 (1군 당 4마리의 동물)를 $2-3 \times 10^5$ PFU 용량의 MPV 백신 후보체, 예를 들어 b/h PIV3/MPV F2로 비내로 및 기관지내로 면역화시켰다. 양성 대조군을 야생형 MPV, 예를 들어 hMPV/NL/100으로 감염시키고, 음성 대조군에게는 플라시보 매질을 투여하였다. 28 일차에 모든 동물을 7×10^5 PFU의 야생형 MPV, 예를 들어 hMPV/NL/100으로 비내로 및 기관지내로 공격하였다. 연구 기간 동안 동물들은 마이크로-아이솔레이터 케이지에서 사육하였다. 면역화후 및 공격후 11 일간 매일 비인두 도찰물을 수집하고, 면역화후 및 공격후 2, 4, 6, 8 및 10 일차에 기관지 세척 샘플을 얻었다. 연구 기간 내내 7일 마다 항체 분석용 혈청 샘플을 수집하였다.

[0574] MPV 감염으로부터의 면역 방어력을 평가하기 위해, 백신접종된 영장류를 면역화후 4주차에 대용량의 야생형 MPV, 예를 들어 hMPV/NL/100으로 공격하였다. 감염된 동물의 URT 및 LRT에서 증식된 MPV 공격 바이러스의 역가 감소치로 효능을 측정하였다.

[0575] b/h PIV3-벡터함유 MPV 백신 후보체의 효능을 면역화후 4 주차에 형성된 MPV 중화 항체 역가 및 MPV F IgG 혈청 항체 역가 수준으로써 더 평가하였다. 50% 플라크 감소 중화 분석법 (PRNA)을 이용하여 MPV 중화 항체 역가를 결정하였다. 또한, 투여전 (1 일차), 투여후 4 주차 (28 일차) 및 공격후 4 주차 (56 일차)에 MPV F 단백질 특이적 IgG 수준을 측정함으로써 MPV 백신 후보체로 유도된 면역 반응을 분석하였다.

[0576] b/h PIV3 벡터함유 MPV 백신이 MPV 및 hPIV3 감염을 방어할 수 있는지를 평가하기 위해, 영장류 혈청을 또한 hPIV3 중화 항체 및 HAI 혈청 항체의 존재에 대해 분석하였다.

[0577] 35. 실시예 30: GFP 또는 eGFP 유전자를 함유하는 b/h PIV3 구조물을 사용하는 마이크로중화 분석법

- [0578] 바이러스를 동물에 접종할 때, 바이러스에 대한 항체 어레이를 제작하였다. 이들 항체중 일부는 바이러스 입자와 결합할 수 있고 바이러스의 감염성을 중화시킬 수 있다. 마이크로중화 분석법을 사용하여 바이러스를 항체 함유 혈청의 회석물과 함께 인큐베이션한 후에 바이러스의 잔존 감염성을 분석하였다.
- [0579] 마이크로중화 분석법을 하기와 같이 수행하였다: 혈청을 Opti-MEM 배지 (1x)로 연속적으로 회석하였다. 혈청 및 배지를 거꾸로 하여 부드럽게 혼합하고, 그 후에 빙상에 두었다. 혈청의 각 회석물을 해당 바이러스와 함께 인큐베이션하였고, 이때 바이러스의 계념을 1개 이상의 GFP 또는 eGFP 유전자를 함유하도록 조작하였다 (실시예 4의 섹션 9 참조). 세포를 포스페이트 완충 식염수 ("PBS")로 세척하였다. 바이러스/혈청 혼합물을 세포에 첨가하고 1시간 동안 35 °C에서 인큐베이션하였다. 바이러스를 함유하는 모든 배지를 제거하고, 세포를 PBS로 세척하였다. Opti-MEM 배지를 세포에 첨가하고 세포 배양물을 3일 동안 인큐베이션하였다. 바이러스의 잔존 감염성을 형광 현미경으로 찍은 영상에서 GFP 또는 eGFP 녹색 초점을 정량함으로써 측정하였다. GFP 또는 eGFP를 함유하지 않는 상응하는 바이러스, 예를 들어 야생형 RSV를 사용하는 플라크 형성 억제 분석법 또한 마이크로중화 분석법의 민감성을 비교하기 위해 수행할 수 있다.
- [0580] **36. 실시예 31: 바이러스 백신 후보체를 제조하기 위한 강력한 고수율의 세포 배양물의 제조**
- [0581] 본 실시예는 강력한 고수율의 세포 배양 방법에 대해 기술하고 있다. 이 방법은 예를 들면, 본 출원에 기술되어 있는 바이러스 백신을 제조하기 위해 사용할 수 있다. 중요한 방법 파라미터를 우선 확인하고, 제조 방법을 소규모의 실험에서 최적화하였다. 이어서, 최적화된 작업 조건을 사용하여 수차례의 연구를 수행함으로써 제조 시스템의 확장성, 강도 및 재현성을 측정하였다. 본 실시예에 기술되어 있는 방법은 감염성 바이러스 수율을 1 log₁₀ TCID₅₀/mL을 초과하여 증가시켰다.
- [0582] 재료 및 방법:
- [0583] 바이러스 (도 4에 도시되어 있는, RSV F 유전자 삽입 구조물을 함유하는 소/인간 PIV-3 바이러스, 이하 "b/h PIV3/RSV F2"라고 지칭함)를 4 mM의 L-글루타민을 보충한 OPTI PRO SFM (김코(Gibco))으로 구성된 무혈청 배지 (SFM)에서 성장하도록 조작한 Vero 세포 (ATCC)를 사용하여 증식시켰다. 부착성(anchorage-dependent) Vero 세포를 SFM 1 mL당 5×10^4 개의 세포로 접종하고, 접종 후 3일에 배양물을 재공급하고, 접종 후 5일에 플라스크를 계대배양함으로써 통상적으로 유지하였다. 바이러스 역가를 50%의 조직 배양물 감염량 (TCID₅₀) 분석법을 사용하여 측정하였고 log₁₀TCID₅₀/mL로 정량하였다.
- [0584] 결과
- [0585] 방법 최적화
- [0586] 소규모의 방법 최적화 연구를 플라스크당 1.75×10^6 개의 세포로 SFM중 Vero 세포를 접종한 T-75 플라스크에서 수행하였다. 모든 감염전 배양물을 37 ± 1 °C, 5 ± 1%의 CO₂에서 인큐베이션하고 접종 후 3일 또는 5일에 감염시켰다. 접종 후 5일에 감염시키는 배양물의 경우, SFM을 접종 후 3일째에 완전히 교환하였다. 감염시, 사용된 배지를 b/h PIV3/RSV F2 바이러스를 함유하는 SFM으로 교체하였다. 배양물을 매일 1회 이상 샘플링하고, TCID₅₀에 의해 감염성 바이러스에 대해 분석하였다. 도면에서 오차 막대는 2개의 배양물로부터 얻어진 표준 편차를 나타낸다.
- [0587] 감염 다중도 (MOI)의 영향
- [0588] Vero 배양물을 접종 후 5일째에 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001 및 0.00001의 MOI로 b/h PIV3/RSV F2 바이러스로 감염시켰다. 그 결과로부터 최저 바이러스 역가가 0.0001 및 0.00001의 MOI에서 얻어진다는 것을 알 수 있고, 반면 비교되는 바이러스 역가는 0.1, 0.01 및 0.001의 MOI에서 관찰되었다 (도 18). 실험을 반복하였고 동일한 경향이 관찰되었다.
- [0589] 감염점 (POI) 및 감염 후 온도의 영향
- [0590] Vero 배양물을 2가지의 상이한 세포 밀도로 감염시키고 감염 후 33 ± 1 °C 또는 37 ± 1 °C에서 인큐베이션하였다. 감염성 바이러스 역가가 보다 높은 세포 밀도에서 감염시켰을 때는 증가하지 않았지만, 감염 후 낮은 인큐베이션 온도를 사용하였을 때는 1 log₁₀ TCID₅₀/mL을 초과하여 증가하였다 (도 19). 실험을 반복하였고 동일한 경향이 관찰되었다.

- [0591] 감염전 배지 보충의 효과
- [0592] 감염전 배지에 혈청을 보충함으로써, 감염성 바이러스 역가가 $1 \log_{10}$ TCID₅₀/mL을 초과하여 추가로 증가하였다 (도 20).
- [0593] PIV-3 HN, PIV-3 F, 및 RSV F 바이러스성 단백질의 발현 프로파일
- [0594] 3가지 RSV F2 바이러스성 단백질 - PIV-3 HN, PIV-3 F, 및 RSV F - 의 발현을 면역형광법을 사용하여 Vero 세포 배양물에서의 감염 동안에 모니터링하였다. SFM 중의 세포를 웰당 8×10^3 개의 세포로 다수 개의 96-웰 플레이트에 접종하였다. 접종 후 4일에, 플레이트를 DPBS로 1회 세정하고, 0.001의 MOI에서 b/h PIV3/RSV F2 바이러스로 감염시키고 $33 \pm 1^\circ\text{C}$, $5 \pm 1\%$ 의 CO₂에서 인큐베이션하였다. 감염후 다양한 시간 간격으로, 면역염색 전에 96-웰 플레이트에 파라포름알데히드 (4%)를 고정시켰다. 도 21, 도 22 및 도 23은 3가지 모든 바이러스성 단백질이 SFM중 Vero 세포의 배양물에 의해 발현되었다는 것을 나타낸다. 이들 도면에서 영상은 5배율로 찍은 것이다.
- [0595] 방법 규모 확장
- [0596] 배지 보충 실험을 바틀당 1.75×10^7 개의 세포로 1700 cm² 롤러 바틀 (Roller Bottle) (커밍(Coming))에 Vero 세포를 접종함으로써 반복하였다. 감염성 바이러스 역가가 감염전 혈청을 보충한 배양물에서 현저히 증가하였다 (도 24). 실험을 2회 반복하였고 동일한 경향이 관찰되었다.
- [0597] 요약
- [0598] 중요한 방법 파라미터를 확인하고 소규모의 실험에서 감염 방법을 최적화함으로써, RSV F2 감염성 바이러스 역가가 $1 \log_{10}$ TCID₅₀/mL을 초과하여 증가되었다. b/h PIV3/RSV F2 바이러스 제조 방법을 롤러 바틀 실험에서 성공적으로 규모 확장시켰고 그 결과는 일관성이 있었고 재현가능하였다.
- [0599] **37. 실시예 32: 전기천공법에 의해 무혈청 Vero 세포에서 플라스미드만을 사용하는 PIV3의 회수**
- [0600] 본 실시예에 설명되어 있는 방법으로 헬퍼 바이러스 부재하에, 플라스미드만을 사용하여 재조합 PIV3의 회수가 가능했다. PIV3를 동물 및 인간 유래의 생성물의 부재하에 증식시킨, SF Vero 세포를 사용하여 회수하였다. 이 방법으로 헬퍼 바이러스 (T7 폴리머라제를 발현하는 재조합 백시니아 또는 계두 바이러스)를 사용하는 기존의 방법과 유사한 효능으로 재조합 PIV3의 회수가 가능했다. 헬퍼 바이러스가 상기 회수 방법에서 필요하지 않기 때문에, 백신 바이러스에는 오염원이 없고 하류(downstream) 백신 제조가 간단해졌다. 백신 바이러스 회수를 위해 사용되는 세포를 동물 또는 인간 유래의 생성물을 함유하지 않는 배지에서 성장시켰다. 그에 따라 생성물 최종 사용자들에게 전염성 해면상뇌증 (예를 들어, BSE)에 대한 우려를 없앴다.
- [0601] 이 방법으로 동물 또는 인간 유래의 성분이 전혀 없는 재조합 백신 시드의 제조가 가능해졌다. 시드도 오염성 헬퍼 바이러스를 함유하지 않았다.
- [0602] cDNA로부터 바이러스를 복구하기 위한 플라스미드를 사용하는 발현 시스템은 예를 들어, 문헌 [RA Lerch et al., Wyeth Vaccines, Pearl River NY, USA (이탈리아 피사에서 2003년 6월 14일-19일 개최된 제12회 국제 네가티브 가닥 바이러스 학회의 초록 206)] 및 문헌 [G. Neumann et al., J. Virol., 76, pp 406-410]에 개시되어 있다.
- [0603] 방법 및 결과
- [0604] bPIV3 N 플라스미드 (4 μg , 마커: 카나마이신 내성), bPIV3 P 플라스미드 (4 μg , 마커: 카나마이신 내성), bPIV3 L 플라스미드 (2 μg , 마커: 카나마이신 내성), PIV3 안티게놈 cDNA를 코딩하는 cDNA (5 μg , 마커: 카나마이신 내성) 및 T7 RNA 폴리머라제를 코딩하는 pADT7(N)DpT7 (5 μg , 마커: 블라스티시딘)을 무혈청 배지에서 전기천공법을 사용하여 SF Vero 세포에 도입하였다. bPIV3 N, bPIV3 P, 및 bPIV3 L은 T7 프로모터의 조절하에 pCITE 벡터에 있었다. pADT7(N)DpT7은 T7 프로모터가 결실되어 CMV 프로모터만이 남아 있는 변형된 pcDNA6/V5-His C에 있었다. T7 폴리머라제는 CMV 프로모터로부터 발현되었다. 안티게놈 bPIV3는 pUC19에 있었고 안티게놈의 전사는 T7 프로모터의 조절하에 있었다.
- [0605] 전기천공법을 위한 펄스는 220 V 및 950 마이크로패러드(microfarad)이었다. 전기천공마다 5.5×10^6 개의 SF Vero 세포를 사용하였다. 전기천공된 세포를 밤새 OptiC (김코 인비트로젠 코퍼레이션 (GIBCO Invitrogen

Corporation)으로부터의 시판 제제)의 존재하 33 ℃에서 회수하였다. 회수한 세포를 칼슘 및 마그네슘 함유 PBS 1 mL로 2회 세척하였고 OptiC 2 mL로 덮이게 하였다. 전기천공된 세포를 33 ℃에서 5-7일 동안 더 인큐베이션하였다. 인큐베이션 기간 말기에, 세포를 배지로 스크래핑하고 전체 세포 용해물을 PIV3의 존재에 대해 분석하였다.

[0606] 바이러스 회수를 RSV 또는 hMPV 특이적 폴리클로날 항체를 사용하여 플라크의 면역염색법으로 확인하였다. 전기천공된 세포로부터 얻어진 역가를 표 22 및 표 23에 나타냈다. 표 22로부터 SF Vero 세포로 전기천공함으로써 회수된 상이한 바이러스의 역가를 알 수 있다. 바이러스는 상이한 키메라 소 PIV3이었다. 상이한 키메라 소 PIV3를 코딩하는 cDNA를 갖는 플라스미드는 2번 위치에 인간 RSV의 F 유전자를 갖는 PIV3 (MEDI 534) (플라스미드 상의 마커는 카나마이신임) (2번 위치는 천연 바이러스성 계놈의 제1 및 제2 오픈 리딩 프레임 사이의 위치이거나, 그렇지 않으면 전사될 바이러스성 계놈의 제2 유전자의 위치임), 2번 위치에서 인간 RSV의 횡단막 및 루미날 도메인이 결여된 가용성 형태의 F 유전자를 갖는 소 PIV3 (MEDI 535) (플라스미드 상의 마커는 카나마이신임), 2번 위치에서 인간 메타뉴모바이러스의 F 유전자를 갖는 소 PIV3 (MEDI 536) (플라스미드 상의 마커는 카나마이신임), 2번 위치에서 인간 RSV의 F 유전자를 갖는 소 PIV3 (MEDI 534) (플라스미드 상의 마커는 암피실린임), 2번 위치에서 인간 메타뉴모바이러스의 F 유전자를 갖는 소 PIV3 (MEDI 536) (플라스미드 상의 마커는 암피실린임)이었다.

[0607] 키메라 바이러스 MEDI 534의 경우에, 상이한 조건하에서의 전기천공법에 의한 바이러스 회수를 표 23에 나타냈다. Vero 세포를 역가시험을 위해 혈청의 존재하에 성장시켰다. MEDI 534를 (i) Opti C, (ii) 1X 젠타마이신을 함유하는 Opti C, (iii) Opti MEM (인간 트랜스페린을 함유하는 Opti C)를 사용하여 전기천공시켜 상이한 배지를 사용하여 바이러스 회수의 효능을 시험하였다. 전기천공법을 동일한 SF Vero 세포를 사용하여 동일한 조건하에서 수행하였다. 그 결과로부터 1X 젠타마이신은 바이러스 회수를 완전히 억제하고, 인간 트랜스페린은 바이러스 회수의 효능에 있어서 어떠한 역할도 하지 않는다는 것을 알 수 있다. 박테리아 RNA의 존재 또한 바이러스 회수를 억제하였다. RNase A 처리를 하지 않고 제조한 플라스미드를 사용하여 수행한 전기천공법에서, 바이러스는 회수되지 않았다.

[0608] 표 22 및 표 23에서 P0 및 P1은 바이러스를 지칭한다. P0은 전기천공된 세포로부터 얻어진 바이러스를 나타낸다. P1은 소 태아 혈청의 존재하에 성장한 Vero 세포에서 1회 증폭된 바이러스를 나타낸다. P0 바이러스를 SF Vero 세포에서 증폭시키면 유사한 역가가 얻어졌다.

표 22

[0609]

무혈청 Vero (P17)에서 전기천공법에 의해 회수되고 혈청 함유 Vero 세포에서 계대배양시킨 바이러스 (Medi 543-537). 17대에서 사용된 SF Vero. P0 및 P1은 각각 전기천공 후에 및 Vero 세포에서의 1회 증폭 후에 바이러스의 계대배양물이다.		
백터함유 바이러스*	P0	P1
	log ₁₀ (pfu/ml)	
bh RSVF2 kan (MEDI 534)	3.53	8.40
bh RSVF2 sol kan (MEDI 535)	3.20	8.20
bh hMPVF2 kan (MEDI 536)	>4.00	8.18
bh RSVF2 amp (MEDI 534)	<1.00	8.60
bh hMPVF2 amp (MEDI 536)	4.28	8.34

표 23

[0610]

상이한 조건하에서의 전기천공법에 의한 바이러스 회수	
백터함유 바이러스 ¹	P0 ²
	log ₁₀ (pfu/ml)
MEDI 534 Opti C	3.56
MEDI 534 젠타마이신을 함유하는 Opti C	<0.3
MEDI 534 Opti MEM	4.00

MEDI 534 RNase 무함유 ³	2.90
1 무혈청 Vero (P8)에서 회수되고 혈청 존재하에 성장시킨 Vero 세포에서 역가측정한 바이러스	
2 전기천공된 세포로부터 얻어진 바이러스의 계대배양물	
3 전기천공법은 RNase A 처리 없이 제조된 플라스미드를 사용하여 수행하였다.	

[0611] 본 발명은 본 발명의 각 일면을 단지 예시하기 위한, 구체적으로 기술되어 있는 실시양태에 의해 그 범주가 제한되지 않으며, 기능적으로 등가물인 임의의 구조물, 바이러스 또는 효소가 본 발명의 범주에 포함된다. 실제로, 본원에 도시되어 있고 개시되어 있는 것들 외에도 본 발명의 다양한 변화가 상기 기술내용과 첨부한 도면으로부터 당업자에게 자명할 것이다. 이러한 변화는 첨부된 청구범위의 범주에 포함되어야 한다.

[0612] 다수한 간행물이 본원에 인용되었고, 그 기술내용은 전체가 본원에 참조로 인용된다.

표 24a

서열 목록

- 서열 1 인간 메타뉴모바이러스 단리체 00-1 매트릭스 단백질 (M) 및 융합 단백질 (F) 유전자
- 서열 2 조류 뉴모바이러스 융합 단백질 유전자, 부분 cds (cDNA 서열)
- 서열 3 조류 뉴모바이러스 단리체 1b 융합 단백질 mRNA, 완전한 cds
- 서열 4 융합 단백질 (F1 및 F2 서브유닛)의 칠면조 뇌수막염 바이러스 유전자, 완전한 cds
- 서열 5 조류 뉴모바이러스 매트릭스 단백질 (M) 유전자, 부분 cds 및 조류 뉴모바이러스 융합 당단백질 (F) 유전자, 완전한 cds
- 서열 6 파라믹소바이러스 F 단백질 hRSV B
- 서열 7 파라믹소바이러스 F 단백질 hRSV A2
- 서열 8 인간 메타뉴모바이러스 01-71 (부분 서열)
- 서열 9 인간 메타뉴모바이러스 단리체 00-1 매트릭스 단백질 (M) 및 융합 단백질 (F) 유전자
- 서열 10 조류 뉴모바이러스 융합 단백질 유전자, 부분 cds
- 서열 11 조류 뉴모바이러스 단리체 1b 융합 단백질 mRNA, 완전한 cds
- 서열 12 융합 단백질 (F1 및 F2 서브유닛)의 칠면조 뇌수막염 바이러스 유전자, 완전한 cds
- 서열 13 조류 뉴모바이러스 융합 당단백질 (F) 유전자, 완전한 cds
- 서열 14 칠면조 뇌수막염 바이러스 (균주 CVL14/1) 부착 단백질 (G)

[0613]

표 24b

	mRNA, 완전한 cds
서열 15	칠면조 뇌수막염 바이러스 (균주 6574) 부착 단백질 (G), 완전한 cds
서열 16	칠면조 뇌수막염 바이러스 (균주 CVL14/1) 부착 단백질 (G) mRNA, 완전한 cds
서열 17	칠면조 뇌수막염 바이러스 (균주 6574) 부착 단백질 (G), 완전한 cds
서열 18	HMPV 단리체 NL/1/00의 F 단백질 서열
서열 19	HMPV 단리체 NL/17/00의 F 단백질 서열
서열 20	HMPV 단리체 NL/1/99의 F 단백질 서열
서열 21	HMPV 단리체 NL/1/94의 F 단백질 서열
서열 22	HMPV 단리체 NL/1/00의 F 유전자 서열
서열 23	HMPV 단리체 NL/17/00의 F 유전자 서열
서열 24	HMPV 단리체 NL/1/99의 F 유전자 서열
서열 25	HMPV 단리체 NL/1/94의 F 유전자 서열
서열 26	HMPV 단리체 NL/1/00의 G 단백질 서열
서열 27	HMPV 단리체 NL/17/00의 G 단백질 서열
서열 28	HMPV 단리체 NL/1/99의 G 단백질 서열
서열 29	HMPV 단리체 NL/1/94의 G 단백질 서열
서열 30	HMPV 단리체 NL/1/00의 G 유전자 서열

[0614]

표 24c

서열 31	HMPV 단리체 NL/17/00의 G 유전자 서열
서열 32	HMPV 단리체 NL/1/99의 G 유전자 서열
서열 33	HMPV 단리체 NL/1/94의 G 유전자 서열
서열 34	HMPV 단리체 NL/1/00의 L 단백질 서열
서열 35	HMPV 단리체 NL/17/00의 L 단백질 서열
서열 36	HMPV 단리체 NL/1/99의 L 단백질 서열
서열 37	HMPV 단리체 NL/1/94의 L 단백질 서열
서열 38	HMPV 단리체 NL/1/00의 L 유전자 서열
서열 39	HMPV 단리체 NL/17/00의 L 유전자 서열
서열 40	HMPV 단리체 NL/1/99의 L 유전자 서열
서열 41	HMPV 단리체 NL/1/94의 L 유전자 서열
서열 42	HMPV 단리체 NL/1/00의 M2-1 단백질 서열
서열 43	HMPV 단리체 NL/17/00의 M2-1 단백질 서열
서열 44	HMPV 단리체 NL/1/99의 M2-1 단백질 서열
서열 45	HMPV 단리체 NL/1/94의 M2-1 단백질 서열
서열 46	HMPV 단리체 NL/1/00의 M2-1 유전자 서열
서열 47	HMPV 단리체 NL/17/00의 M2-1 유전자 서열
서열 48	HMPV 단리체 NL/1/99의 M2-1 유전자 서열
서열 49	HMPV 단리체 NL/1/94의 M2-1 유전자 서열
서열 50	HMPV 단리체 NL/1/00의 M2-2 단백질 서열

[0615]

표 24d

서열 51	HMPV 단리체 NL/17/00의 M2-2 단백질 서열
서열 52	HMPV 단리체 NL/1/99의 M2-2 단백질 서열
서열 53	HMPV 단리체 NL/1/94의 M2-2 단백질 서열
서열 54	HMPV 단리체 NL/1/00의 M2-2 유전자 서열
서열 55	HMPV 단리체 NL/17/00의 M2-2 유전자 서열
서열 56	HMPV 단리체 NL/1/99의 M2-2 유전자 서열
서열 57	HMPV 단리체 NL/1/94의 M2-2 유전자 서열
서열 58	HMPV 단리체 NL/1/00의 M2 유전자 서열
서열 59	HMPV 단리체 NL/17/00의 M2 유전자 서열
서열 60	HMPV 단리체 NL/1/99의 M2 유전자 서열
서열 61	HMPV 단리체 NL/1/94의 M2 유전자 서열
서열 62	HMPV 단리체 NL/1/00의 M 단백질 서열
서열 63	HMPV 단리체 NL/17/00의 M 단백질 서열
서열 64	HMPV 단리체 NL/1/99의 M 단백질 서열
서열 65	HMPV 단리체 NL/1/94의 M 단백질 서열
서열 66	HMPV 단리체 NL/1/00의 M 유전자 서열
서열 67	HMPV 단리체 NL/17/00의 M 유전자 서열
서열 68	HMPV 단리체 NL/1/99의 M 유전자 서열
서열 69	HMPV 단리체 NL/1/94의 M 유전자 서열
서열 70	HMPV 단리체 NL/1/00의 N 단백질 서열

[0616]

표 24e

서열 71	HMPV 단리체 NL/17/00의 N 단백질 서열
서열 72	HMPV 단리체 NL/1/99의 N 단백질 서열
서열 73	HMPV 단리체 NL/1/94의 N 단백질 서열
서열 74	HMPV 단리체 NL/1/00의 N 유전자 서열
서열 75	HMPV 단리체 NL/17/00의 N 유전자 서열
서열 76	HMPV 단리체 NL/1/99의 N 유전자 서열
서열 77	HMPV 단리체 NL/1/94의 N 유전자 서열
서열 78	HMPV 단리체 NL/1/00의 P 단백질 서열
서열 79	HMPV 단리체 NL/17/00의 P 단백질 서열
서열 80	HMPV 단리체 NL/1/99의 P 단백질 서열
서열 81	HMPV 단리체 NL/1/94의 P 단백질 서열
서열 82	HMPV 단리체 NL/1/00의 P 유전자 서열
서열 83	HMPV 단리체 NL/17/00의 P 유전자 서열
서열 84	HMPV 단리체 NL/1/99의 P 유전자 서열
서열 85	HMPV 단리체 NL/1/94의 P 유전자 서열
서열 86	HMPV 단리체 NL/1/00의 SH 단백질 서열
서열 87	HMPV 단리체 NL/17/00의 SH 단백질 서열
서열 88	HMPV 단리체 NL/1/99의 SH 단백질 서열
서열 89	HMPV 단리체 NL/1/94의 SH 단백질 서열
서열 90	HMPV 단리체 NL/1/00의 SH 유전자 서열

[0617]

표 24f

서열 91	HMPV 단리체 NL/17/00의 SH 유전자 서열
서열 92	HMPV 단리체 NL/1/99의 SH 유전자 서열
서열 93	HMPV 단리체 NL/1/94의 SH 유전자 서열
서열 94	단리체 NL/1/99 (99-1) HMPV (인간 메타뉴모바이러스)cDNA 서열
서열 95	단리체 NL/1/00(00-1) HMPV cDNA 서열
서열 96	단리체 NL/17/00 HMPV cDNA 서열
서열 97	단리체 NL/1/94 HMPV cDNA 서열
서열 98	단리체 NL/1/00 (A1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 99	단리체 BR/2/01 (A1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 100	단리체 FL/4/01 (A1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 101	단리체 FL/3/01 (A1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 102	단리체 FL/8/01 (A1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 103	단리체 FL/10/01 (A1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 104	단리체 NL/10/01 (A1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 105	단리체 NL/2/02 (A1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 106	단리체 NL/17/00 (A2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 107	단리체 NL/1/81 (A2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 108	단리체 NL/1/93 (A2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 109	단리체 NL/2/93 (A2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 110	단리체 NL/3/93 (A2)의 G 유전자 코딩 서열

[0618]

표 24g

서열 111	단리체 NL/1/95 (A2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 112	단리체 NL/2/96 (A2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 113	단리체 NL/3/96 (A2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 114	단리체 NL/22/01 (A2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 115	단리체 NL/24/01(A2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 116	단리체 NL/23/01 (A2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 117	단리체 NL/29/01 (A2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 118	단리체 NL/3/02 (A2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 119	단리체 NL/1/99 (B1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 120	단리체 NL/11/00 (B1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 121	단리체 NL/12/00 (B1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 122	단리체 NL/5/01 (B1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 123	단리체 NL/9/01 (B1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 124	단리체 NL/21/01 (B1)의 G 유전자 코딩 서열
서열 125	단리체 NL/1/94 (B2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 126	단리체 NL/1/82 (B2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 127	단리체 NL/1/96 (B2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 128	단리체 NL/6/97 (B2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 129	단리체 NL/9/00 (B2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 130	단리체 NL/3/01 (B2)의 G 유전자 코딩 서열

[0619]

표 24h

서열 131	단리체 NL/4/01 (B2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 132	단리체 UK/5/01 (B2)의 G 유전자 코딩 서열
서열 133	단리체 NL/1/00 (A1)의 G 단백질 서열
서열 134	단리체 BR/2/01 (A1)의 G 단백질 서열
서열 135	단리체 FL/4/01 (A1)의 G 단백질 서열
서열 136	단리체 FL/3/01 (A1)의 G 단백질 서열
서열 137	단리체 FL/8/01 (A1)의 G 단백질 서열
서열 138	단리체 FL/10/01 (A1)의 G 단백질 서열
서열 139	단리체 NL/10/01 (A1)의 G 단백질 서열
서열 140	단리체 NL/2/02 (A1)의 G 단백질 서열
서열 141	단리체 NL/17/00 (A2)의 G 단백질 서열
서열 142	단리체 NL/1/81 (A2)의 G 단백질 서열
서열 143	단리체 NL/1/93 (A2)의 G 단백질 서열
서열 144	단리체 NL/2/93 (A2)의 G 단백질 서열
서열 145	단리체 NL/3/93 (A2)의 G 단백질 서열
서열 146	단리체 NL/1/95 (A2)의 G 단백질 서열
서열 147	단리체 NL/2/96 (A2)의 G 단백질 서열
서열 148	단리체 NL/3/96 (A2)의 G 단백질 서열
서열 149	단리체 NL/22/01 (A2)의 G 단백질 서열
서열 150	단리체 NL/24/01 (A2)의 G 단백질 서열

[0620]

표 24i

서열 151	단리체 NL/23/01 (A2)의 G 단백질 서열
서열 152	단리체 NL/29/01 (A2)의 G 단백질 서열
서열 153	단리체 NL/3/02 (A2)의 G 단백질 서열
서열 154	단리체 NL/1/99 (B1)의 G 단백질 서열
서열 155	단리체 NL/11/00 (B1)의 G 단백질 서열
서열 156	단리체 NL/12/00 (B1)의 G 단백질 서열
서열 157	단리체 NL/5/01 (B1)의 G 단백질 서열
서열 158	단리체 NL/9/01 (B1)의 G 단백질 서열
서열 159	단리체 NL/21/01 (B1)의 G 단백질 서열
서열 160	단리체 NL/1/94 (B2)의 G 단백질 서열
서열 161	단리체 NL/1/82 (B2)의 G 단백질 서열
서열 162	단리체 NL/1/96 (B2)의 G 단백질 서열
서열 163	단리체 NL/6/97 (B2)의 G 단백질 서열
서열 164	단리체 NL/9/00 (B2)의 G 단백질 서열
서열 165	단리체 NL/3/01 (B2)의 G 단백질 서열
서열 166	단리체 NL/4/01 (B2)의 G 단백질 서열
서열 167	단리체 NL/5/01 (B2)의 G 단백질 서열
서열 168	단리체 NL/1/00의 F 유전자 코딩 서열
서열 169	단리체 UK/1/00의 F 유전자 코딩 서열
서열 170	단리체 NL/2/00의 F 유전자 코딩 서열

[0621]

표 24j

서열 171	단리체 NL/13/00의 F 유전자 코딩 서열
서열 172	단리체 NL/14/00의 F 유전자 코딩 서열
서열 173	단리체 FL/3/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 174	단리체 FL/4/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 175	단리체 FL/8/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 176	단리체 UK/1/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 177	단리체 UK/7/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 178	단리체 FL/10/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 179	단리체 NL/6/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 180	단리체 NL/8/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 181	단리체 NL/10/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 182	단리체 NL/14/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 183	단리체 NL/20/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 184	단리체 NL/25/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 185	단리체 NL/26/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 186	단리체 NL/28/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 187	단리체 NL/30/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 188	단리체 BR/2/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 189	단리체 BR/3/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 190	단리체 NL/2/02의 F 유전자 코딩 서열

[0622]

표 24k

서열 191	단리체 NL/4/02의 F 유전자 코딩 서열
서열 192	단리체 NL/5/02의 F 유전자 코딩 서열
서열 193	단리체 NL/6/02의 F 유전자 코딩 서열
서열 194	단리체 NL/7/02의 F 유전자 코딩 서열
서열 195	단리체 NL/9/02의 F 유전자 코딩 서열
서열 196	단리체 FL/1/02의 F 유전자 코딩 서열
서열 197	단리체 NL/1/81의 F 유전자 코딩 서열
서열 198	단리체 NL/1/93의 F 유전자 코딩 서열
서열 199	단리체 NL/2/93의 F 유전자 코딩 서열
서열 200	단리체 NL/4/93의 F 유전자 코딩 서열
서열 201	단리체 NL/1/95의 F 유전자 코딩 서열
서열 202	단리체 NL/2/96의 F 유전자 코딩 서열
서열 203	단리체 NL/3/96의 F 유전자 코딩 서열
서열 204	단리체 NL/1/98의 F 유전자 코딩 서열
서열 205	단리체 NL/17/00의 F 유전자 코딩 서열
서열 206	단리체 NL/22/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 207	단리체 NL/29/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 208	단리체 NL/23/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 209	단리체 NL/17/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 210	단리체 NL/24/01의 F 유전자 코딩 서열

[0623]

표 241

서열 211	단리체 NL/3/02의 F 유전자 코딩 서열
서열 212	단리체 NL/3/98의 F 유전자 코딩 서열
서열 213	단리체 NL/1/99의 F 유전자 코딩 서열
서열 214	단리체 NL/2/99의 F 유전자 코딩 서열
서열 215	단리체 NL/3/99의 F 유전자 코딩 서열
서열 216	단리체 NL/11/00의 F 유전자 코딩 서열
서열 217	단리체 NL/12/00의 F 유전자 코딩 서열
서열 218	단리체 NL/1/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 219	단리체 NL/5/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 220	단리체 NL/9/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 221	단리체 NL/19/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 222	단리체 NL/21/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 223	단리체 UK/11/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 224	단리체 FL/1/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 225	단리체 FL/2/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 226	단리체 FL/5/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 227	단리체 FL/7/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 228	단리체 FL/9/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 229	단리체 UK/10/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 230	단리체 NL/1/02의 F 유전자 코딩 서열

[0624]

표 24m

서열 231	단리체 NL/1/94의 F 유전자 코딩 서열
서열 232	단리체 NL/1/96의 F 유전자 코딩 서열
서열 233	단리체 NL/6/97의 F 유전자 코딩 서열
서열 234	단리체 NL/7/00의 F 유전자 코딩 서열
서열 235	단리체 NL/9/00의 F 유전자 코딩 서열
서열 236	단리체 NL/19/00의 F 유전자 코딩 서열
서열 237	단리체 NL/28/00의 F 유전자 코딩 서열
서열 238	단리체 NL/3/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 239	단리체 NL/4/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 240	단리체 NL/11/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 241	단리체 NL/15/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 242	단리체 NL/18/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 243	단리체 FL/6/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 244	단리체 UK/5/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 245	단리체 UK/8/01의 F 유전자 코딩 서열
서열 246	단리체 NL/12/02의 F 유전자 코딩 서열
서열 247	단리체 HK/1/02의 F 유전자 코딩 서열
서열 248	단리체 NL/1/00의 F 단백질 서열
서열 249	단리체 UK/1/00의 F 단백질 서열
서열 250	단리체 NL/2/00의 F 단백질 서열

[0625]

표 24n

서열 251	단리체 NL/13/00의 F 단백질 서열
서열 252	단리체 NL/14/00의 F 단백질 서열
서열 253	단리체 FL/3/01의 F 단백질 서열
서열 254	단리체 FL/4/01의 F 단백질 서열
서열 255	단리체 FL/8/01의 F 단백질 서열
서열 256	단리체 UK/1/01의 F 단백질 서열
서열 257	단리체 UK/7/01의 F 단백질 서열
서열 258	단리체 FL/10/01의 F 단백질 서열
서열 259	단리체 NL/6/01의 F 단백질 서열
서열 260	단리체 NL/8/01의 F 단백질 서열
서열 261	단리체 NL/10/01의 F 단백질 서열
서열 262	단리체 NL/14/01의 F 단백질 서열
서열 263	단리체 NL/20/01의 F 단백질 서열
서열 264	단리체 NL/25/01의 F 단백질 서열
서열 265	단리체 NL/26/01의 F 단백질 서열
서열 266	단리체 NL/28/01의 F 단백질 서열
서열 267	단리체 NL/30/01의 F 단백질 서열
서열 268	단리체 BR/2/01의 F 단백질 서열
서열 269	단리체 BR/3/01의 F 단백질 서열
서열 270	단리체 NL/2/02의 F 단백질 서열

[0626]

표 24o

서열 271	단리체 NL/4/02의 F 단백질 서열
서열 272	단리체 NL/5/02의 F 단백질 서열
서열 273	단리체 NL/6/02의 F 단백질 서열
서열 274	단리체 NL/7/02의 F 단백질 서열
서열 275	단리체 NL/9/02의 F 단백질 서열
서열 276	단리체 FL/1/02의 F 단백질 서열
서열 277	단리체 NL/1/81의 F 단백질 서열
서열 278	단리체 NL/1/93의 F 단백질 서열
서열 279	단리체 NL/2/93의 F 단백질 서열
서열 280	단리체 NL/4/93의 F 단백질 서열
서열 281	단리체 NL/1/95의 F 단백질 서열
서열 282	단리체 NL/2/96의 F 단백질 서열
서열 283	단리체 NL/3/96의 F 단백질 서열
서열 284	단리체 NL/1/98의 F 단백질 서열
서열 285	단리체 NL/17/00의 F 단백질 서열
서열 286	단리체 NL/22/01의 F 단백질 서열
서열 287	단리체 NL/29/01의 F 단백질 서열
서열 288	단리체 NL/23/01의 F 단백질 서열
서열 289	단리체 NL/17/01의 F 단백질 서열
서열 290	단리체 NL/24/01의 F 단백질 서열

[0627]

표 24p

서열 291	단리체 NL/3/02의 F 단백질 서열
서열 292	단리체 NL/3/98의 F 단백질 서열
서열 293	단리체 NL/1/99의 F 단백질 서열
서열 294	단리체 NL/2/99의 F 단백질 서열
서열 295	단리체 NL/3/99의 F 단백질 서열
서열 296	단리체 NL/11/00의 F 단백질 서열
서열 297	단리체 NL/12/00의 F 단백질 서열
서열 298	단리체 NL/1/01의 F 단백질 서열
서열 299	단리체 NL/5/01의 F 단백질 서열
서열 300	단리체 NL/9/01의 F 단백질 서열
서열 301	단리체 NL/19/01의 F 단백질 서열
서열 302	단리체 NL/21/01의 F 단백질 서열
서열 303	단리체 UK/11/01의 F 단백질 서열
서열 304	단리체 FL/1/01의 F 단백질 서열
서열 305	단리체 FL/2/01의 F 단백질 서열
서열 306	단리체 FL/5/01의 F 단백질 서열
서열 307	단리체 FL/7/01의 F 단백질 서열
서열 308	단리체 FL/9/01의 F 단백질 서열
서열 309	단리체 UK/10/01의 F 단백질 서열
서열 310	단리체 NL/1/02의 F 단백질 서열

[0628]

표 24q

서열 311	단리체 NL/1/94의 F 단백질 서열
서열 312	단리체 NL/1/96의 F 단백질 서열
서열 313	단리체 NL/6/97의 F 단백질 서열
서열 314	단리체 NL/7/00의 F 단백질 서열
서열 315	단리체 NL/9/00의 F 단백질 서열
서열 316	단리체 NL/19/00의 F 단백질 서열
서열 317	단리체 NL/28/00의 F 단백질 서열
서열 318	단리체 NL/3/01의 F 단백질 서열
서열 319	단리체 NL/4/01의 F 단백질 서열
서열 320	단리체 NL/11/01의 F 단백질 서열
서열 321	단리체 NL/15/01의 F 단백질 서열
서열 322	단리체 NL/18/01의 F 단백질 서열
서열 323	단리체 FL/6/01의 F 단백질 서열
서열 324	단리체 UK/5/01의 F 단백질 서열
서열 325	단리체 UK/8/01의 F 단백질 서열
서열 326	단리체 NL/12/02의 F 단백질 서열
서열 327	단리체 HK/1/02의 F 단백질 서열

[0629]

도면의 간단한 설명

[0091]

4. 도면의 설명

[0092]

도 1. 상이한 조류 뉴모바이러스로부터의 상이한 F 단백질을 갖는 인간 메타뉴모바이러스의 F 단백질의 아미노산 서열의 쌍별 정렬. 2개 서열 사이에서 동일한 아미노산은 아미노산의 1문자-기호로 나타내었다. 2개 아미노산 서열 사이에서 보존된 아미노산 교환은 "+" 기호로 나타내었고, 빈칸은 비-보존된 아미노산 교환을 나타낸다. A) 말라드 덕(Mallard Duck)으로부터 단리된 조류 뉴모바이러스의 F 단백질과 인간 메타뉴모바이러스 F 단백질의 정렬 (엑토도메인에서 85.6% 동일함). B) 터키(Turkey)로부터 단리된 조류 뉴모바이러스의 F 단백질과 인간 메타뉴모바이러스 F 단백질의 정렬 (하위그룹 B; 엑토도메인에서 75% 동일함).

[0093]

도 2. b/h PIV3 키메라 바이러스의 3종의 상이한 단리물로부터 유래된 nt 5255 내지 nt 6255의 PCR 단편을 증폭시켰다. 생성된 1 kb DNA 단편을 인간 PIV3의 F 유전자에 특이적인 효소로 소화시켰다. 이들 효소는 소 PIV3의 상응하는 단편에서는 절단 작용을 나타내지 않는다. 1% 아가로스 겔은 소화되지 않은 단편 (레인 2, 5 및 6), SacI 소화된 단편 (레인 4 및 6) 및 BgIII 소화된 단편 (레인 9, 10 및 11)을 보여준다. 레인 10의 샘플은 소화되지 않았지만, BgIII에 의한 소화를 반복한 후에는 절단되었다 (테이타는 나타내지 않음). 레인 1 및 8은 DNA 크기 마커를 나타낸다.

[0094]

도 3. b/h PIV3 키메라 바이러스의 3종의 상이한 단리물로부터 유래된 nt 9075 내지 nt 10469의 PCR 단편을 증폭시켰다. 생성된 1.4 kb DNA 단편을 소 PIV3의 L 유전자에 특이적인 효소로 소화시켰다. 이들 효소는 인간 PIV3의 상응하는 단편에서는 절단 작용을 나타내지 않는다. 1% 아가로스 겔은 소화되지 않은 1.4 kb 단편 (레

인 2, 5 및 6)을 보여준다. BamH1 및 PvuII에 의해 소화되어 생성된 더 작은 DNA 단편은 레인 3, 4, 6, 7, 9 및 10에 나타난다. 레인 1은 DNA 크기 마커를 나타낸다.

[0095] 도 4. bPIV3/hPIV3 벡터 및 b/h PIV3 벡터함유 RSV F 또는 G cDNA를 비롯한 6종의 구조물을 나타낸다. 소 PIV3 F 유전자 및 HN 유전자가 결실되어 각각 인간 PIV3 F 및 HN 유전자로 대체되었다. RSV F 또는 G 유전자는 1번 위치 또는 2번 위치로 클로닝되었다. RSV F1* (N-N)을 제외한 모든 RSV 유전자는 bPIV3 N-P 유전자간 영역에 연결되었고, RSV F1* (N-N)에서는 뒷쪽에 보다 짧은 bPIV3 N 유전자 정지/N 유전자 출발 서열이 존재한다.

[0096] 도 5. b/h PIV3 벡터함유 RSV F 또는 G 유전자는 위치 효과를 나타내었다. (A)는 키메라 바이러스로 감염된 세포 용균물의 웨스턴 블롯 분석이다. F 단백질은 RSV F 단백질에 대한 모노클로날 항체 (MAb)를 사용하여 검출하였고, G 단백질은 RSV G 단백질에 대한 폴리클로날 항체 (PAb)를 사용하여 검출하였다. F₁ 단편을 나타내는 50 kDa 밴드가 모든 키메라 바이러스로 감염된 세포 뿐만 아니라 야생형 RSV로 감염된 세포에서도 검출되었다. 키메라 바이러스의 감염된 세포 용균물에서는 야생형 RSV에 비해 26 kDa F 단편이 보다 많이 축적되어 있었다. 레인 1을 제외하고는 0.1의 MOI로 실험을 수행하였고, 레인 1에서는 b/h PIV3 벡터함유 RSV F1* N-N 감염을 보다 높은 1.0의 MOI로 반복하였다. 대략 50 kDa 및 90 kDa로 이동된 RSV G 단백질의 미성숙 및 글리코실화된 형태가 둘다 검출되었다. (B)는 노던 블롯 분석이며, 이는 도 5A에서 입증된 단백질 발현 결과와 상관관계가 있는 mRNA 전사를 보여준다. 등량의 총 RNA를 1% 포름알데히드를 함유하는 1% 아가로스 겔 상에서 분리하고 나일론 막으로 이동시켰다. 상기 블롯을 디옥시제닌 (DIG) RNA 표지 키트를 이용하여 시험관내 전사에 의해 합성된 DIG-UTP-표지된 리보프로브로 혼성화시켰다. (C) 및 (D)는 b/h PIV3 벡터함유 RSV F 또는 G 단백질을 포함하는 키메라 바이러스의 Vero 세포에서의 성장 곡선이다. Vero 세포를 90% 전면성장까지 성장시키고, 0.01 또는 0.1의 MOI로 감염시켰다. 감염된 단층을 37°C에서 인큐베이션하였다. 각 수거 시점에서의 바이러스 역가를 TCID₅₀ 검정법으로 측정하였고, 이는 37°C에서 6일 동안 인큐베이션한 후에 CPE를 가시적으로 검사함으로써 수행하였다.

[0097] 도 6. b/h PIV3 벡터함유 개선된 녹색 형광 단백질 (eGFP) 구조물. eGFP 유전자를 b/h PIV3 벡터로 PIV3의 모든 유전자 (여기서는 1, 2, 3 및 4번 위치만 나타냄) 사이에 순차적으로 도입하였다. eGFP 유전자를 bPIV3 N-P 유전자간 영역에 연결시켰다. b/h GFP 1 구조물은 b/h PIV3 게놈에서 3'쪽의 가장 근접한 위치에 eGFP 유전자 카세트를 보유하였다. b/h GFP 2 구조물은 N 유전자와 P 유전자 사이에 eGFP 유전자 카세트를 함유하였다. b/h GFP 3 구조물은 P 유전자와 M 유전자 사이에 eGFP 유전자 카세트를 함유하였으며, b/h GFP4 구조물은 b/h PIV3의 M과 F 사이에 eGFP 유전자를 함유하였다.

[0098] 도 7. b/h PIV3 게놈에서 개선된 녹색 형광 단백질 (eGFP) 삽입에 의한 위치 효과. (A)는 Vero 세포를 b/h PIV3 벡터함유 eGFP 1, 2 및 3으로 MOI 0.1 및 MOI 0.01로 20시간 동안 감염시킨 후에 생성된 녹색 세포의 양을 나타낸다. 녹색 세포는 형광 현미경을 이용하여 가시화하였다. (B)는 감염된 세포 용균물의 웨스턴 블롯 분석이다. 상기 블롯을 GFP MAb 및 PIV3 PAb로 프로빙하였다. 또한, PIV3 항체를 사용하여 블롯이 동일한 부피로 로딩되도록 했다. (C)는 b/h PIV3 벡터함유 GFP 구조물 (1, 2 및 3번 위치)의 Vero 세포에서의 성장 곡선을 나타낸다.

[0099] 도 8. 상이한 유전자간 영역을 갖는 b/h PIV3 벡터함유 RSV F 유전자의 구조물. RSV F1* N-N, RSV F2 N-P 및 RSV F1 N-P의 3종의 구조물은 각각 도 4의 RSV F* (N-N), RSV F2 및 RSV F1과 동일하였다. RSV F1* N-N에서 N 유전자 출발 서열과 N 유전자 번역 출발 코돈 사이의 거리는 단지 10개 뉴클레오티드 (nt) 길이에 불과하였다. 반면, RSV F2 구조물에서는 이 거리가 86개 nt 길이였다. 또한, RSV F1* N-N은 N 유전자 출발 서열을 사용한 반면, RSV F2 구조물에서는 P 유전자 출발 서열을 사용하였다.

[0100] 도 9. 삽입된 RSV 유전자의 유전자간 영역 하류의 길이 및(또는) 특성은 바이러스 복제에 영향을 주었다. (A) 키메라 바이러스에서의 RSV F 단백질 발현에 대한 웨스턴 블롯 분석. 블롯을 RSV F 단백질에 대한 모노클로날 항체로 프로빙하였다. RSV F1 구조물에 의해 발현되고 감염 후 24 및 48시간에 측정된 F1 단백질 수준은 RSV F2 구조물에서 관찰된 수준에 가까웠으나, RSV F1* N-N 구조물에서의 수준보다는 훨씬 높았다. (B)는 0.1의 MOI로 감염시킨 Vero 세포에서 RSV F1, RSV F1* N-N 및 RSV F2 구조물의 바이러스 복제 역학을 비교한 다순환 성장 곡선이다. 각 수거 시점에서의 바이러스 역가를 플라크 검정법으로 측정하였고, 이는 5일 동안 인큐베이션한 후에 정량화를 위해 RSV 폴리클로날 항혈청으로 면역염색함으로써 수행하였다.

- [0101] 도 10. b/h PIV3 벡터함유 RSV F 및 hMPV F의 3가 구조물. 키메라 b/h PIV3 벡터 및 메타뉴모바이러스 F 유전자로부터 유래된 제1 이중 서열 및 호흡기 합포체 바이러스 F 유전자로부터 유래된 제2 이중 서열을 포함하는 2종의 각 바이러스 게놈을 도 10에 나타내었다. 상기 구조물 중 어느 하나를 갖는 바이러스를 Vero 세포내에서 증폭시켰다. 기재된 바와 같이 유전자조작된 바이러스는 과라닌플루엔자 바이러스 감염, 메타뉴모바이러스 감염 및 호흡기 합포체 바이러스 감염에 대한 3가 백신으로서 사용할 수 있다.
- [0102] 도 11. 2종의 RSV F 유전자를 보유하는 구조물. 이 구조물을 사용하면, 햄스터에서의 RSV F 단백질 생성 및 복제 및 면역원성에 대한 바이러스 성장 역학을 결정할 수 있다.
- [0103] 도 12. 키메라 b/h PIV3 벡터함유 hMPV F 구조물. 인간 메타뉴모바이러스 (hMPV)의 F 유전자를 b/h PIV3 게놈의 1번 위치 또는 2번 위치에 삽입하였다. hMPV F 유전자 카세트는 bPIV3 N-P 유전자간 영역을 보유하였다.
- [0104] 도 13. b/h PIV3 벡터함유 hMPV F 유전자 (2번 위치 또는 1번 위치)의 면역침전 및 복제 검정법. (A)는 기니아 피그 또는 인간 항-hMPV 항혈청을 사용한 hMPV F 단백질의 면역침전을 나타낸다. b/h PIV3 벡터함유 hMPV F2 및 hMPV F1의 용균물에서는 대략 80 kDa로 이동한 특이적인 밴드가 관찰되었다. 이 크기는 F 전구체 단백질인 F₀에 상응한다. 또한, b/h PIV3 및 모방(mock) 대조군 레인에서도 상이한 크기의 비-특이적 밴드가 관찰되었다. (B)는 b/h PIV3/hMPV F2의 바이러스 복제 역학을 측정하고 이를 0.1의 MOI로 감염시킨 Vero 세포내의 b/h PIV3 및 b/h PIV3/RSV F2에 대해 관찰된 것과 비교하기 위해 수행한 성장 곡선을 나타낸다. (C) 및 (D)는 b/h PIV3/hMPV F2의 바이러스 복제 역학을 측정하고 이를 0.01 또는 0.1의 MOI로 감염시킨 Vero 세포내의 b/h PIV3/hMPV F2에 대해 관찰된 것과 비교하기 위해 수행한 성장 곡선을 나타낸다.
- [0105] 도 14. (A) 및 (B): b/h PIV3 벡터함유 RSV F 백신 후보물의 바이러스 RNA 게놈의 도면. b/h PIV3/RSV F2는 PIV3 게놈의 2번 위치에 천연 RSV F 유전자를 함유하였으며, b/h PIV3/줄 RSV F2는 막형단 도메인 및 세포질 도메인이 없는 가용성 RSV F를 발현하였다. RSV F 단백질의 막형단 도메인 및 세포질 꼬리의 제거는 C-말단에서 50개 아미노산을 결실시킴으로써 달성하였다. 50개 아미노산 결실을 제외하고는, 줄 RSV F 유전자 카세트의 PIV3 유전자 정지 서열 및 유전자 출발 서열은 변경하지 않아서 RSV F2 및 줄 RSV F2 유전자 카세트는 동일하였다. 줄 RSV F 단백질은 바이러스 입자 외피에 혼입될 수 없을 것으로 예상되었다.
- [0106] 도 15. 면역염색된 b/h PIV3/hMPV F1 및 b/h PIV3/hMPV F2. (A) b/h PIV3/hMPV F1 바이러스를 회석하여 전면 성장 이전의 Vero 세포 감염에 사용하였다. 감염된 세포를 젠타마이신을 함유하는 옵티MEM 배지로 덮고, 35°C에서 5일 동안 인큐베이션하였다. 세포를 고정시키고 기니아 피그 항-hMPV 혈청으로 면역염색하였다. AEC 기질 시스템 존재하에서의 특이적 색 발색에 의해 hMPV F의 발현이 가시화되었다. (B) b/h PIV3/hMPV F2 바이러스를 회석하여 Vero 세포 감염에 사용하였다. 감염된 세포를 EMEM/L-15 배지 중 1% 메틸 셀룰로스 (미국 캔자스 레넥사 소재의 JRH 바이오사이언시즈(Biosciences))로 덮었다. 세포를 인큐베이션하고 고정시킨 후, 항-hMPV 기니아 피그 혈청으로 면역염색하였다. 항-hMPV 기니아 피그 혈청은 hMPV 001 단백질에 대해 특이적이었다.
- [0107] 도 16. b/h PIV3 벡터에 포함된 RSV 유전자의 수크로스 구배 상의 비리온 분획화. 이들 일련의 실험은 RSV 단백질이 b/h PIV3 비리온 내에 혼입되었는지를 조사한다. (A)는 유리 RSV F (바칼로바이러스에 생성되고 C-종결 말단절단됨)의 제어 구배를 나타낸다. 대부분의 유리 RSV F는 분획 3, 4, 5 및 6에 존재하였다. (B)는 가장 큰 농도의 RSV 비리온이 분획 10, 11 및 12에서 관찰되었다는 것을 나타낸다. RSV 분획은 RSV 폴리클로날 항혈청 뿐만 아니라 RSV F MAb로 프로빙되었다. 가장 많은 양의 RSV 비리온을 함유하는 분획은 또한 RSV F에 대해서 가장 큰 신호를 나타내었으며, 이는 RSV F 단백질이 RSV 비리온과 함께 이주하고 RSV 비리온과 회합하였다는 것을 시사한다. (B) 상의 마지막 도면은 또한 분획 10, 11 및 12가 플라크 검정에 의한 가장 큰 바이러스 역가를 나타내었다는 것을 제시한다. (C) b/h PIV3 비리온은 보다 다형일 수 있어, b/h PIV3 비리온을 함유하는 피크 분획의 전개가 보다 넓었다. (D) b/h PIV3/RSV F2의 수크로스 구배 분획을 PIV 폴리클로날 항혈청 및 RSV F MAb 모두로 분석하였다. 대부분의 비리온을 함유하는 분획은 PIV3 항혈청을 사용하는 웨스턴에 의해 나타나는 바와 같이 분획 11, 12, 13 및 14이었다. 대응하게, 이들은 또한 가장 많은 양의 RSV F 단백질을 나타낸 분획이었다. 일부 유리 RSV F는 또한 분획 5 및 6에 존재하였다. 분획 11, 12, 13 및 14는 피크 바이러스 역가를 나타내었다. (E) b/h PIV3/RSV G2의 가장 많은 비리온을 함유하는 분획 (9, 10, 11 및 12)은 또한 RSV G 단백질에 대해 가장 강한 신호를 나타내었다. 게다가, 이들은 가장 높은 바이러스 역가를 갖는 분획이었다.
- [0108] 도 17. 14일부터 56일까지의 AGM 영양류 연구 계획의 개략적인 개요. 혈청을 지시된 시점 (화살표)에서 수집하였다. 1일에 최초 백신접종 (vaccination) 및 28일에 RSV 접종 투여가 지시되어 있다.

- [0109] 도 18. 감염성 바이러스 역가에 대한 MOI의 효과. 배양물을 감염후 37±1 °C 및 5±1 % CO₂에서 인큐베이션 하였다.
- [0110] 도 19. 감염성 바이러스 역가에 대한 POI 및 감염후 온도의 효과. Vero 배양물을 시딩 후 3일째에 (1.1×10⁷ 세포/플라스크) 또는 시딩 후 5일째에 (3.3×10⁷ 세포/플라스크) b/h PIV3/RSV F2 바이러스로 MOI 0.01로 감염 시켰다.
- [0111] 도 20. 감염성 바이러스 역가에 대한 혈청의 감염전 투여의 효과. Vero 세포를 다음 조건 중 하나에서 감염전 3일 동안 배양하였다. (a) 4 mM 글루타민이 보충된 OPTI PRO SFM, (b) 4 mM 글루타민 및 0.5 % (v/v) 혈청이 보충된 OPTI PRO SFM, 및 (c) 4 mM 글루타민 및 2 % (v/v) 혈청이 보충된 OPTI PRO SFM. 감염전에, 기진한 배양 배지를 제거하고, 세포를 DPBS로 세정하였다. 배양물을 b/h PIV3/PSV F2 바이러스로 MOI 0.001로 감염시키고, 감염후 33±1 °C 및 5±1 % CO₂에서 인큐베이션하였다.
- [0112] 도 21. PIV-3 HN 바이러스 단백질의 발현 프로파일. 세포를 감염후 여러 시간에서 고정화하고 (각각 36 hpi, 60 hpi, 88 hpi, 112 hpi, 130 hpi 및 155 hpi), 마우스 기원의 PIV-3 HN 모노클로날 항체와 함께 인큐베이션한 후, 형광 표시된 염소 항-마우스 항체와 함께 인큐베이션하였다.
- [0113] 도 22. PIV-3 F 바이러스 단백질의 발현 프로파일. 세포를 감염후 여러 시간에서 고정화하고 (각각 36 hpi, 60 hpi, 88 hpi, 112 hpi, 130 hpi 및 155 hpi), 마우스 기원의 PIV 3-F 모노클로날 항체와 함께 인큐베이션한 후, 형광 표시된 염소 항-마우스 항체와 함께 인큐베이션하였다.
- [0114] 도 23. RSV F 바이러스 단백질의 발현 프로파일. 세포를 감염후 여러시간에서 고정화하고 (각각 36 hpi, 60 hpi, 88 hpi, 112 hpi, 130 hpi 및 155 hpi), 인간 기원의 RSV F 모노클로날 항체와 함께 인큐베이션한 후, 형광 표시된 염소 항-인간 항체와 함께 인큐베이션하였다.
- [0115] 도 24. 감염성 바이러스 역가에 대한 혈청의 감염전 첨가의 효과. Vero 세포를 다음 조건 중 하나에서 감염전 3일 동안 롤러 바틀 (Roller Bottle)의 이중 세트에서 배양하였다. (a) 4 mM 글루타민이 보충된 OPTI PRO SFM, (b) 4 mM 글루타민 및 0.5 % (v/v) 혈청이 보충된 OPTI PRO SFM, 및 (c) 4 mM 글루타민 및 2 % (v/v) 혈청이 보충된 OPTI PRO SFM.

도면

도면1

```

인간 1 MSWKVVIIIFSLILITPQHGLKESYLEBSCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTC 60
MSWKVV++ LL TP GL+ESYLEBSCST+T GYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTC
조류 1 MSWKVVLILLVLLATPTGGLEESYLEBSCSTVTRGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTC 60

인간 61 ADGPSLIKTELDLTKSALRELRITVSADQLAREEQIENPROSRFVLGAIALGVATAAAVTA 120
DGPSLI+TEL+LTK+AL EL+TV ADQLA+E +I +PR++RFVLGAIALGVAT AAVTA
조류 61 TDGPSLIRTELELTKNALBELKTVFADQLAKEARIMSPRIKARFVLGATAGVATTAAVTA 120

인간 121 GVAIAKTIRLESEVTAIKNALKKTNEAVSTLNGVVRVLATAVRELKDFVSKNLTRAINKN 180
GVAIAKTIRLE EV AI+ AL+ TNEAVSTLNGVVRVLATAV +LKDF+SK LT AINKN
조류 121 GVAIAKTIRLEGEVAAIRGALRNTNEAVSTLNGVVRVLATAVNDLKFISKKLTFAINKN 180

인간 181 KCDIADLKMAYVSFSQFNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMTDAELARAVSNMPTSGAQ 240
KCDI+DLKMAVSF Q+NRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMTDAEL RAVSNMPTS+GQ
조류 181 KCDISDLKMAYVSFGQYNNRRFLNVVRQFSDNAGITPAISLDLMTDAELVRAVSNMPTSSGQ 240

인간 241 IKMLLENRAMVRRKGFGLIGVYGSVYIMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAAPSCSGKKGNYA 300
I'LMLENRAMVRRKGFGLIGVYGSVYIMVQLPIFGVIDTPCW VKAAP CSGK G+YA
조류 241 INMLLENRAMVRRKGFGLIGVYGSVYIMVQLPIFGVIDTPCWVKAAPLCSGKDGSSYA 300

인간 301 CLLREDQGWYCCQAGSTVYYPNEKDCETRGDHFVCDTAAGINVAEQSKECNINISTINY 360
C LREDQGWYCCQAGSTVYYPNE+DC R DHVFCDTAAGINVA++S+ECN NISTT YP
조류 301 CPLREDQGWYCCQAGSTVYYPNEEDCVVRSDHFVCDTAAGINVAKESEECNINISTTKYP 360

인간 361 CKVSTGRHPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIKQNLKQCSYITNQDADTVTI 420
CKVSTGRHPISMVALSPLGALVACY GVSIGSN+VGII+ L KGCSYI+NQDADTVTI
조류 361 CKVSTGRHPISMVALSPLGALVACYDGVSCSIGSNKVGIIIRBLGKCSYISNQDADTVTI 420

인간 421 DNTVYQLSKVEGEQHVIKGRPVSSSFDPVKFPEDQFNVALDQVFESIENSQALVDQSNRI 480
DNTVYQLSKVEGEQH IKG+PVSS+FDP++FPEDQFN+ALDQVFES+E S+ L+DQSN+I
조류 421 DNTVYQLSKVEGEQHTIKGKPVSSNFDPIEFPEQFNIALDQVFESVSKNLIDQSNKI 480

인간 481 LSSAEKNGTGFIIIVILIAVLGSTMILVSVFIIKKTKRPTGAPPPELGGVTN 532
L S EKGN GF+IVI LI +L + V +F ++KK K 'P E++GV N
조류 481 LDSTEKGNAGFVIVIALIVLLMLAAVGVGIFVVKRKAAPKPFMEWNGVNN 532

```


도면1-1

```

인간 1 MSWKVVIIFSLITPQHGLKESYLEESCSTITEGYLSVLRTGWYTNVFTLEVGDVENLTC 60
M ++ ++ L+ P ++E+Y BEESCST+T GY SVLRTGWYTNVF LE+G+VEN+TC
철면조 1 MDVRICLLLFILSNPSSCIQETYNRESCSTVTRGYKSVLRTGWYTNVFNLEIGNVENITC 60

인간 61 ADGPSLIKTELDTKSAALRELRTVSADQLAREEQIENPROSRFVLGAIALGVATAAAVTA 120
DGPSLI TEL LTK+ALREL+TVSADQ+A+E ++ +PR+ RFVLGAIALGVATAAAVTA
철면조 61 NDGPSLIDTELVIATKNALRELKTVSADQVAKESRLSSPERRRFVLGAIALGVATAAAVTA 120

인간 121 GVAIAKTIRLESEVTAIKNALKKINEAVSTLGNVVRVLATAVRELKDFVSKMLTRAINKN 180
GVA+AKTIRLE EV AIKNAL+ TNEAVSTLGNVVRVLATAV +LK+K+SK LT AIN+N
철면조 121 GVALAKTIRLEGEVKAIKNALRNTNEAVSTLGNVVRVLATAVNDLKEFISKKLTFAINQN 180

인간 181 KCDIADLKMAVSFSQFNREFLNVVRQFSDNAGITPAISLDMTDAELARAVSNMPTSAGQ 240
KC+IAD+KMA+SF Q NRRFLNVVRQFSD+AGIT A+$LDMTD EL RA++ MPTS+GQ
철면조 181 KCDIADIKMAISFGQNNRRFLNVVRQFSDSAGITSAVSLDMTDDELVRRAINRMPTSSGQ 240

인간 241 IKLMLNRRAMVRRKGFGLIGVYGSSVIYVMVQLPIFGVIDTPCWIVKAAPSCSGKKGNYA 300
I LML NRAMVRRKGFGLIGVY +V+YVMVQLPIFGVI+TPCW V AAP C +KGNYA
철면조 241 ISLMLNRRAMVRRKGFGLIGVYDGTVVYVMVQLPIFGVIETPCWVVAAPLCRKEKGNYA 300

인간 301 CILREDQGWYCNAGSTVYYPNEKDCETRGDHFVCDTAAGINVAQSKECNINISTNY 360
C+LREDQGWYC NAGST YYPN+ DCE R D+VFCDTAAGINVA + ++CN NIST+ YP
철면조 301 CILREDQGWYCNAGSTAYYPNKDDCEVRDDYVFCDTAAGINVALEVEQCQNYNISTSKYP 360

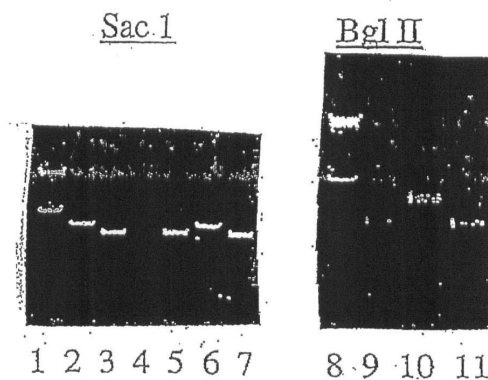
인간 361 CKVSTGRHPISMVALSPLGALVACYKGVSCSIGSNRVGIKQLNKGCSTYITNQDADVTI 420
CKVSTGRHP+SMVAL+PLG LV+CY+ VSCSIGSN+VGIKQL KGC++I N +ADT+TI
철면조 361 CKVSTGRHPVSMVALTPLGGLVSCYBSVSCSIGSNKVGIIKQLGKCTHIPNEADTITI 420

인간 421 DNTVYQLSKVEGEQHVIKRPFVSSSPDPVKFPEDQFNVALDQVFESIENSQALVDQSNRI 480
DNTVYQLSKV GEQ IKG PV ++F+P+ FPEDQFNVALDQVFESI+ SQ L+D+SN +
철면조 421 DNTVYQLSKVVGEQRTIKGAPVNNFNPILFPEDQFNVALDQVFESIDRSQDLIDKSNDL 480

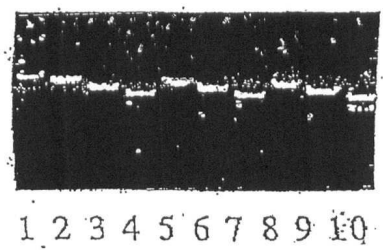
인간 481 LSSAEKNGTGFIIVIIIAVLGSTMILVSVFII--IKTKRPTGAPPELSGVTNNGFI 536
L + K G I I+++ +LG +L ++ ++KTK P P +G ++ ++
철면조 481 LGADAKSKAGIAIAIVVLVILGIFLLAVIYYCSRVRKTK-PKHDYFATGHSSMAYV 537

```

도면2

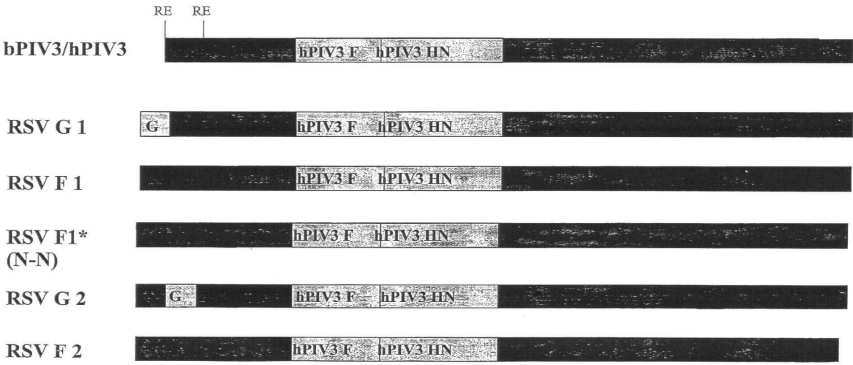


도면3



도면4

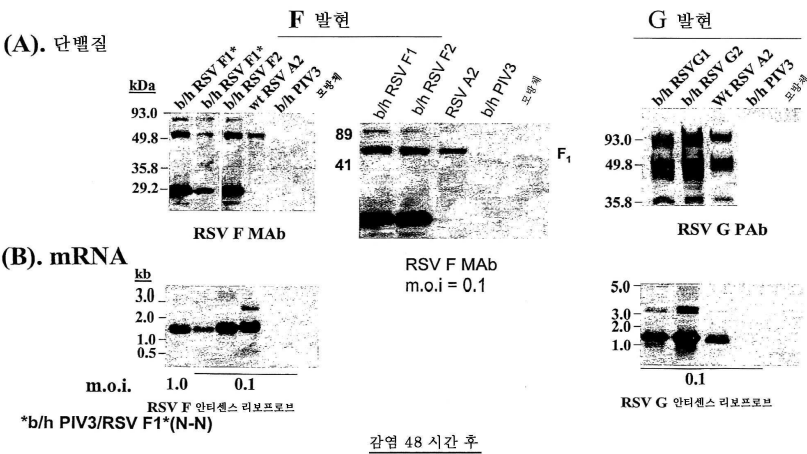
복구된 bPIV3/hPIV3- 벡터 함유 RSV 구조물



주해: 모든 RSV 유전자는 RSV F1*를 제외하고는 bPIV3 N-P 유전자간 영역에, 이어서 보다 짧은 bPIV3 N 유전자
정지/N 유전자 출발 서열에 연결되어 있음

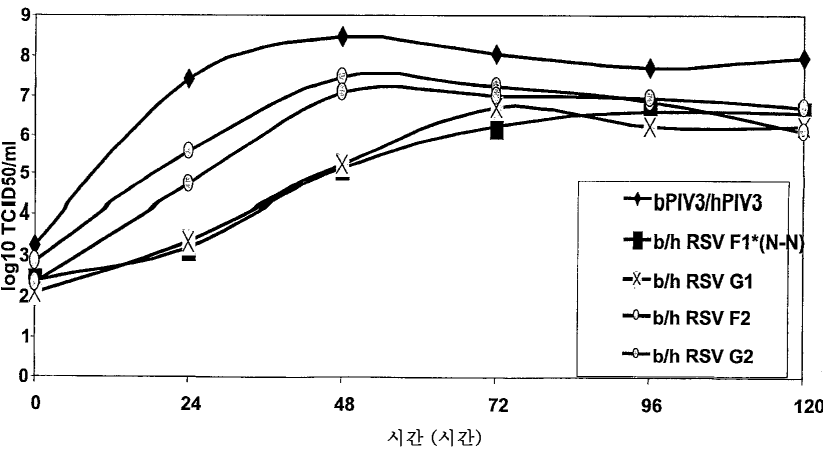
도면5

키메라 소/인간 PIV3으로부터 RSV F 및 G mRNA 및 단백질의 발현



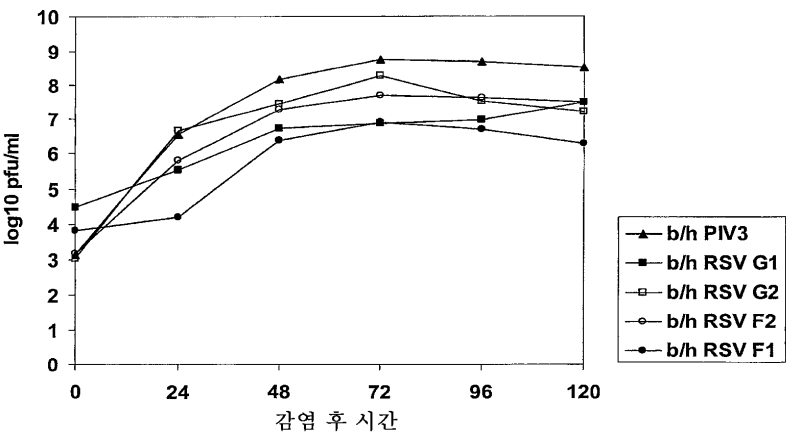
도면5C

Vero 세포에서의 성장 곡선 , MOI = 0.01



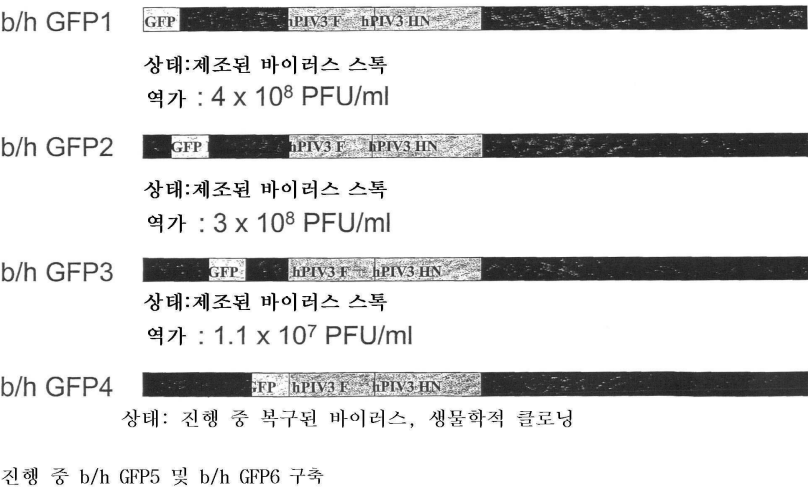
도면5D

Vero 세포에서의 성장 곡선, MOI = 0.1

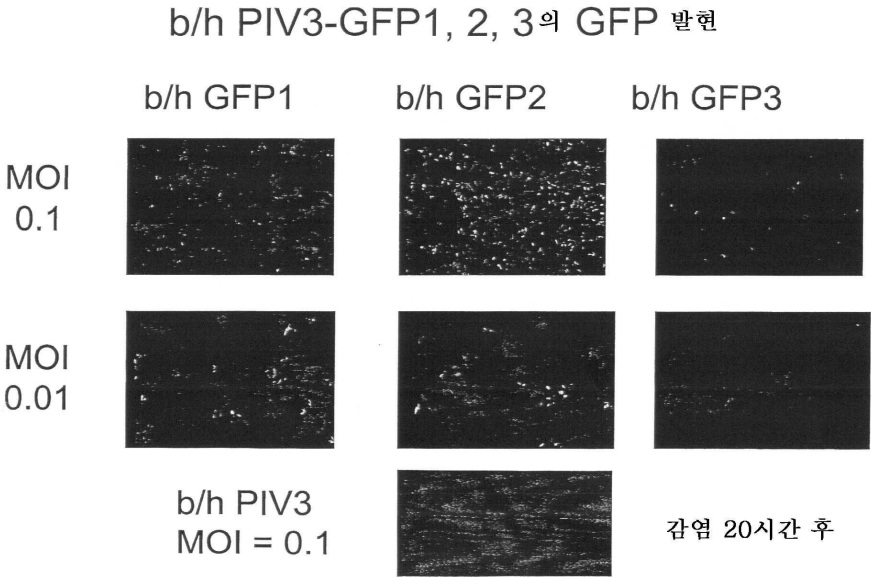


도면6

바이러스 복제에 대한 PIV3 계통 내 eGFP삽입의 위치적 효과

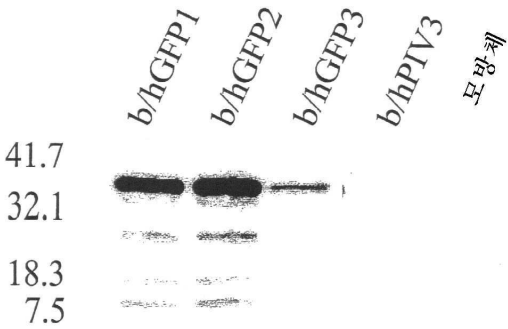


도면7A



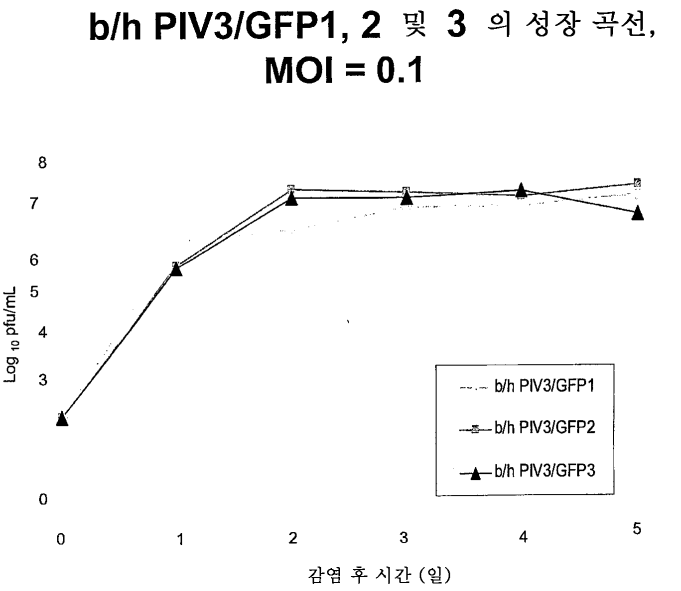
도면7B

1, 2, 3 위치 내 b/h PIV3에서의 eGFP 발현

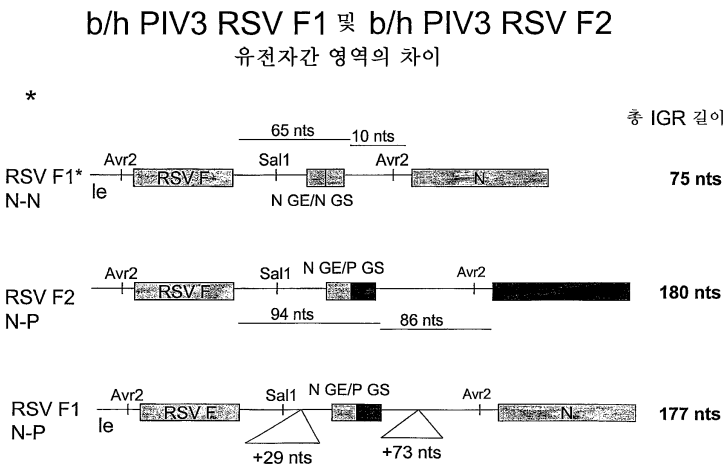


Vero 세포 내 MOI=0.1
감염 24시간 후

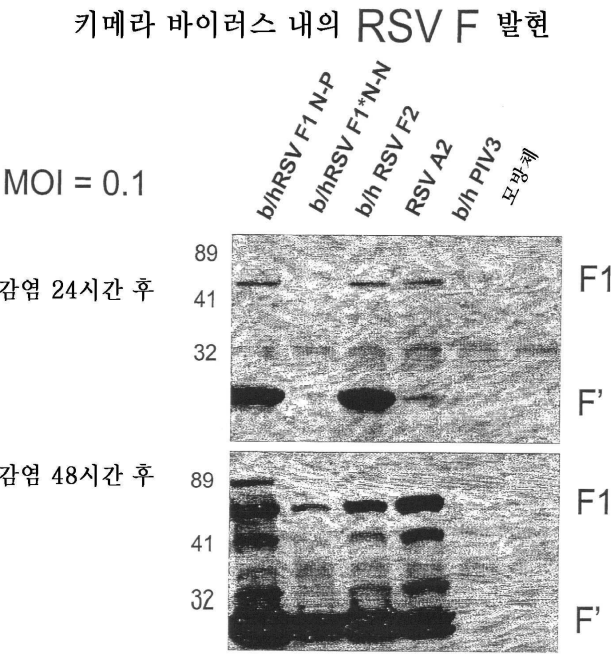
도면7C



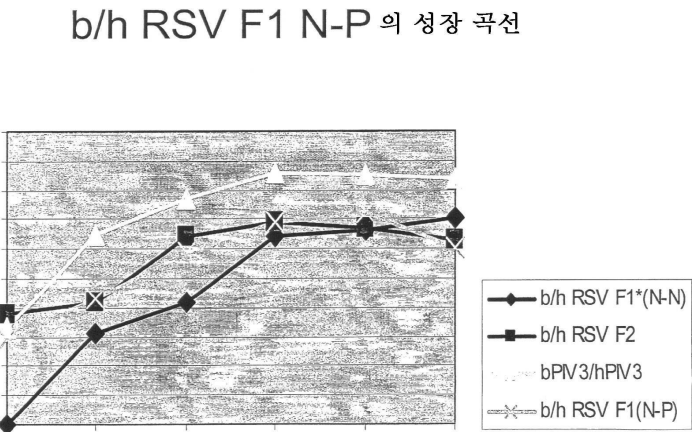
도면8



도면9A

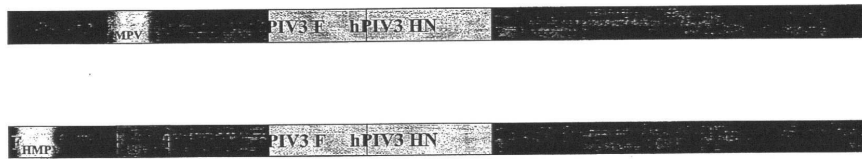


도면9B



도면10

3가 bPIV3/hPIV3 벡터 함유 구조물



상태:구조물은 복구되었고, 바이러스는 Vero 세포 내에서 증폭되고 있음

도면11

두 RSV의 b/h PIV3 벡터로의 클로닝



상태:바이러스 역가 = 1.0×10^6 PFU/ml

목적: 두 RSV F 유전자가 면역원성을 증가시키는지 여부에 대한 연구

도면12

bPIV3/hPIV3 벡터 함유 hMPV F 구조물

1. b/h PIV3/hMPV F1



상태 : 생성된 바이러스 스톡
역가 : 5×10^6 PFU/ml

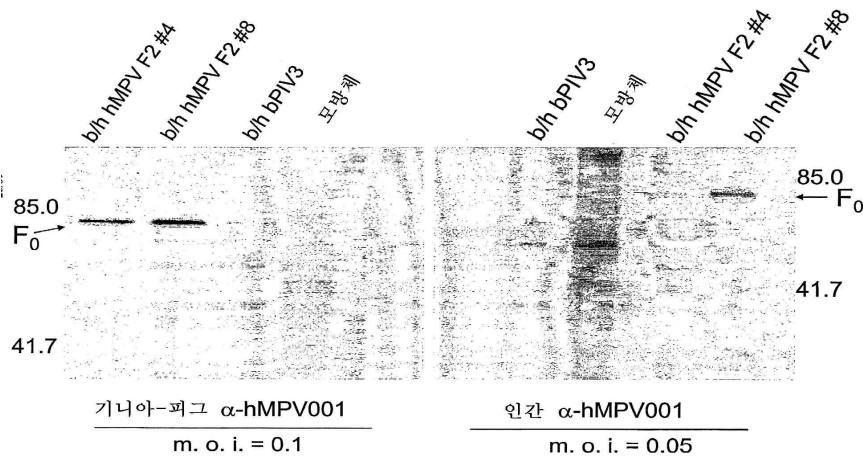
2. b/h PIV3/hMPV F2



상태 : 생성된 바이러스 스톡
역가 : 1.5×10^7 PFU/ml

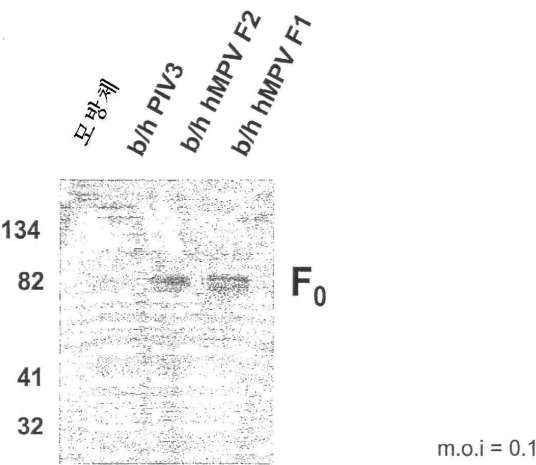
도면13A

hMPV F 의 면역침전



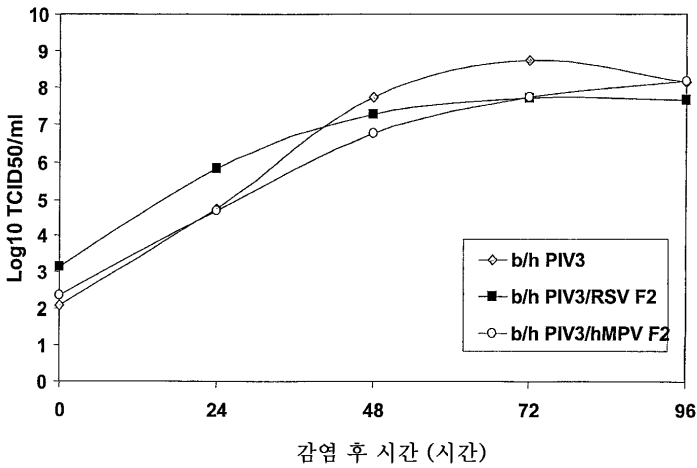
도면13A-1

hMPV F의 면역침전



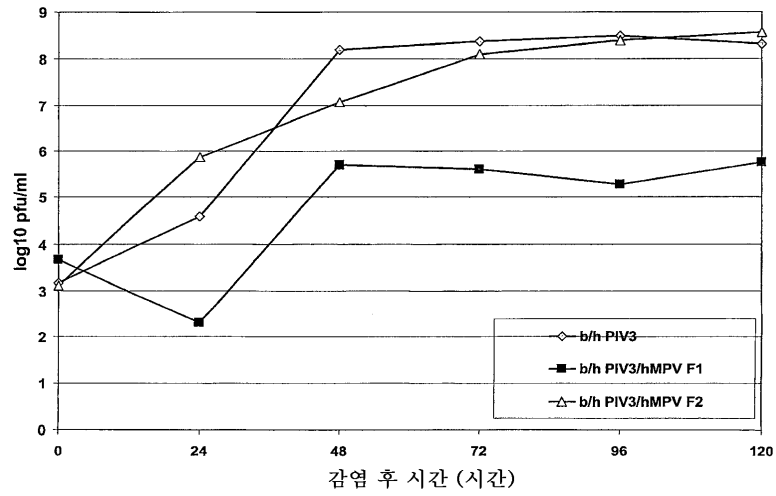
도면13B

Vero 세포 내 **b/h PIV3/hMPV F2**의 성장 곡선,
= 0.1



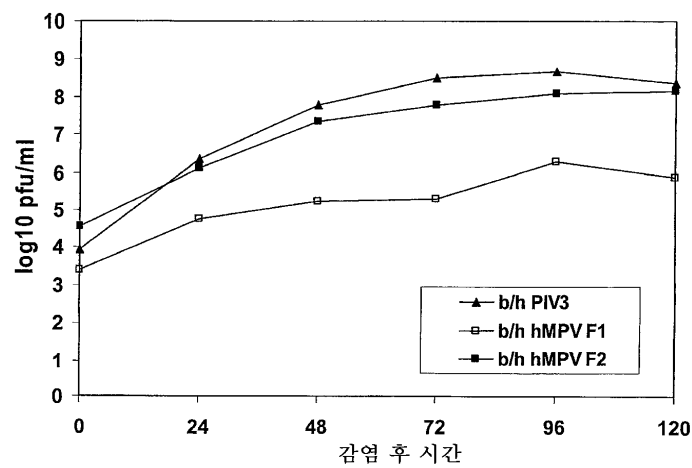
도면13C

Vero 세포 내 b/h PIV3/hMPV F1 및 F2 의 성장 곡선,
MOI = 0.01



도면13D

Vero세포 내 b/h PIV3/hMPV F1 및 F2 의 성장 곡선,
MOI = 0.1



도면14

가용성 RSV F 유전자의 클로닝



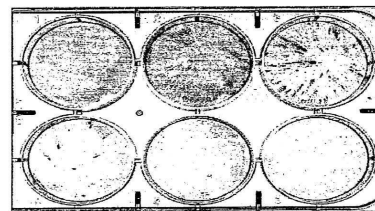
상태:총 길이의 cDNA가 생성되고 있음.
 목적:막과 세포 내 도메인이 없는 가용성 RSV F 단백질이
 면역원성인가의 여부에 대한 연구

도면15

면역 염색된 b/h PIV3/hMPV F1
 및 b/h PIV3/hMPV F2

b/h PIV3/hMPV F1

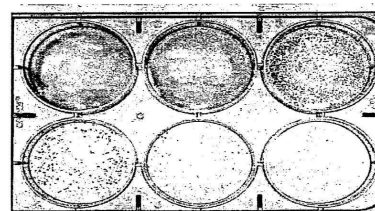
- Vero 세포 상의 액체 중첩
- 10^{-2} 내지 10^{-7} 로 한계 희석
- hMPV gp 항 혈청으로 면역 염색



A

b/h PIV3/hMPV F2

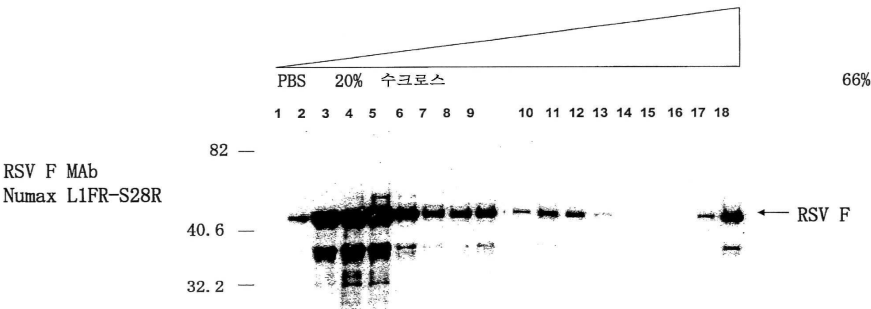
- Vero 세포 상의 메틸 셀룰로스 중첩
- 10^{-2} 내지 10^{-7} 로 플라크 분석
- 항 혈청으로 면역 염색



B

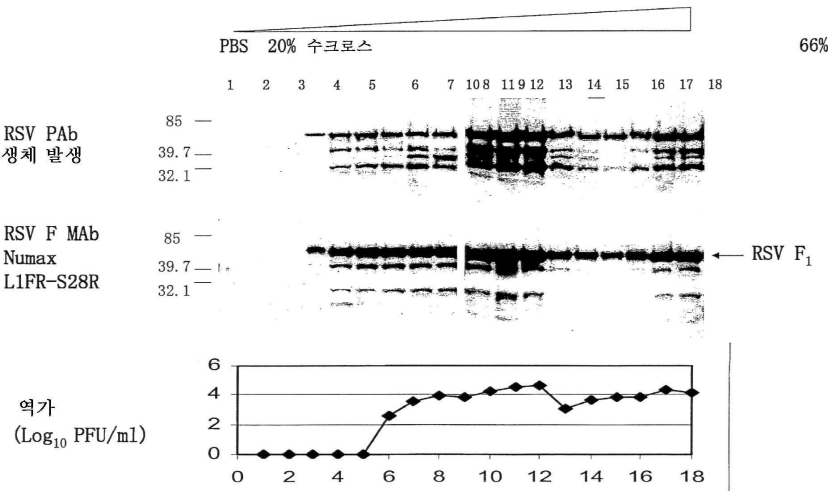
도면16A

20 - 66% 수크로스 구배 중 유리 RSV F 단백질
(발현된 바클로바이러스 ; C 말단 절단)

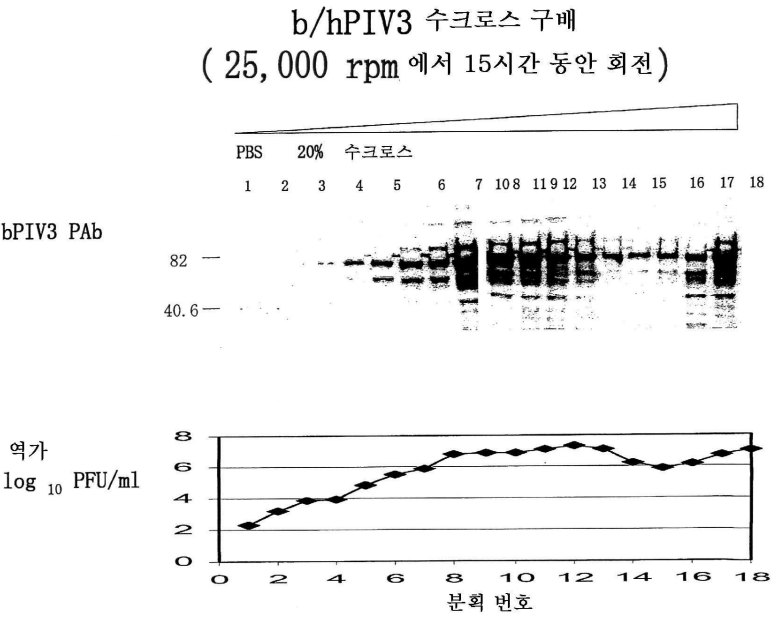


도면16B

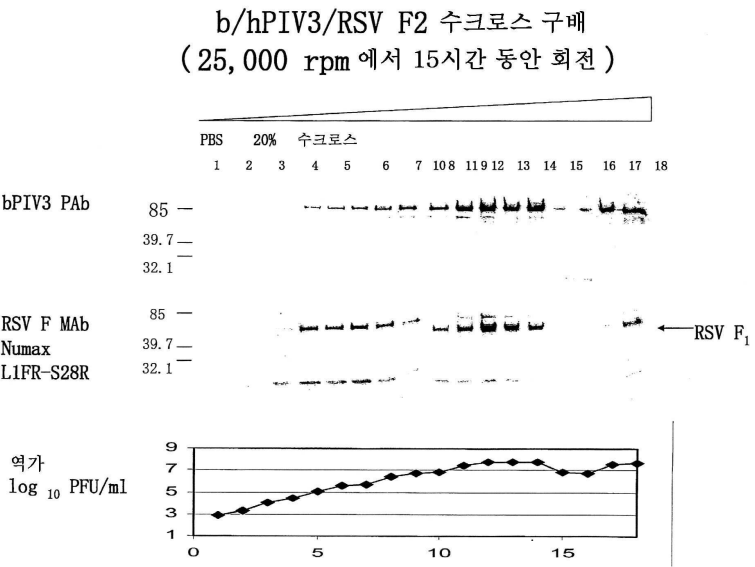
RSV 수크로스 구배
(25, 000 rpm 에서 15시간 동안 회전)



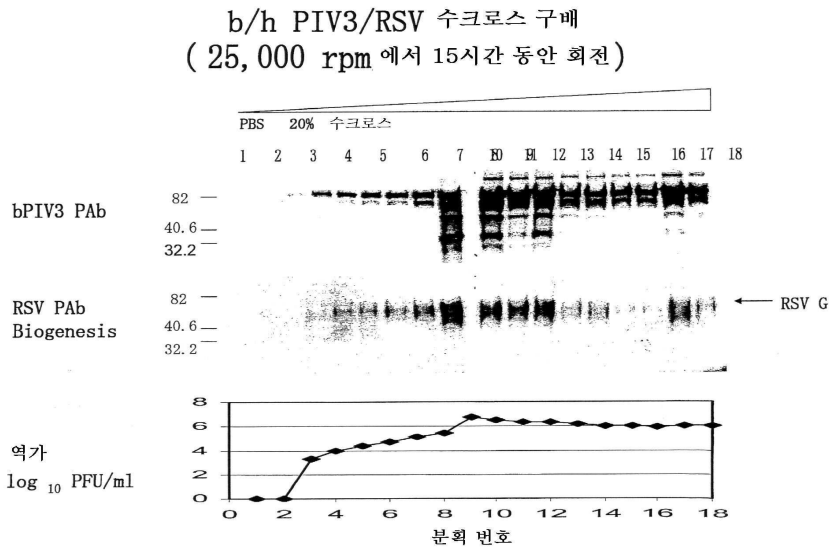
도면16C



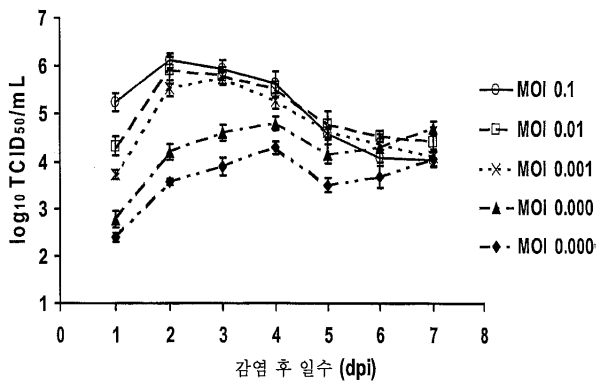
도면16D



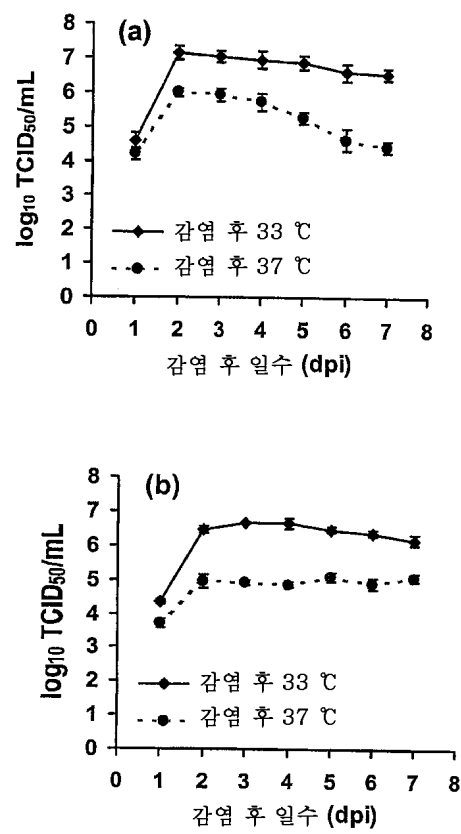
도면16E



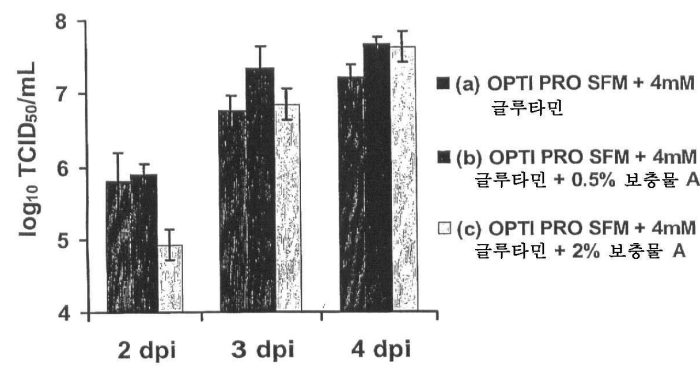
도면17



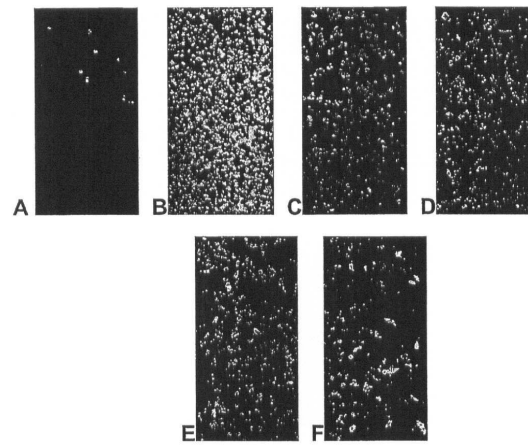
도면18



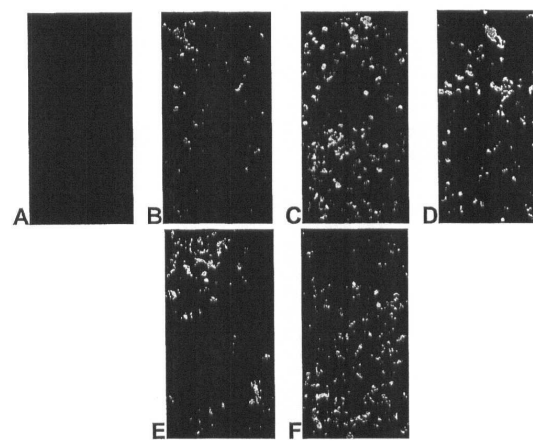
도면19



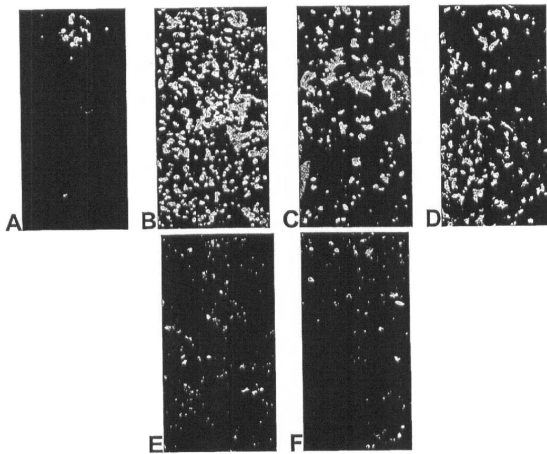
도면20



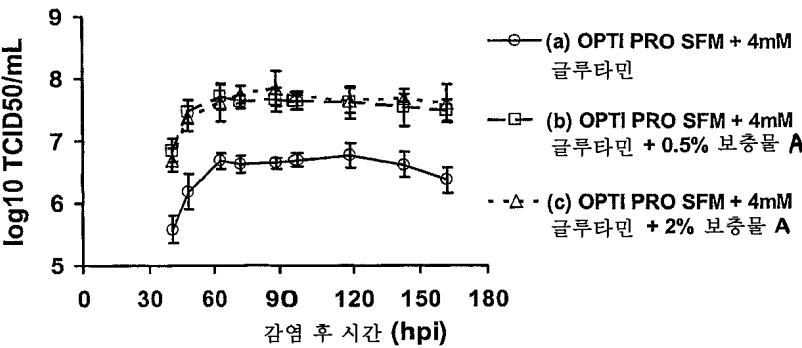
도면21



도면22



도면23



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> MedImmune Vaccine, Inc.
ViroNovative BV
- <120> RECOMBINANT PARAINFLUENZA VIRUS EXPRESSION SYSTEMS AND VACCINES
COMPRISING HETEROLOGOUS ANTIGENS DERIVED FROM METAPNEUMOVIRUS
- <130> 7682-111-228
- <140>
- <141>

<150> 60/466,181
<151> 2003-04-25

<150> 60/499,274
<151> 2003-08-28

<150> 60/550,931
<151> 2004-03-05

<160> 327

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 2507
<212> DNA
<213> metapneumovirus

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(2507)
<223> Human metapneumovirus isolate 00-1 matrix protein
(M) and fusion protein (F) genes

<400> 1
atggagtcct acctagtaga cacctatcaa ggcattcctt acacagcagc tgttcaagtt 60
gatctaataag aaaaggacct gttacctgca agcctaacaa tatggttccc ttgttttcag 120
gccaacacac caccagcagt gctgctcgat cagctaaaaa cctgacaat aaccactctg 180
tatgtctgcat cacaaaaatgg tccaatactc aaagtgaatg catcagccca aggtgcagca 240
atgtctgtac ttcccaaaaa atttgaagtc aatgcgactg tagcactcga tgaatatagc 300
aaactggaat ttgacaaact cacagtctgt gaagtaaaaa cagtttactt aacaaccatg 360
aaaccatacg ggatggtatc aaaattttgtg agctcagcca aatcagttgg caaaaaaaca 420

catgatctaa tcgcactatg tgattttatg gatctagaaa agaacacacc tgttacaata 480
ccagcattca tcaaatcagt ttcaatcaaa gagagtgagt cagctactgt tgaagctgct 540
ataagcagtg aagcagacca agctctaaca caggccaaaa ttgcacctta tgcgggatta 600
attatgatca tgactatgaa caatcccaaa ggcatattca aaaagcttgg agctgggact 660
caagtcatag tagaactagg agcatatgtc caggctgaaa gcataagcaa aatatgcaag 720
acttggagcc atcaaggac aagatatgtc ttgaagtcca gataacaacc aagcaccttg 780
gccaagagct actaacccta tctcatagat cataaagtca ccattctagt tatataaaaa 840
tcaagttaga acaagaatta aatcaatcaa gaacgggaca aataaaaatg tcttggaag 900

tggtgatcat tttttcattg ttaataacac ctcaacacgg tcttaaagag agctacttag 960
aagagtcagt tagcactata actgaaggat atctcagtgt tctgaggaca ggttggtaca 1020
ccaatgtttt tacactggag gtaggcgatg tagagaacct tacatgtgcc gatggacca 1080
gcttaataaa aacagaatta gacctgacca aaagtgcact aagagagctc agaacagttt 1140
ctgctgatca actggcaaga gaggagcaaa ttgaaaatcc cagacaatct agattcgttc 1200

taggagcaat agcactcggt gttgcaactg cagctgcagt tacagcaggt gttgcaattg 1260
 ccaaaacat ccggcttgaa agtgaagtaa cagcaattaa gaatgccctc aaaaagacca 1320
 atgaagcagt atctacattg gggaatggag ttcgtgtgtt ggcaactgca gtgagagagc 1380

tgaagagattt tgtgagcaag aatctaacac gtgcaatcaa caaaaacaag tgcgacattg 1440
 ctgacctgaa aatggccgtt agcttcagtc aattcaacag aaggttccta aatgttgtgc 1500
 ggcaattttc agacaacgct ggaataacac cagcaatatac tttggactta atgacagatg 1560
 ctgaactagc cagagctgtt tccaacatgc caacatctgc aggacaaata aaactgatgt 1620
 tggagaaccg tgcattgga agaagaaaag ggttcggatt cctgatagga gtttacggaa 1680
 gctccgtaat ttacatgggt caactgccaa tctttggggt tatagacacg ccttgctgga 1740
 tagtaaaagc agcccttct tgttcaggaa aaaagggaat ctatgcttgc ctcttaagag 1800
 aagaccaagg atggtattgt caaaatgcag ggtcaactgt ttactacca aatgaaaaag 1860

actgtgaaac aagaggagac catgtctttt gcgacacagc agcaggaatc aatgttgctg 1920
 agcagtcataa ggagtgcac ataaacatat ctactactaa ttacccatgc aaagttagca 1980
 caggaagaca tcctatcagt atggttgac tatctctct tggggctttg gttgcttgct 2040
 acaaggaggt gagctgttcc attggcagca acagagtagg gatcatcaag caactgaaca 2100
 aaggctgctc ttatataacc aaccaagacg cagacacagt gacaatagac aacactgtat 2160
 accagctaag caaagttgaa ggcgaaacagc atgttataaa aggaaggcca gtgtcaagca 2220
 gctttgacc agtcaagttt cctgaagatc aattcaatgt tgcacttgac caagttttcg 2280
 agagcattga gaacagtcag gccttggtgg atcaatcaaa cagaatccta agcagtcagc 2340

agaaaggaac cactggcttc atcattgtaa taattctaatt tgctgtcctt ggctctacca 2400
 tgatcctagt gagggttttt atcataataa agaaaacaaa gagaccaca ggagcacctc 2460
 cagagctgag tgggtgcaca aacaatggct tcataccaca taattag 2507

<210> 2
 <211> 1596
 <212> DNA
 <213> pneumovirus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(1596)
 <223> Avian pneumovirus fusion protein gene, partial cds

<400> 2
 atgtcttgga aagtgtgact gctatttgta ttgctagcta ccccaacggg ggggctagaa 60
 gaaagtatc tagaggagtc atgcagtagt gttactagag gatacctgag tgttttgagg 120
 acaggatggt atacaaatgt gttcacactt ggggttgag atgtgaaaaa tctcacatgt 180
 accgacgggc ccagcttaat aagaacagaa cttgaactga caaaaaatgc acttgaggaa 240
 ctcaagacag tatcagcaga tcaattggca aaggaagcta ggataatgt accaagaaaa 300
 gccccggtttg ttctgggtgc catagcatta ggtgtggcaa ctgctgctgc tgtgacggct 360
 ggtgtagcga tagccaagac aattaggcta gaaggagaag tggctgcaat caaaggtgag 420
 ctgagaaaa caaatgagtc tgtatctaca ttaggaaatg gcgtgagggt acttgcaaca 480
 gctgtgaatg atctcaagga ctttataagt aaaaaattga cactgcaat aaacaggaac 540
 aagtgtgaca tctcagacct taagatggca gtgagctttg gacaatacaa tcggagggttc 600
 ctcaatgtgg taagacagtt ttctgacaat gcaggatatta cgctgcaat atctctagat 660
 ttaatgactg acgtgagct tgaagagct gtaagcaaca tgccacatc ttcaggacag 720
 atcaatctga tgcctgagaa tcgggcaatg gtcagaagga aaggatttgg gatattgatt 780
 ggagtttatg gtagctctgt ggtctatata gtgcagcttc ctattttcgg tgtgatagat 840
 acaccgtgtt ggagggtgaa ggctgctcca ttatgttcag ggaaagacgg gaattatgca 900

tgtctcttgc gagaggacca aggttggtat tgtcaaatg ctggatccac agtttattat 960
 ccaaatgagg aggactgtga agtaagaagt gatcatgtgt tttgtgacac agcagctggg 1020
 ataaatgtag caaaggagtc agaagagtg aacaggaata tctcaacaac aaagtaccct 1080
 tgcaaggtaa gtacaggcgg tcaccaata agcatgggtg ccttatcacc actgggtgct 1140
 ttggtagcct gttatgacgg tatgagttgt tccattggaa gcaacaaggt tggataaatc 1200
 agacctttgg ggaaagggtg ttcatacatc agcaatcaag atgctgacac tgttacaatt 1260
 gacaacacag tgiaccaatt gagcaaggtt gaaggagaac aacacacaat taaagggaag 1320
 ccagtatcta gcaattttga ccctatagag ttccctgaag atcagttcaa cgtagccctg 1380

gatcaggtgt ttgaaagtgt tgagaagagt cagaatctga tagaccagtc aaacaagata 1440
 ttgtagatga ttgaaaagg gaatgcagga tttgtcatag tgatagtcct cattgtcctg 1500
 ctcatgctgg cagcagttgg tgtgggtgtc ttctttgtgg ttaagaagag aaaagctgct 1560
 cccaaattcc caatggaat gaatgggtgtg aacaac 1596

<210> 3

<211> 1666

<212> DNA

<213> pneumovirus

<220>

<221> CDS

<222> (14)...(1627)

<223> Avian pneumovirus isolate 1b fusion protein mRNA,
 complete cds

<400> 3

gggacaagtg aaaatgtctt ggaaagtggg actgctattg gtattgctag ctacccaac 60
 ggggggggcta gaagaaagt ttctagagga gtcatgcagt actgttacta gaggatacct 120
 gagtgttttt aggacaggat ggtatacaaa tgtgttcaca cttgaggttg gagatgtgga 180
 aaatctcaca tgtaccgacg ggcccagctt aataagaaca gaacttgaac tgacaaaaaa 240
 tgcacttgag gaactcaaga cagtatcagc agatcaattg gcaaaggaag ctaggataat 300
 gtaccaaga aaagcccggt ttgttctggg tgccatagca ttaggtgtgg caactgctgc 360
 tgctgtgacg gctgggtgag cgatagccaa gacaattagg ctagaaggag aagtggctgc 420

aatcaagggt gcgctcagga aaacaaatga ggctgtatct acattaggaa atggcgtgag 480
 ggtacttgca acagctgtga atgatctcaa ggactttata agtaaaaaat tgacacctgc 540
 aataaacagg aacaagtgtg acatctcaga ccttaagatg gcagtgagct ttggacaata 600
 caatcgaggg ttctcaatg ttgtaagaca gttttctgac aatgcaggta ttacgcctgc 660
 aatatctcta gatttaatga ctgacgctga gcttgtaaga gctgtaagca acatgccac 720
 atcttcagga cagatcaatc tgatgcttga gaatcgggca atggtcagaa ggaaaggatt 780
 tgggattttg attggagttt atggtagctc tgtggctctat atagtgcagc ttctatattt 840
 cggtgtgata gataccctg gttagaaggt gaaggctgct ccattatgtt cagggaaga 900

cggaattat gcatgtctct tgcgagagga ccaagggttg tattgtcaaa atgctggatc 960
 cacagtttat tatccaaatg aggaggactg tgaagtaaga agtgatcatg tgttttga 1020
 cacagcagct gggataaatg tagcaaagga gtcagaagag tgcaacagga atatctcaac 1080
 aacaaagtac ctttgcaagg taagtacagg gcgtcaccca ataagcatgg tggccttacc 1140
 accactgggt gctttgtag cctgttatga cggtatgagt tgttccattg gaagcaacaa 1200
 ggttggaata atcagacctt tggggaaagg gtgttcatac atcagcaatc aagatgctga 1260
 cactgttaca attgacaaca cagtgtacca attgagcaaa gttgaaggag aacaacacac 1320
 aattaaaggg aagccagtat ctagcaattt tgaccctata gatttccctg aagatcagtt 1380

caacgtagcc ctggatcagg tgtttgaaag tgttgagaag agtcagaatc tgatagacca 1440
 gtcaacaag atattggata gcattgaaaa ggggaatgca ggatttgtca tagtgatagt 1500

```
cctcattgtc ctgctcatgc tggcagcagt tgggtgtgggt gtcttctttg tggttaagaa 1560
gagaaaagct gctcccaaat tcccaatgga aatgaatggt gtgaacaaca aaggatttat 1620
cccttaattt tagttattaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1666
```

<210> 4
 <211> 1636
 <212> DNA
 <213> rhinotracheitis virus

<220>
 <221> CDS
 <222> (13)...(1629)
 <223> Turkey rhinotracheitis virus gene for fusion
 protein (F1 and F2 subunits), complete cds

```
<400> 4
gggacaagta ggatggatgt aagaatctgt ctctattgt tccttatatc taatcctagt 60
agctgcatac aagaaacata caatgaagaa tctgcagta ctgtaactag aggttataag 120
agtgtgttaa ggacagggtg gtatacgaat gtatttaacc tcgaaatagg gaatgttgag 180
aacatcactt gcaatgatgg acccagccta attgacactg agttagtact cacaaagaat 240
gctttgaggg agctcaaaac agtgtcagct gatcaagtgg ctaaggaaag cagactatcc 300
tcacccagga gacgtagatt tgtactgggt gcaatagcac ttggtgttgc gacagctgct 360
gccgtaacag ctggtgtagc acttgcaaag acaattagat tagagggaga ggtgaaggca 420

attaagaatg ccctccggaa cacaaatgag gcagtatcca cattagggaa tgggtgtgagg 480
gtactagcaa ctgcagtcaa tgacctcaa gaatttataa gtaaaaaatt gactcctgct 540
attaaccaga acaaatgcaa tatagcagat ataaagatgg caattagttt tggccaaaat 600
aacagaaggt tcttgaatgt ggtgaggcaa ttctctgata gtgcaggtat cacatcagct 660
gtgtctcttg attaatgac agatgatgaa ctgtttagag caattaacag aatgccaact 720
tcatcaggac agattagttt gatgttgaa aatcgtgcc tgggttagaag gaaggggttt 780
ggtatattga ttggtgttta tgatggaacg gtcgtttata tgggtacaact gcccatattc 840
ggcgtgattg agacaccttg ttggagggtg gtggcagcac cactctgtag gaaagagaaa 900

ggcaattatg ctgtatact gagagaagat caagggtggt actgtacaaa tgctggctct 960
acagcttatt atcctaataa agatgattgt gaggtaaggg atgattatgt attttgtgac 1020
acagcagctg gcattaatgt ggccctagaa gttgaacagt gcaactataa catatcgact 1080
tctaataacc catgcaaagt cagcacaggt agacacctg tcagtatggt agccttaacc 1140
cccctagggg gtctagtgtc ttgttatgag agtghtaagt gctccatagg tagcaataaa 1200
gtagggataa taaaacagct aggcaaaggg tgcaccaca ttccaacaa cgaagctgac 1260
acgataacca ttgataacac tgtgtaccaa ttgagcaagg ttgtaggcga acagaggacc 1320
ataaaaggag ctccagtgtg gaacaatttt aaccaatat tattccctga ggatcagttc 1380

aatgttgac ttgaccaagt atttgagagt atagatagat ctgaggactt aatagataag 1440
tctaacgact tgctagggtc agatgccaag agcaaggctg gaattgctat agcaatagta 1500
gtgctagtca ttctaggaat cttcttttta ctgacagtga tatattactg ttccagagtc 1560
cggaagacca aaccaagca tgattaccg gccacgacag gtcatagcag catggcttat 1620
gtcagttaag ttattt 1636
```

<210> 5
 <211> 1860
 <212> DNA
 <213> pneumovirus

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(110)
 <223> Avian pneumovirus matrix protein (M) gene, partial
 cds

<220>
 <221> CDS
 <222> (216)...(1829)
 <223> Avian pneumovirus fusion glycoprotein (F) gene,
 complete cds

<400> 5
 gaggttcagg aatagtgagg ttaggggcat acgttcaagc agaaagcata agcagaatct 60
 gcaggaaactg gagccaccag ggtacgagat atgtcctgaa gtcaagataa acacagagag 120
 tacacttacc aaatcacagt aacaatttcg tttttaacc tctcatagtt attacctagc 180
 ttgatattat ttagaaaaaa ttgggacaag tgaatgtgc ttggaaagt gtactgctat 240
 ttggtattgct agctacccca acgggggggc tagaagaaag ttatctagag gagtcatgca 300
 gtactgttac tagaggatac ctgagtgttt tgaggacagg atggatataa aatgtgttca 360
 cacttgagggt tggagatgtg gaaaatctca catgtaccga cgggccccagc ttaataagaa 420

 cagaacttga actgacaaaa aatgcacttg aggaactcaa gacagtatca gcagatcaat 480
 tggcaaaagg agctaggata atgtcaccaa gaaaagcccg gttgttctg ggtgccatag 540
 cattaggtgt ggcaactgct gctgctgtga cggttggtgt agcgatagcc aagacaatta 600
 ggctagaagg agaagtggct gcaatcaagg gtgcgctcag gaaaacaaat gaggtgtgat 660
 ctacattagg aaatggcgtg agggactctg caacagctgt gaatgatctc aaggacttta 720
 taagtaaaaa attgacacct gcaataaaca ggaacaagtg tgacatctca gaccttaaga 780
 tggcagttag ctttggacaa tacaatcgga ggttctctca tgtggttaaga cagttttctg 840
 acaatgcagg tattacgctt gcaatatctc tagatttaat gactgacgct gagcttgtta 900

 gagctgtaag caacatgccc acatcttcag gacagatcaa tctgatgctt gagaatcggg 960
 caatggctag aaggaaaggaa tttgggattt tgattggagt ttatggtagc tctgtgtct 1020
 atatagtga gcttctatt ttcggtgtga tagatacacc gtgttggaag gtgaaggctg 1080
 ctccattatg ttcagggaag gacgggaatt atgcatgtct cttgcgagag gaccaagggtt 1140
 ggtattgtca aaatgctgga tccacagttt attatccaaa tgaggaggac tgtgaagtaa 1200
 gaagtgaatc tgtgttttgt gacacagcag ctgggataaa ttagtagcaag gagttagaag 1260
 agtgcaacag gaatatctca acaacaaagt acccttgcaa ggtaagtaca gggcgtcacc 1320
 caataagcat ggtggcctta tcaccactgg gtgctttggt agcctgttat gacggtatga 1380

 gttgttccat tggaagcaac aaggttggaa taatcagacc tttggggaaa ggtgttcat 1440
 acatcagcaa tcaagatgct gacactgtta caattgacaa cacagtgtac caattgagca 1500
 aagttgaagg agaacaacac acaattaaag ggaagccagt atctagcaat ttgacccta 1560
 tagagttccc tgaagatcag ttcaacatag ccctggatca ggtgtttgaa agtgttgaga 1620
 agagtcagaa tctgatagac cagtcaaaca agatattgga tagcattgaa aaggggaatg 1680
 caggatttgt catagtata gtctcattg tctgtctcat gctggcagca gttggtgtgg 1740
 gtgtcttctt tgtggttaag aagagaaaag ctgctcccaa attcccaatg gaaatgaatg 1800
 gtgtgaacaa caaaggattt atcccttaat tttagtact aaaaaattgg gacaagtga 1860

<210> 6
 <211> 574
 <212> PRT

<213> paramyxovirus

<400> 6

Met Glu Leu Leu Ile His Arg Leu Ser Ala Ile Phe Leu Thr Leu Ala
 1 5 10 15
 Ile Asn Ala Leu Tyr Leu Thr Ser Ser Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Arg Gly Tyr Phe Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60

Lys Glu Thr Lys Cys Asn Gly Thr Asp Thr Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Asn Thr Pro Ala Ala Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Ala Pro
 100 105 110
 Gln Tyr Met Asn Tyr Thr Ile Asn Thr Thr Lys Asn Leu Asn Val Ser
 115 120 125

Ile Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val
 130 135 140
 Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Ile Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu
 145 150 155 160
 Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Asn Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys

165 170 175
 Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val
 180 185 190
 Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asn Asn Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn
 195 200 205
 Gln Gln Ser Cys Arg Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln
 210 215 220
 Gln Lys Asn Ser Arg Leu Leu Glu Ile Asn Arg Glu Phe Ser Val Asn

225 230 235 240
 Ala Gly Val Thr Thr Pro Leu Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu
 245 250 255
 Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys
 260 265 270
 Leu Met Ser Ser Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile
 275 280 285
 Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro

290 295 300
 Ile Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro
 305 310 315 320
 Leu Cys Thr Thr Asn Ile Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg
 325 330 335
 Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe
 340 345 350
 Pro Gln Ala Asp Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp

355 360 365

Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Val Ser Leu Cys Asn Thr
 370 375 380
 Asp Ile Phe Asn Ser Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr
 385 390 395 400
 Asp Ile Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys
 405 410 415
 Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile

420 425 430
 Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Val Asp
 435 440 445

Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Leu Glu Gly
 450 455 460
 Lys Asn Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Tyr Tyr Asp Pro
 465 470 475 480
 Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn
 485 490 495
 Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Arg Ser Asp Glu Leu
 500 505 510

Leu His Asn Val Asn Thr Gly Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr
 515 520 525
 Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Val Leu Leu Ser Leu Ile Ala Ile
 530 535 540
 Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Lys Asn Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560
 Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Lys
 565 570

<210> 7
 <211> 574
 <212> PRT
 <213> paramyxovirus

<400> 7
 Met Glu Leu Leu Ile Leu Lys Ala Asn Ala Ile Thr Thr Ile Leu Thr
 1 5 10 15
 Ala Val Thr Phe Cys Phe Ala Ser Gly Gln Asn Ile Thr Glu Glu Phe
 20 25 30
 Tyr Gln Ser Thr Cys Ser Ala Val Ser Lys Gly Tyr Leu Ser Ala Leu
 35 40 45
 Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Ser Val Ile Thr Ile Glu Leu Ser Asn Ile
 50 55 60
 Lys Glu Asn Lys Cys Asn Gly Thr Asp Ala Lys Val Lys Leu Ile Lys
 65 70 75 80
 Gln Glu Leu Asp Lys Tyr Lys Asn Ala Val Thr Glu Leu Gln Leu Leu
 85 90 95
 Met Gln Ser Thr Pro Pro Thr Asn Asn Arg Ala Arg Arg Glu Leu Pro
 100 105 110
 Arg Phe Met Asn Tyr Thr Leu Asn Asn Ala Lys Lys Thr Asn Val Thr

115	120	125
Leu Ser Lys Lys Arg Lys Arg Arg Phe Leu Gly Phe Leu Leu Gly Val		
130	135	140
Gly Ser Ala Ile Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Lys Val Leu His Leu		
145	150	155
Glu Gly Glu Val Asn Lys Ile Lys Ser Ala Leu Leu Ser Thr Asn Lys		
165	170	175
Ala Val Val Ser Leu Ser Asn Gly Val Ser Val Leu Thr Ser Lys Val		
180	185	190
Leu Asp Leu Lys Asn Tyr Ile Asp Lys Gln Leu Leu Pro Ile Val Asn		
195	200	205
Lys Gln Ser Cys Ser Ile Ser Asn Ile Glu Thr Val Ile Glu Phe Gln		
210	215	220
Gln Lys Asn Asn Arg Leu Leu Glu Ile Thr Arg Glu Phe Ser Val Asn		
225	230	235
Ala Gly Val Thr Thr Pro Val Ser Thr Tyr Met Leu Thr Asn Ser Glu		
245	250	255
Leu Leu Ser Leu Ile Asn Asp Met Pro Ile Thr Asn Asp Gln Lys Lys		
260	265	270
Leu Met Ser Asn Asn Val Gln Ile Val Arg Gln Gln Ser Tyr Ser Ile		
275	280	285
Met Ser Ile Ile Lys Glu Glu Val Leu Ala Tyr Val Val Gln Leu Pro		
290	295	300
Leu Tyr Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Leu His Thr Ser Pro		
305	310	315
Leu Cys Thr Thr Asn Thr Lys Glu Gly Ser Asn Ile Cys Leu Thr Arg		
325	330	335
Thr Asp Arg Gly Trp Tyr Cys Asp Asn Ala Gly Ser Val Ser Phe Phe		
340	345	350
Pro Gln Ala Glu Thr Cys Lys Val Gln Ser Asn Arg Val Phe Cys Asp		
355	360	365
Thr Met Asn Ser Leu Thr Leu Pro Ser Glu Ile Asn Leu Cys Asn Val		
370	375	380
Asp Ile Phe Asn Pro Lys Tyr Asp Cys Lys Ile Met Thr Ser Lys Thr		
385	390	395
Asp Val Ser Ser Ser Val Ile Thr Ser Leu Gly Ala Ile Val Ser Cys		
405	410	415
Tyr Gly Lys Thr Lys Cys Thr Ala Ser Asn Lys Asn Arg Gly Ile Ile		
420	425	430
Lys Thr Phe Ser Asn Gly Cys Asp Tyr Val Ser Asn Lys Gly Met Asp		
435	440	445
Thr Val Ser Val Gly Asn Thr Leu Tyr Tyr Val Asn Lys Gln Glu Gly		
450	455	460
Lys Ser Leu Tyr Val Lys Gly Glu Pro Ile Ile Asn Phe Tyr Asp Pro		
465	470	475
Leu Val Phe Pro Ser Asp Glu Phe Asp Ala Ser Ile Ser Gln Val Asn		
485	490	495
Glu Lys Ile Asn Gln Ser Leu Ala Phe Ile Arg Lys Ser Asp Glu Leu		
500	505	510
Leu His Asn Val Asn Ala Gly Lys Ser Thr Thr Asn Ile Met Ile Thr		

515 520 525
 Thr Ile Ile Ile Val Ile Ile Val Ile Leu Leu Ser Leu Ile Ala Val
 530 535 540
 Gly Leu Leu Leu Tyr Cys Lys Ala Arg Ser Thr Pro Val Thr Leu Ser
 545 550 555 560
 Lys Asp Gln Leu Ser Gly Ile Asn Asn Ile Ala Phe Ser Asn
 565 570

<210> 8
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> metapneumovirus

<400> 8
 Leu Leu Ile Thr Pro Gln His Gly Leu Lys Glu Ser Tyr Leu Glu Glu
 1 5 10 15
 Ser Cys Ser Thr Ile Thr Glu Gly Tyr Leu Ser Val Leu Arg Thr Gly
 20 25 30
 Trp Tyr Thr Asn Val Phe Thr Leu Glu Val Gly Asp Val Glu Asn Leu
 35 40 45
 Thr Cys Ala Asp Gly Pro Ser Leu Ile Lys Thr Glu Leu Asp Leu Thr
 50 55 60

 Lys Ser Ala Leu Arg Glu Leu Arg Thr Val Ser Ala Asp Gln Leu Ala
 65 70 75 80
 Arg Glu Glu Gln Ile Glu Asn Pro Arg Gln Ser Arg Phe Val Leu Gly
 85 90 95
 Ala Ile Ala Leu Gly Val Ala Thr Ala Ala Ala Val Thr Ala Gly Val
 100 105 110
 Ala Ile Ala Lys Thr Ile Arg Leu Glu
 115 120

<210> 9
 <211> 539
 <212> PRT
 <213> metapneumovirus

<400> 9
 Met Ser Trp Lys Val Val Ile Ile Phe Ser Leu Leu Ile Thr Pro Gln
 1 5 10 15
 His Gly Leu Lys Glu Ser Tyr Leu Glu Glu Ser Cys Ser Thr Ile Thr
 20 25 30
 Glu Gly Tyr Leu Ser Val Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Asn Val Phe
 35 40 45
 Thr Leu Glu Val Gly Asp Val Glu Asn Leu Thr Cys Ala Asp Gly Pro
 50 55 60

 Ser Leu Ile Lys Thr Glu Leu Asp Leu Thr Lys Ser Ala Leu Arg Glu
 65 70 75 80

Leu Arg Thr Val Ser Ala Asp Gln Leu Ala Arg Glu Glu Gln Ile Glu

85 90 95
Asn Pro Arg Gln Ser Arg Phe Val Leu Gly Ala Ile Ala Leu Gly Val
100 105 110
Ala Thr Ala Ala Ala Val Thr Ala Gly Val Ala Ile Ala Lys Thr Ile
115 120 125
Arg Leu Glu Ser Glu Val Thr Ala Ile Lys Asn Ala Leu Lys Lys Thr
130 135 140
Asn Glu Ala Val Ser Thr Leu Gly Asn Gly Val Arg Val Leu Ala Thr

145 150 155 160
Ala Val Arg Glu Leu Lys Asp Phe Val Ser Lys Asn Leu Thr Arg Ala
165 170 175
Ile Asn Lys Asn Lys Cys Asp Ile Ala Asp Leu Lys Met Ala Val Ser
180 185 190
Phe Ser Gln Phe Asn Arg Arg Phe Leu Asn Val Val Arg Gln Phe Ser
195 200 205
Asp Asn Ala Gly Ile Thr Pro Ala Ile Ser Leu Asp Leu Met Thr Asp

210 215 220
Ala Glu Leu Ala Arg Ala Val Ser Asn Met Pro Thr Ser Ala Gly Gln
225 230 235 240
Ile Lys Leu Met Leu Glu Asn Arg Ala Met Val Arg Arg Lys Gly Phe
245 250 255
Gly Phe Leu Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln
260 265 270
Leu Pro Ile Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala

275 280 285
Ala Pro Ser Cys Ser Gly Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg
290 295 300
Glu Asp Gln Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr
305 310 315 320
Pro Asn Glu Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp
325 330 335
Thr Ala Ala Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile

340 345 350
Asn Ile Ser Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His
355 360 365
Pro Ile Ser Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys
370 375 380
Tyr Lys Gly Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile
385 390 395 400
Lys Gln Leu Asn Lys Gly Cys Ser Tyr Ile Thr Asn Gln Asp Ala Asp

405 410 415
Thr Val Thr Ile Asp Asn Thr Val Tyr Gln Leu Ser Lys Val Glu Gly
420 425 430
Glu Gln His Val Ile Lys Gly Arg Pro Val Ser Ser Ser Phe Asp Pro
435 440 445
Val Lys Phe Pro Glu Asp Gln Phe Asn Val Ala Leu Asp Gln Val Phe
450 455 460

Glu Ser Ile Glu Asn Ser Gln Ala Leu Val Asp Gln Ser Asn Arg Ile

465 470 475 480
 Leu Ser Ser Ala Glu Lys Gly Asn Thr Gly Phe Ile Ile Val Ile Ile
 485 490 495
 Leu Ile Ala Val Leu Gly Ser Thr Met Ile Leu Val Ser Val Phe Ile
 500 505 510
 Ile Ile Lys Lys Thr Lys Arg Pro Thr Gly Ala Pro Pro Glu Leu Ser
 515 520 525
 Gly Val Thr Asn Asn Gly Phe Ile Pro His Asn
 530 535

<210> 10
 <211> 532
 <212> PRT
 <213> Avian pneumovirus

<400> 10
 Met Ser Trp Lys Val Val Leu Leu Leu Val Leu Leu Ala Thr Pro Thr
 1 5 10 15
 Gly Gly Leu Glu Ser Tyr Leu Glu Glu Ser Cys Ser Thr Val Thr
 20 25 30
 Arg Gly Tyr Leu Ser Val Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Asn Val Phe
 35 40 45
 Thr Leu Gly Val Gly Asp Val Lys Asn Leu Thr Cys Thr Asp Gly Pro
 50 55 60

Ser Leu Ile Arg Thr Glu Leu Glu Leu Thr Lys Asn Ala Leu Glu Glu
 65 70 75 80
 Leu Lys Thr Val Ser Ala Asp Gln Leu Ala Lys Glu Ala Arg Ile Met
 85 90 95
 Ser Pro Arg Lys Ala Arg Phe Val Leu Gly Ala Ile Ala Leu Gly Val
 100 105 110
 Ala Thr Ala Ala Ala Val Thr Ala Gly Val Ala Ile Ala Lys Thr Ile
 115 120 125

Arg Leu Glu Gly Glu Val Ala Ala Ile Lys Gly Ala Leu Arg Lys Thr
 130 135 140
 Asn Glu Ala Val Ser Thr Leu Gly Asn Gly Val Arg Val Leu Ala Thr
 145 150 155 160
 Ala Val Asn Asp Leu Lys Asp Phe Ile Ser Lys Lys Leu Thr Pro Ala
 165 170 175
 Ile Asn Arg Asn Lys Cys Asp Ile Ser Asp Leu Lys Met Ala Val Ser
 180 185 190

Phe Gly Gln Tyr Asn Arg Arg Phe Leu Asn Val Val Arg Gln Phe Ser
 195 200 205
 Asp Asn Ala Gly Ile Thr Pro Ala Ile Ser Leu Asp Leu Met Thr Asp
 210 215 220
 Ala Glu Leu Val Arg Ala Val Ser Asn Met Pro Thr Ser Ser Gly Gln
 225 230 235 240
 Ile Asn Leu Met Leu Glu Asn Arg Ala Met Val Arg Arg Lys Gly Phe
 245 250 255

Gly Ile Leu Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Val Tyr Ile Val Gln
 260 265 270
 Leu Pro Ile Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Arg Val Lys Ala
 275 280 285
 Ala Pro Leu Cys Ser Gly Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg
 290 295 300
 Glu Asp Gln Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr
 305 310 315 320

Pro Asn Glu Glu Asp Cys Glu Val Arg Ser Asp His Val Phe Cys Asp
 325 330 335
 Thr Ala Ala Gly Ile Asn Val Ala Lys Glu Ser Glu Glu Cys Asn Arg
 340 345 350
 Asn Ile Ser Thr Thr Lys Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His
 355 360 365
 Pro Ile Ser Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys
 370 375 380

Tyr Asp Gly Met Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Lys Val Gly Ile Ile
 385 390 395 400
 Arg Pro Leu Gly Lys Gly Cys Ser Tyr Ile Ser Asn Gln Asp Ala Asp
 405 410 415
 Thr Val Thr Ile Asp Asn Thr Val Tyr Gln Leu Ser Lys Val Glu Gly
 420 425 430
 Glu Gln His Thr Ile Lys Gly Lys Pro Val Ser Ser Asn Phe Asp Pro
 435 440 445

Ile Glu Phe Pro Glu Asp Gln Phe Asn Val Ala Leu Asp Gln Val Phe
 450 455 460
 Glu Ser Val Glu Lys Ser Gln Asn Leu Ile Asp Gln Ser Asn Lys Ile
 465 470 475 480
 Leu Asp Ser Ile Glu Lys Gly Asn Ala Gly Phe Val Ile Val Ile Val
 485 490 495
 Leu Ile Val Leu Leu Met Leu Ala Ala Val Gly Val Gly Val Phe Phe
 500 505 510

Val Val Lys Lys Arg Lys Ala Ala Pro Lys Phe Pro Met Glu Met Asn
 515 520 525
 Gly Val Asn Asn
 530

<210> 11
 <211> 537
 <212> PRT
 <213> Avian pneumovirus

<400> 11
 Met Ser Trp Lys Val Val Leu Leu Leu Val Leu Leu Ala Thr Pro Thr
 1 5 10 15
 Gly Gly Leu Glu Glu Ser Tyr Leu Glu Glu Ser Cys Ser Thr Val Thr
 20 25 30
 Arg Gly Tyr Leu Ser Val Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Asn Val Phe
 35 40 45
 Thr Leu Glu Val Gly Asp Val Glu Asn Leu Thr Cys Thr Asp Gly Pro

50	55	60
Ser Leu Ile Arg Thr Glu Leu Glu Leu Thr Lys Asn Ala Leu Glu Glu		
65	70	75
Leu Lys Thr Val Ser Ala Asp Gln Leu Ala Lys Glu Ala Arg Ile Met		
	85	90
Ser Pro Arg Lys Ala Arg Phe Val Leu Gly Ala Ile Ala Leu Gly Val		
	100	105
Ala Thr Ala Ala Ala Val Thr Ala Gly Val Ala Ile Ala Lys Thr Ile		
	115	120
		125
Arg Leu Glu Gly Glu Val Ala Ala Ile Lys Gly Ala Leu Arg Lys Thr		
130	135	140
Asn Glu Ala Val Ser Thr Leu Gly Asn Gly Val Arg Val Leu Ala Thr		
145	150	155
		160
Ala Val Asn Asp Leu Lys Asp Phe Ile Ser Lys Lys Leu Thr Pro Ala		
	165	170
Ile Asn Arg Asn Lys Cys Asp Ile Ser Asp Leu Lys Met Ala Val Ser		
	180	185
Phe Gly Gln Tyr Asn Arg Arg Phe Leu Asn Val Val Arg Gln Phe Ser		
	195	200
Asp Asn Ala Gly Ile Thr Pro Ala Ile Ser Leu Asp Leu Met Thr Asp		
210	215	220
Ala Glu Leu Val Arg Ala Val Ser Asn Met Pro Thr Ser Ser Gly Gln		
225	230	235
Ile Asn Leu Met Leu Glu Asn Arg Ala Met Val Arg Arg Lys Gly Phe		
	245	250
Gly Ile Leu Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Val Tyr Ile Val Gln		
	260	265
Leu Pro Ile Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Val Lys Ala		
275	280	285
Ala Pro Leu Cys Ser Gly Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg		
290	295	300
Glu Asp Gln Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr		
305	310	315
Pro Asn Glu Glu Asp Cys Glu Val Arg Ser Asp His Val Phe Cys Asp		
	325	330
Thr Ala Ala Gly Ile Asn Val Ala Lys Glu Ser Glu Glu Cys Asn Arg		
	340	345
Asn Ile Ser Thr Thr Lys Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His		
	355	360
Pro Ile Ser Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys		
	370	375
Tyr Asp Gly Met Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Lys Val Gly Ile Ile		
385	390	395
Arg Pro Leu Gly Lys Gly Cys Ser Tyr Ile Ser Asn Gln Asp Ala Asp		
	405	410
Thr Val Thr Ile Asp Asn Thr Val Tyr Gln Leu Ser Lys Val Glu Gly		
	420	425
		430

Glu Gln His Thr Ile Lys Gly Lys Pro Val Ser Ser Asn Phe Asp Pro

435 440 445
 Ile Glu Phe Pro Glu Asp Gln Phe Asn Val Ala Leu Asp Gln Val Phe
 450 455 460
 Glu Ser Val Glu Lys Ser Gln Asn Leu Ile Asp Gln Ser Asn Lys Ile
 465 470 475 480
 Leu Asp Ser Ile Glu Lys Gly Asn Ala Gly Phe Val Ile Val Ile Val
 485 490 495
 Leu Ile Val Leu Leu Met Leu Ala Ala Val Gly Val Gly Val Phe Phe

500 505 510
 Val Val Lys Lys Arg Lys Ala Ala Pro Lys Phe Pro Met Glu Met Asn
 515 520 525
 Gly Val Asn Asn Lys Gly Phe Ile Pro
 530 535

<210> 12
 <211> 538
 <212> PRT
 <213> Turkey rhinotracheitis virus

<400> 12
 Met Asp Val Arg Ile Cys Leu Leu Leu Phe Leu Ile Ser Asn Pro Ser
 1 5 10 15
 Ser Cys Ile Gln Glu Thr Tyr Asn Glu Glu Ser Cys Ser Thr Val Thr
 20 25 30
 Arg Gly Tyr Lys Ser Val Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Asn Val Phe
 35 40 45
 Asn Leu Glu Ile Gly Asn Val Glu Asn Ile Thr Cys Asn Asp Gly Pro
 50 55 60

Ser Leu Ile Asp Thr Glu Leu Val Leu Thr Lys Asn Ala Leu Arg Glu
 65 70 75 80
 Leu Lys Thr Val Ser Ala Asp Gln Val Ala Lys Glu Ser Arg Leu Ser
 85 90 95
 Ser Pro Arg Arg Arg Arg Phe Val Leu Gly Ala Ile Ala Leu Gly Val
 100 105 110
 Ala Thr Ala Ala Ala Val Thr Ala Gly Val Ala Leu Ala Lys Thr Ile
 115 120 125

Arg Leu Glu Gly Glu Val Lys Ala Ile Lys Asn Ala Leu Arg Asn Thr
 130 135 140
 Asn Glu Ala Val Ser Thr Leu Gly Asn Gly Val Arg Val Leu Ala Thr
 145 150 155 160
 Ala Val Asn Asp Leu Lys Glu Phe Ile Ser Lys Lys Leu Thr Pro Ala
 165 170 175
 Ile Asn Gln Asn Lys Cys Asn Ile Ala Asp Ile Lys Met Ala Ile Ser
 180 185 190

Phe Gly Gln Asn Asn Arg Arg Phe Leu Asn Val Val Arg Gln Phe Ser
 195 200 205
 Asp Ser Ala Gly Ile Thr Ser Ala Val Ser Leu Asp Leu Met Thr Asp
 210 215 220

Asp Glu Leu Val Arg Ala Ile Asn Arg Met Pro Thr Ser Ser Gly Gln
225 230 235 240
Ile Ser Leu Met Leu Asn Asn Arg Ala Met Val Arg Arg Lys Gly Phe
245 250 255

Gly	Ile	Leu	Ile	Gly	Val	Tyr	Asp	Gly	Thr	Val	Val	Tyr	Met	Val	Gln
260						265						270			
Leu	Pro	Ile	Phe	Gly	Val	Ile	Glu	Thr	Pro	Cys	Trp	Arg	Val	Val	Ala
275						280						285			
Ala	Pro	Leu	Cys	Arg	Lys	Glu	Lys	Gly	Asn	Tyr	Ala	Cys	Ile	Leu	Arg
290						295						300			
Glu	Asp	Gln	Gly	Trp	Tyr	Cys	Thr	Asn	Ala	Gly	Ser	Thr	Ala	Tyr	Tyr
305						310						315			
															320

Pro	Asn	Lys	Asp	Asp	Cys	Glu	Val	Arg	Asp	Asp	Tyr	Val	Phe	Cys	Asp
				325					330					335	
Thr	Ala	Ala	Gly	Ile	Asn	Val	Ala	Leu	Glu	Val	Glu	Gln	Cys	Asn	Tyr
			340					345					350		
Asn	Ile	Ser	Thr	Ser	Lys	Tyr	Pro	Cys	Lys	Val	Ser	Thr	Gly	Arg	His
		355					360					365			
Pro	Val	Ser	Met	Val	Ala	Leu	Thr	Pro	Leu	Gly	Gly	Leu	Val	Ser	Cys
	370					375					380				

Tyr	Glu	Ser	Val	Ser	Cys	Ser	Ile	Gly	Ser	Asn	Lys	Val	Gly	Ile	Ile	
385					390					395					400	
Lys	Gln	Leu	Gly	Lys	Gly	Cys	Thr	His	Ile	Pro	Asn	Asn	Glu	Ala	Asp	
				405					410					415		
Thr	Ile	Thr	Ile	Asp	Asn	Thr	Val	Tyr	Gln	Leu	Ser	Lys	Val	Val	Gly	
			420					425					430			
Glu	Gln	Arg	Thr	Ile	Lys	Gly	Ala	Pro	Val	Val	Asn	Asn	Phe	Asn	Pro	
		435					440					445				

Ile	Leu	Phe	Pro	Glu	Asp	Gln	Phe	Asn	Val	Ala	Leu	Asp	Gln	Val	Phe
450						455					460				
Glu	Ser	Ile	Asp	Arg	Ser	Gln	Asp	Leu	Ile	Asp	Lys	Ser	Asn	Asp	Leu
465						470					475				480
Leu	Gly	Ala	Asp	Ala	Lys	Ser	Lys	Ala	Gly	Ile	Ala	Ile	Ala	Ile	Val
						485					490				495
Val	Leu	Val	Ile	Leu	Gly	Ile	Phe	Phe	Leu	Leu	Ala	Val	Ile	Tyr	Tyr
						500					505				510

Cys Ser Arg Val Arg Lys Thr Lys Pro Lys His Asp Tyr Pro Ala Thr
515 520 525
Thr Gly His Ser Ser Met Ala Tyr Val Ser
530 535

<210> 13
<211> 537
<212> PRT
<213> Avian pneumovirus

<400> 13
Met Ser Trp Lys Val Val Leu Leu Leu Val Leu Leu Ala Thr Pro Thr
1 5 10 15

Gly Gly Leu Glu Glu Ser Tyr Leu Glu Glu Ser Cys Ser Thr Val Thr
 20 25 30
 Arg Gly Tyr Leu Ser Val Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Asn Val Phe
 35 40 45
 Thr Leu Glu Val Gly Asp Val Glu Asn Leu Thr Cys Thr Asp Gly Pro
 50 55 60

 Ser Leu Ile Arg Thr Glu Leu Glu Leu Thr Lys Asn Ala Leu Glu Glu
 65 70 75 80
 Leu Lys Thr Val Ser Ala Asp Gln Leu Ala Lys Glu Ala Arg Ile Met
 85 90 95
 Ser Pro Arg Lys Ala Arg Phe Val Leu Gly Ala Ile Ala Leu Gly Val
 100 105 110
 Ala Thr Ala Ala Val Thr Ala Gly Val Ala Ile Ala Lys Thr Ile
 115 120 125

 Arg Leu Glu Gly Glu Val Ala Ala Ile Lys Gly Ala Leu Arg Lys Thr
 130 135 140
 Asn Glu Ala Val Ser Thr Leu Gly Asn Gly Val Arg Val Leu Ala Thr
 145 150 155 160
 Ala Val Asn Asp Leu Lys Asp Phe Ile Ser Lys Lys Leu Thr Pro Ala
 165 170 175
 Ile Asn Arg Asn Lys Cys Asp Ile Ser Asp Leu Lys Met Ala Val Ser
 180 185 190

 Phe Gly Gln Tyr Asn Arg Arg Phe Leu Asn Val Val Arg Gln Phe Ser
 195 200 205
 Asp Asn Ala Gly Ile Thr Pro Ala Ile Ser Leu Asp Leu Met Thr Asp
 210 215 220
 Ala Glu Leu Val Arg Ala Val Ser Asn Met Pro Thr Ser Ser Gly Gln
 225 230 235 240
 Ile Asn Leu Met Leu Glu Asn Arg Ala Met Val Arg Arg Lys Gly Phe
 245 250 255

 Gly Ile Leu Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Val Tyr Ile Val Gln
 260 265 270
 Leu Pro Ile Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Lys Val Lys Ala
 275 280 285
 Ala Pro Leu Cys Ser Gly Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg
 290 295 300
 Glu Asp Gln Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr
 305 310 315 320

 Pro Asn Glu Glu Asp Cys Glu Val Arg Ser Asp His Val Phe Cys Asp
 325 330 335
 Thr Ala Ala Gly Ile Asn Val Ala Lys Glu Ser Glu Glu Cys Asn Arg
 340 345 350
 Asn Ile Ser Thr Thr Lys Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His
 355 360 365
 Pro Ile Ser Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys
 370 375 380

 Tyr Asp Gly Met Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Lys Val Gly Ile Ile
 385 390 395 400
 Arg Pro Leu Gly Lys Gly Cys Ser Tyr Ile Ser Asn Gln Asp Ala Asp
 405 410 415
 Thr Val Thr Ile Asp Asn Thr Val Tyr Gln Leu Ser Lys Val Glu Gly

420 425 430
Glu Gln His Thr Ile Lys Gly Lys Pro Val Ser Ser Asn Phe Asp Pro
435 440 445

Ile Glu Phe Pro Glu Asp Gln Phe Asn Ile Ala Leu Asp Gln Val Phe
450 455 460
Glu Ser Val Glu Lys Ser Gln Asn Leu Ile Asp Gln Ser Asn Lys Ile
465 470 475 480
Leu Asp Ser Ile Glu Lys Gly Asn Ala Gly Phe Val Ile Val Ile Val
485 490 495
Leu Ile Val Leu Leu Met Leu Ala Ala Val Gly Val Gly Val Phe Phe
500 505 510

Val Val Lys Lys Arg Lys Ala Ala Pro Lys Phe Pro Met Glu Met Asn
515 520 525
Gly Val Asn Asn Lys Gly Phe Ile Pro
530 535

<210> 14
<211> 1193
<212> DNA
<213> rhinotracheitis virus

<220>
<221> CDS
<222> (16)...(1191)
<223> Turkey rhinotracheitis virus (strain CVL14/1)
attachment protien (G) mRNA, complete cds

<400> 14
gggacaagta tctctatggg gtccaaacta tatatggctc agggcaccag tgcataatcaa 60
actgcagtgg ggttctggct ggacatcggg aggaggtaca tattggctat agtcctatca 120
gctttcgggc tgacctgcac agtcactatt gcactcactg ttacgctcat agttgaacag 180
tcagtgttag aggagtgcag aaactacaat ggaggagata gagatttggtg gtcaaccacc 240
caggagcagc caactactgc accaagtgcg actccagcag gaaattatgg aggattacaa 300
acggctcgaa caagaaagtc tgaaagctgt ttgcatgtgc aaatttctta tggatgatag 360
tatagccgca gtgatactgt actgggtggt ttgattgta tgggcttatt ggttctttgc 420

aatcaggac caatttgta gcgagataat caagttgacc caacagccct ctgccattgc 480
agggtagatc tttaagtgt ggactgctgc aaggtgaaca agattagcac taacagcagc 540
accacctctg agccccagaa gaccaaccgc gcatggccta gccaagacaa cacagactcc 600
gatecaaatc cccaaggcat aaccaccagc acagccactc tgcctcacaac aagtctgggc 660
ctcatgctca catcgaagac tgggacacac aaatcagggc ccccccaagc cttgccgggg 720
agcaacacca acgaaaaaac aaccacagac cgagaaccag ggcccacaaa ccaacaaaat 780
tcaaccacca atgggcaaca caataaacac acccaacgaa tgacaccccc gccaaagtcac 840

gacaacacaa gaaccatcct ccagcacaca acaccctggg aaaagacatt cagtacatac 900
aagccacac actctccgac caacgaatca gatcaatccc tccccacac tcaaacacgc 960
atcaactgtg aacattttga ccccaaggc aaggaaaaaa tctgctacag agtaggttct 1020
tacaactcca atattacaaa gcaatgcaga attgatgtgc ctttgtgttc cacttatagc 1080
acagtgtgca tgaaaacata ctataccgaa ccattcaact gttggaggcg tatctggcgt 1140

tgcttgtgtg atgacggagt tggctctggtt gagggtgtgtt gcactagtta act 1193

<210> 15

<211> 1260

<212> DNA

<213> rhinotracheitis virus

<220>

<221> CDS

<222> (16)...(1260)

<223> Turkey rhinotracheitis virus (strain 6574)
attachment protein (G), complete cds

<400> 15

gggacaagta tccagatggg gtcagagctc tacatcatag aggggggtgag ctcacttgaa 60
atagtctca agcaagtcct cagaaggagc caaaaaatac tggtaggact ggtgttatca 120
gccttaggct tgacgctcac tagcactatt gttatatcta tttgtattag tgtagaacag 180
gtcaaattac gacagtgtgt ggacacttat tgggcggaaa atggatcctt acatccagga 240
cagtcaacag aaaatacttc aacaagaggt aagactacaa caaaagaccc tagaagatta 300
caggcgactg gacgaggaaa gtttgagagc tgtgggtatg tgcaagtgtg tgatggatgat 360
atgatgatc gcagttaatgc tgtactgggt ggtgttgatt gtttgggctt attggctctt 420

tgtgaatcag gaccaatttg tcaggagatg acttggcttg aagacggaaa cttctgccga 480
tgacttttt ctcccatgg ggtgagttgc tgcaaaaaac caaaagcaa ggcaaccact 540
gcccagagga actccaaacc agctaacagc aaatcaactc ctccgggtaca ttcagacagg 600
gccagcaaag aacataatcc ctccaagggt gagcaacccc gcagggggcc aaccagcagc 660
aagacaacta ttgctagcac ccttcaaca gaggacactg ctaaaccaac gattagcaaa 720
cctaaactca ccatcaggcc ctgcgaaaga ggtccatccg gcagcacaaa agcagcctcc 780
agcaccccca gccacaagac caacaccaga ggcaccagca agacgaccga ccagagaccc 840
cgcaccggac ccaactccga aaggcccgaa caaacccaca gcacagcaac tccgcccccc 900

acaaccccaa tccacaagggt cggggcccca acccccaaac caacaacaga cctcaagggtc 960
aacccaagggt aaggcagcac aagcccaact gcaatacaga aaaacccaac cacacaaagt 1020
aatcttgttg actgcacact gtctgatcca gatgagccac aaaggatttg ttaccaggta 1080
ggaacttaca atcctagtca atcgggaacc tgcaacatag aggttcctaaa atgttccact 1140
tatgggcatg cttgtatggc tacattatat gacaccccat tcaactgtcg gcgcaggacc 1200
aggagatgca tctgtgattc cggaggggag ctgattgagt ggtgctgtac tagtcaataa 1260

<210> 16

<211> 391

<212> PRT

<213> Turkey rhinotracheitis virus

<400> 16

Met	Gly	Ser	Lys	Leu	Tyr	Met	Ala	Gln	Gly	Thr	Ser	Ala	Tyr	Gln	Thr
1				5					10					15	
Ala	Val	Gly	Phe	Trp	Leu	Asp	Ile	Gly	Arg	Arg	Tyr	Ile	Leu	Ala	Ile
				20					25					30	
Val	Leu	Ser	Ala	Phe	Gly	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Thr	Ile	Ala	Leu	Thr

35 40 45
 Val Ser Val Ile Val Glu Gln Ser Val Leu Glu Glu Cys Arg Asn Tyr
 50 55 60
 Asn Gly Gly Asp Arg Asp Trp Trp Ser Thr Thr Gln Glu Gln Pro Thr
 65 70 75 80
 Thr Ala Pro Ser Ala Thr Pro Ala Gly Asn Tyr Gly Gly Leu Gln Thr
 85 90 95
 Ala Arg Thr Arg Lys Ser Glu Ser Cys Leu His Val Gln Ile Ser Tyr

 100 105 110
 Gly Asp Met Tyr Ser Arg Ser Asp Thr Val Leu Gly Gly Phe Asp Cys
 115 120 125
 Met Gly Leu Leu Val Leu Cys Lys Ser Gly Pro Ile Cys Gln Arg Asp
 130 135 140
 Asn Gln Val Asp Pro Thr Ala Leu Cys His Cys Arg Val Asp Leu Ser
 145 150 155 160
 Ser Val Asp Cys Cys Lys Val Asn Lys Ile Ser Thr Asn Ser Ser Thr

 165 170 175
 Thr Ser Glu Pro Gln Lys Thr Asn Pro Ala Trp Pro Ser Gln Asp Asn
 180 185 190
 Thr Asp Ser Asp Pro Asn Pro Gln Gly Ile Thr Thr Ser Thr Ala Thr

 195 200 205
 Leu Leu Ser Thr Ser Leu Gly Leu Met Leu Thr Ser Lys Thr Gly Thr
 210 215 220
 His Lys Ser Gly Pro Pro Gln Ala Leu Pro Gly Ser Asn Thr Asn Gly
 225 230 235 240
 Lys Thr Thr Thr Asp Arg Glu Pro Gly Pro Thr Asn Gln Pro Asn Ser
 245 250 255
 Thr Thr Asn Gly Gln His Asn Lys His Thr Gln Arg Met Thr Pro Pro

 260 265 270
 Pro Ser His Asp Asn Thr Arg Thr Ile Leu Gln His Thr Thr Pro Trp
 275 280 285
 Glu Lys Thr Phe Ser Thr Tyr Lys Pro Thr His Ser Pro Thr Asn Glu
 290 295 300
 Ser Asp Gln Ser Leu Pro Thr Thr Gln Asn Ser Ile Asn Cys Glu His
 305 310 315 320
 Phe Asp Pro Gln Gly Lys Glu Lys Ile Cys Tyr Arg Val Gly Ser Tyr

 325 330 335
 Asn Ser Asn Ile Thr Lys Gln Cys Arg Ile Asp Val Pro Leu Cys Ser
 340 345 350
 Thr Tyr Ser Thr Val Cys Met Lys Thr Tyr Tyr Thr Glu Pro Phe Asn
 355 360 365
 Cys Trp Arg Arg Ile Trp Arg Cys Leu Cys Asp Asp Gly Val Gly Leu
 370 375 380
 Val Glu Trp Cys Cys Thr Ser

385

390

<210> 17

<211> 414
 <212> PRT
 <213> rhinotracheitis virus

<400> 17

```

Met Gly Ser Glu Leu Tyr Ile Ile Glu Gly Val Ser Ser Ser Glu Ile
 1           5           10           15
Val Leu Lys Gln Val Leu Arg Arg Ser Gln Lys Ile Leu Leu Gly Leu
    20           25           30
Val Leu Ser Ala Leu Gly Leu Thr Leu Thr Ser Thr Ile Val Ile Ser
    35           40           45
Ile Cys Ile Ser Val Glu Gln Val Lys Leu Arg Gln Cys Val Asp Thr
 50           55           60

Tyr Trp Ala Glu Asn Gly Ser Leu His Pro Gly Gln Ser Thr Glu Asn
65           70           75           80
Thr Ser Thr Arg Gly Lys Thr Thr Thr Lys Asp Pro Arg Arg Leu Gln
    85           90           95
Ala Thr Gly Ala Gly Lys Phe Glu Ser Cys Gly Tyr Val Gln Val Val
    100           105           110
    
```

```

Asp Gly Asp Met His Asp Arg Ser Tyr Ala Val Leu Gly Gly Val Asp
    115           120           125
Cys Leu Gly Leu Leu Ala Leu Cys Glu Ser Gly Pro Ile Cys Gln Gly
    130           135           140
Asp Thr Trp Ser Glu Asp Gly Asn Phe Cys Arg Cys Thr Phe Ser Ser
    145           150           155           160
His Gly Val Ser Cys Lys Lys Pro Lys Ser Lys Ala Thr Thr Ala
    165           170           175
    
```

```

Gln Arg Asn Ser Lys Pro Ala Asn Ser Lys Ser Thr Pro Pro Val His
    180           185           190
Ser Asp Arg Ala Ser Lys Glu His Asn Pro Ser Gln Gly Glu Gln Pro
    195           200           205
Arg Arg Gly Pro Thr Ser Ser Lys Thr Thr Ile Ala Ser Thr Pro Ser
    210           215           220
Thr Glu Asp Thr Ala Lys Pro Thr Ile Ser Lys Pro Lys Leu Thr Ile
    225           230           235           240
    
```

```

Arg Pro Ser Gln Arg Gly Pro Ser Gly Ser Thr Lys Ala Ala Ser Ser
    245           250           255
Thr Pro Ser His Lys Thr Asn Thr Arg Gly Thr Ser Lys Thr Thr Asp
    260           265           270
Gln Arg Pro Arg Thr Gly Pro Thr Pro Glu Arg Pro Arg Gln Thr His
    275           280           285
Ser Thr Ala Thr Pro Pro Pro Thr Thr Pro Ile His Lys Gly Arg Ala
    
```

```

    290           295           300
Pro Thr Pro Lys Pro Thr Thr Asp Leu Lys Val Asn Pro Arg Glu Gly
    305           310           315           320
Ser Thr Ser Pro Thr Ala Ile Gln Lys Asn Pro Thr Thr Gln Ser Asn
    325           330           335
Leu Val Asp Cys Thr Leu Ser Asp Pro Asp Glu Pro Gln Arg Ile Cys
    340           345           350
    
```

Tyr Gln Val Gly Thr Tyr Asn Pro Ser Gln Ser Gly Thr Cys Asn Ile

355 360 365
Glu Val Pro Lys Cys Ser Thr Tyr Gly His Ala Cys Met Ala Thr Leu
370 375 380
Tyr Asp Thr Pro Phe Asn Cys Trp Arg Arg Thr Arg Arg Cys Ile Cys
385 390 395 400
Asp Ser Gly Gly Glu Leu Ile Glu Trp Cys Cys Thr Ser Gln
405 410

<210> 18
<211> 539
<212> PRT
<213> human Metapneumo virus

<400> 18
Met Ser Trp Lys Val Val Ile Ile Phe Ser Leu Leu Ile Thr Pro Gln
1 5 10 15
His Gly Leu Lys Glu Ser Tyr Leu Glu Glu Ser Cys Ser Thr Ile Thr
20 25 30
Glu Gly Tyr Leu Ser Val Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Asn Val Phe
35 40 45
Thr Leu Glu Val Gly Asp Val Glu Asn Leu Thr Cys Ala Asp Gly Pro
50 55 60

Ser Leu Ile Lys Thr Glu Leu Asp Leu Thr Lys Ser Ala Leu Arg Glu
65 70 75 80
Leu Arg Thr Val Ser Ala Asp Gln Leu Ala Arg Glu Glu Gln Ile Glu
85 90 95
Asn Pro Arg Gln Ser Arg Phe Val Leu Gly Ala Ile Ala Leu Gly Val
100 105 110
Ala Thr Ala Ala Ala Val Thr Ala Gly Val Ala Ile Ala Lys Thr Ile
115 120 125

Arg Leu Glu Ser Glu Val Thr Ala Ile Lys Asn Ala Leu Lys Lys Thr
130 135 140
Asn Glu Ala Val Ser Thr Leu Gly Asn Gly Val Arg Val Leu Ala Thr
145 150 155 160
Ala Val Arg Glu Leu Lys Asp Phe Val Ser Lys Asn Leu Thr Arg Ala
165 170 175
Ile Asn Lys Asn Lys Cys Asp Ile Ala Asp Leu Lys Met Ala Val Ser
180 185 190

Phe Ser Gln Phe Asn Arg Arg Phe Leu Asn Val Val Arg Gln Phe Ser
195 200 205
Asp Asn Ala Gly Ile Thr Pro Ala Ile Ser Leu Asp Leu Met Thr Asp
210 215 220
Ala Glu Leu Ala Arg Ala Val Ser Asn Met Pro Thr Ser Ala Gly Gln
225 230 235 240
Ile Lys Leu Met Leu Glu Asn Arg Ala Met Val Arg Arg Lys Gly Phe
245 250 255

Gly Ile Leu Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln
260 265 270

Leu Pro Ile Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala
 275 280 285
 Ala Pro Ser Cys Ser Gly Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg
 290 295 300
 Glu Asp Gln Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr
 305 310 315 320

Pro Asn Glu Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp
 325 330 335
 Thr Ala Ala Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile
 340 345 350
 Asn Ile Ser Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His
 355 360 365
 Pro Ile Ser Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys
 370 375 380

Tyr Lys Gly Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile
 385 390 395 400
 Lys Gln Leu Asn Lys Gly Cys Ser Tyr Ile Thr Asn Gln Asp Ala Asp
 405 410 415
 Thr Val Thr Ile Asp Asn Thr Val Tyr Gln Leu Ser Lys Val Glu Gly
 420 425 430
 Glu Gln His Val Ile Lys Gly Arg Pro Val Ser Ser Ser Phe Asp Pro
 435 440 445

Val Lys Phe Pro Glu Asp Gln Phe Asn Val Ala Leu Asp Gln Val Phe
 450 455 460
 Glu Ser Ile Glu Asn Ser Gln Ala Leu Val Asp Gln Ser Asn Arg Ile
 465 470 475 480
 Leu Ser Ser Ala Glu Lys Gly Asn Thr Gly Phe Ile Ile Val Ile Ile
 485 490 495
 Leu Ile Ala Val Leu Gly Ser Thr Met Ile Leu Val Ser Val Phe Ile
 500 505 510

Ile Ile Lys Lys Thr Lys Lys Pro Thr Gly Ala Pro Pro Glu Leu Ser
 515 520 525
 Gly Val Thr Asn Asn Gly Phe Ile Pro His Asn
 530 535

<210> 19

<211> 539

<212> PRT

<213> human Metapneumo virus

<400> 19

Met Ser Trp Lys Val Val Ile Ile Phe Ser Leu Leu Ile Thr Pro Gln
 1 5 10 15
 His Gly Leu Lys Glu Ser Tyr Leu Glu Glu Ser Cys Ser Thr Ile Thr
 20 25 30
 Glu Gly Tyr Leu Ser Val Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Asn Val Phe
 35 40 45
 Thr Leu Glu Val Gly Asp Val Glu Asn Leu Thr Cys Ser Asp Gly Pro
 50 55 60

Ser Leu Ile Lys Thr Glu Leu Asp Leu Thr Lys Ser Ala Leu Arg Glu
 65 70 75 80
 Leu Lys Thr Val Ser Ala Asp Gln Leu Ala Arg Glu Glu Gln Ile Glu
 85 90 95
 Asn Pro Arg Gln Ser Arg Phe Val Leu Gly Ala Ile Ala Leu Gly Val
 100 105 110
 Ala Thr Ala Ala Ala Val Thr Ala Gly Val Ala Ile Ala Lys Thr Ile
 115 120 125

 Arg Leu Glu Ser Glu Val Thr Ala Ile Lys Asn Ala Leu Lys Thr Thr
 130 135 140
 Asn Glu Ala Val Ser Thr Leu Gly Asn Gly Val Arg Val Leu Ala Thr
 145 150 155 160
 Ala Val Arg Glu Leu Lys Asp Phe Val Ser Lys Asn Leu Thr Arg Ala

 165 170 175
 Ile Asn Lys Asn Lys Cys Asp Ile Asp Asp Leu Lys Met Ala Val Ser
 180 185 190
 Phe Ser Gln Phe Asn Arg Arg Phe Leu Asn Val Val Arg Gln Phe Ser
 195 200 205
 Asp Asn Ala Gly Ile Thr Pro Ala Ile Ser Leu Asp Leu Met Thr Asp
 210 215 220
 Ala Glu Leu Ala Arg Ala Val Ser Asn Met Pro Thr Ser Ala Gly Gln

 225 230 235 240
 Ile Lys Leu Met Leu Glu Asn Arg Ala Met Val Arg Arg Lys Gly Phe
 245 250 255
 Gly Ile Leu Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Thr Val Gln
 260 265 270
 Leu Pro Ile Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala
 275 280 285
 Ala Pro Ser Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg

 290 295 300
 Glu Asp Gln Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr
 305 310 315 320
 Pro Asn Glu Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp
 325 330 335
 Thr Ala Ala Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile
 340 345 350
 Asn Ile Ser Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His

 355 360 365
 Pro Ile Ser Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys
 370 375 380
 Tyr Lys Gly Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile
 385 390 395 400
 Lys Gln Leu Asn Lys Gly Cys Ser Tyr Ile Thr Asn Gln Asp Ala Asp
 405 410 415
 Thr Val Thr Ile Asp Asn Thr Val Tyr Gln Leu Ser Lys Val Glu Gly

 420 425 430
 Glu Gln His Val Ile Lys Gly Arg Pro Val Ser Ser Ser Phe Asp Pro
 435 440 445
 Ile Lys Phe Pro Glu Asp Gln Phe Asn Val Ala Leu Asp Gln Val Phe
 450 455 460

Glu Asn Ile Glu Asn Ser Gln Ala Leu Val Asp Gln Ser Asn Arg Ile
 465 470 475 480
 Leu Ser Ser Ala Glu Lys Gly Asn Thr Gly Phe Ile Ile Val Ile Ile

485 490 495
 Leu Ile Ala Val Leu Gly Ser Ser Met Ile Leu Val Ser Ile Phe Ile
 500 505 510
 Ile Ile Lys Lys Thr Lys Lys Pro Thr Gly Ala Pro Pro Glu Leu Ser
 515 520 525
 Gly Val Thr Asn Asn Gly Phe Ile Pro His Ser
 530 535

<210> 20

<211> 539

<212> PRT

<213> human Metapneumo virus

<400> 20

Met Ser Trp Lys Val Met Ile Ile Ile Ser Leu Leu Ile Thr Pro Gln
 1 5 10 15
 His Gly Leu Lys Glu Ser Tyr Leu Glu Glu Ser Cys Ser Thr Ile Thr
 20 25 30
 Glu Gly Tyr Leu Ser Val Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Asn Val Phe
 35 40 45
 Thr Leu Glu Val Gly Asp Val Glu Asn Leu Thr Cys Thr Asp Gly Pro
 50 55 60

Ser Leu Ile Lys Thr Glu Leu Asp Leu Thr Lys Ser Ala Leu Arg Glu
 65 70 75 80
 Leu Lys Thr Val Ser Ala Asp Gln Leu Ala Arg Glu Glu Gln Ile Glu
 85 90 95
 Asn Pro Arg Gln Ser Arg Phe Val Leu Gly Ala Ile Ala Leu Gly Val
 100 105 110
 Ala Thr Ala Ala Ala Val Thr Ala Gly Ile Ala Ile Ala Lys Thr Ile
 115 120 125

Arg Leu Glu Ser Glu Val Asn Ala Ile Lys Gly Ala Leu Lys Gln Thr
 130 135 140
 Asn Glu Ala Val Ser Thr Leu Gly Asn Gly Val Arg Val Leu Ala Thr
 145 150 155 160
 Ala Val Arg Glu Leu Lys Glu Phe Val Ser Lys Asn Leu Thr Ser Ala
 165 170 175
 Ile Asn Arg Asn Lys Cys Asp Ile Ala Asp Leu Lys Met Ala Val Ser
 180 185 190

Phe Ser Gln Phe Asn Arg Arg Phe Leu Asn Val Val Arg Gln Phe Ser
 195 200 205
 Asp Asn Ala Gly Ile Thr Pro Ala Ile Ser Leu Asp Leu Met Thr Asp
 210 215 220
 Ala Glu Leu Ala Arg Ala Val Ser Tyr Met Pro Thr Ser Ala Gly Gln
 225 230 235 240
 Ile Lys Leu Met Leu Glu Asn Arg Ala Met Val Arg Arg Lys Gly Phe
 245 250 255

Gly Ile Leu Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln
260 265 270
Leu Pro Ile Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala
275 280 285
Ala Pro Ser Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg
290 295 300
Glu Asp Gln Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr
305 310 315 320

Pro Asn Glu Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp
325 330 335
Thr Ala Ala Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile
340 345 350
Asn Ile Ser Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His
355 360 365
Pro Ile Ser Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys
370 375 380

Tyr Lys Gly Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Trp Val Gly Ile Ile
385 390 395 400
Lys Gln Leu Pro Lys Gly Cys Ser Tyr Ile Thr Asn Gln Asp Ala Asp
405 410 415
Thr Val Thr Ile Asp Asn Thr Val Tyr Gln Leu Ser Lys Val Glu Gly
420 425 430
Glu Gln His Val Ile Lys Gly Arg Pro Val Ser Ser Ser Phe Asp Pro
435 440 445

Ile Lys Phe Pro Glu Asp Gln Phe Asn Val Ala Leu Asp Gln Val Phe
450 455 460
Glu Ser Ile Glu Asn Ser Gln Ala Leu Val Asp Gln Ser Asn Lys Ile
465 470 475 480
Leu Asn Ser Ala Glu Lys Gly Asn Thr Gly Phe Ile Ile Val Val Ile
485 490 495
Leu Val Ala Val Leu Gly Leu Thr Met Ile Ser Val Ser Ile Ile Ile
500 505 510

Ile Ile Lys Lys Thr Arg Lys Pro Thr Gly Ala Pro Pro Glu Leu Asn
515 520 525
Gly Val Thr Asn Gly Gly Phe Ile Pro His Ser
530 535

<210> 21
<211> 539
<212> PRT
<213> human Metapneumo virus

<400> 21
Met Ser Trp Lys Val Met Ile Ile Ile Ser Leu Leu Ile Thr Pro Gln
1 5 10 15
His Gly Leu Lys Glu Ser Tyr Leu Glu Glu Ser Cys Ser Thr Ile Thr
20 25 30
Glu Gly Tyr Leu Ser Val Leu Arg Thr Gly Trp Tyr Thr Asn Val Phe

35 40 45
 Thr Leu Glu Val Gly Asp Val Glu Asn Leu Thr Cys Thr Asp Gly Pro
 50 55 60
 Ser Leu Ile Lys Thr Glu Leu Asp Leu Thr Lys Ser Ala Leu Arg Glu
 65 70 75 80
 Leu Lys Thr Val Ser Ala Asp Gln Leu Ala Arg Glu Glu Gln Ile Glu
 85 90 95
 Asn Pro Arg Gln Ser Arg Phe Val Leu Gly Ala Ile Ala Leu Gly Val

 100 105 110
 Ala Thr Ala Ala Val Thr Ala Gly Ile Ala Ile Ala Lys Thr Ile
 115 120 125
 Arg Leu Glu Ser Glu Val Asn Ala Ile Lys Gly Ala Leu Lys Thr Thr
 130 135 140
 Asn Glu Ala Val Ser Thr Leu Gly Asn Gly Val Arg Val Leu Ala Thr
 145 150 155 160
 Ala Val Arg Glu Leu Lys Glu Phe Val Ser Lys Asn Leu Thr Ser Ala

 165 170 175
 Ile Asn Lys Asn Lys Cys Asp Ile Ala Asp Leu Lys Met Ala Val Ser
 180 185 190
 Phe Ser Gln Phe Asn Arg Arg Phe Leu Asn Val Val Arg Gln Phe Ser
 195 200 205
 Asp Asn Ala Gly Ile Thr Pro Ala Ile Ser Leu Asp Leu Met Thr Asp
 210 215 220
 Ala Glu Leu Ala Arg Ala Val Ser Tyr Met Pro Thr Ser Ala Gly Gln

 225 230 235 240
 Ile Lys Leu Met Leu Glu Asn Arg Ala Met Val Arg Arg Lys Gly Phe
 245 250 255
 Gly Ile Leu Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln
 260 265 270
 Leu Pro Ile Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala
 275 280 285
 Ala Pro Ser Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg

 290 295 300
 Glu Asp Gln Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr
 305 310 315 320
 Pro Asn Glu Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp
 325 330 335
 Thr Ala Ala Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile
 340 345 350
 Asn Ile Ser Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His

 355 360 365
 Pro Ile Ser Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys
 370 375 380
 Tyr Lys Gly Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile
 385 390 395 400
 Lys Gln Leu Pro Lys Gly Cys Ser Tyr Ile Thr Asn Gln Asp Ala Asp
 405 410 415
 Thr Val Thr Ile Asp Asn Thr Val Tyr Gln Leu Ser Lys Val Glu Gly

 420 425 430
 Glu Gln His Val Ile Lys Gly Arg Pro Val Ser Ser Ser Phe Asp Pro
 435 440 445

Ile Arg Phe Pro Glu Asp Gln Phe Asn Val Ala Leu Asp Gln Val Phe
450 455 460
Glu Ser Ile Glu Asn Ser Gln Ala Leu Val Asp Gln Ser Asn Lys Ile
465 470 475 480
Leu Asn Ser Ala Glu Lys Gly Asn Thr Gly Phe Ile Ile Val Ile Ile
485 490 495
Leu Ile Ala Val Leu Gly Leu Thr Met Ile Ser Val Ser Ile Ile Ile
500 505 510
Ile Ile Lys Lys Thr Arg Lys Pro Thr Gly Ala Pro Pro Glu Leu Asn
515 520 525
Gly Val Thr Asn Gly Gly Phe Ile Pro His Ser
530 535

<210> 22

<211> 1620

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 22

atgtcttggg aagtgggat cattttttca ttgttaataa cacctcaaca cggctctaaa 60
gagagctact tagaagagtc atgtagcact ataactgaag gatatctcag tgttctgagg 120
acaggtttgt acaccaatgt ttttacctg gaggtaggcg atgtagagaa cttacatgt 180
gccgatggac ccagcttaat aaaaacagaa ttagacctga ccaaaagtgc actaagagag 240
ctcagaacag ttctgtctga tcaactggca agagaggagc aaattgaaaa tcccagacaa 300
tctagattcg ttctaggagc aatagcactc ggtgttgcaa ctgcagctgc agttacagca 360
ggtgttgcaa ttgccaaaac catccggctt gaaagtgaag taacagcaat taagaatgcc 420
ctcaaaaaga ccaatgaagc agtatctaca ttgggggaatg gagttcgtgt gttggcaact 480
gcagtgagag agctgaaaga ttttgtgagc aagaatctaa cacgtgcaat caacaaaaac 540
aagtgcgaca ttgtgacct gaaaatggcc gttagcttca gtcaattcaa cagaagggtc 600
ctaaatgttg tgcggcaatt ttcagacaac gctggaataa caccagcaat atctttggac 660
ttaatgacag atgtgcaact agccagagct gtttccaaca tgccaacatc tgcaggacaa 720
ataaaactga tgttggagaa ccgtgcaatg gtaagaagaa aagggttcgg aatcctgata 780
ggagtttacg gaagctccgt aatttcatg gtgcaactgc caatctttgg ggttatagac 840
acgccttgct ggatagtaaa agcagcccct tcttgttcag gaaaaaaggg aaactatgct 900
tgccctctaa gagaagacca aggatgggtat tgtcaaaatg cagggtcaac tgtttactac 960
ccaaatgaaa aagactgtga aacaagagga gaccatgtct tttgcgacac agcagcagga 1020
atcaatgttg ctgagcagtc aaaggagtc aacataaaca tatctactac taattaccca 1080
tgcaaagtta gcacaggaag acatcctatc agtatggttg cactatctcc tcttggggct 1140
ttggttgctt gctacaaggg agtgagctgt tccattggca gcaacagagt agggatcatc 1200
aagcaactga acaaaggctg ctcttatata accaaccaag acgcagacac agtgacaata 1260
gacaacactg tataccagct aagcaaagt gaaggcgaac agcatgttat aaaaggaagg 1320
ccagtgtcaa gcagctttga ccagtcgaag tttcctgaag atcaattcaa tgttgcaatt 1380
gaccaagttt tcgagagcat tgagaacagt caggccttgg tggatcaatc aaacagaatc 1440
ctaagcagtg cagagaaagg aaacactggc ttcattcattg taataattct aattgctgtc 1500
cttggctcta ccatgatcct agtgagtgtt tttatcataa taaagaaaac aaagaaaccc 1560
acaggagcac ctccagagct gagggtgtc acaacaatg gcttcatacc acataattag 1620

<210> 23

<211> 1620
<212> DNA
<213> human Metapneumo virus

<400> 23

```

atgtcttggg aagtggatgat cattttttca ttgctaataa cacctcaaca cggctcttaaa 60
gagagctacc tagaagaatc atgtagcact ataactgagg gatatcttag tgttctgagg 120
acaggttggg ataccaacgt ttttacatta gaggtgggtg atgtagaaaa cttacatgt 180
tctgatggac ctacgctaata aaaaacagaa ttagatctga ccaaaagtgc actaagagag 240
ctcaaaacag tctctgtctga ccaattggca agagaggaac aaattgagaa tcccagacaa 300
tctaggtttg tcttaggagc aatagcactc ggtgttgcaa cagcagctgc agtcacagca 360
ggtgttgcaa ttgcaaaac catccggctt gagagtgaag tcacagcaat taagaatgcc 420

ctcaaaacga ccaatgaagc agtatctaca ttggggaatg gagttcgagt gttggcaact 480
gcagtgagag agctaaaaga ctttgtgagc aagaatttaa ctctgtgcaat caacaaaaac 540
aagtgcgaca ttgatgacct aaaaatggct gttagcttca gtcaattcaa cagaagggtt 600
ctaaatgttg tgcggcaatt ttacagacaat gctggaataa caccagcaat atctttggac 660
ttaatgacag atgctgaact agccaggggc gtttctaaca tgccgacatc tgcaggacaa 720
ataaaattga tgttggagaa ccgtgcatg gtgcgaagaa aggggttcgg aatcctgata 780
ggggtctacg ggagctccgt aatttacacg gtgcagctgc caatcttgg cgttatagac 840
acgccttgct ggatagtaaa agcagcccct tcttgttccg aaaaaaggg aaactatgct 900

tgctcttaa gagaagacca aggggtggtat tgtcagaatg cagggtcaac tgtttactac 960
ccaaatgaga aagactgtga aacaagagga gaccatgtct tttgcgacac agcagcagga 1020
attaatgttg ctgagcaatc aaaggagtgc aacatcaaca tatccactac aaattaccca 1080
tgcaaatgca gcacaggaag acatcctatc agtatggttg cactgtctcc tcttggggct 1140
ctggttgctt gctacaaagg agtaagctgt tccattggca gcaacagagt agggatcatc 1200
aagcagctga acaaagggtg ctctatata accaaccaag atgcagacac agtgacaata 1260
gacaacactg tatatcagct aagcaaagtt gaggggtgaac agcatgttat aaaaggcaga 1320
ccagtgtcaa gcagctttga tccaatcaag tttcctgaag atcaattcaa tgttgcaact 1380

gaccaagttt ttgagaacat tgaaaacagc caggccttag tagatcaatc aaacagaatc 1440
ctaagcagtg cagagaaagg gaatactggc tttatcattg taataattct aattgctgtc 1500
cttggtctta gcatgatcct agtgagcatc ttattataa tcaagaaaac aaagaaacca 1560
acgggagcac ctccagagct gagtgggtgc acaacaatg gcttcatacc acacagttag 1620

```

<210> 24
<211> 1620
<212> DNA
<213> human Metapneumo virus

<400> 24

```

atgtcttggg aagtgatgat catcatttcg ttactcataa cccccagca cgggctaaag 60
gagagttatt tggagaatc atgtagtact ataactgagg gatacctcag tgttttaaga 120
acaggctggt aactaatgt cttcacatta gaagttgggt atgttgaaaa tcttacatgt 180
actgatggac ctacgttaat caaaacagaa cttgatctaa caaaaagtgc ttttaaggga 240
ctcaaaacag tctctgtctga tcagttggcg agagaggagc aaattgaaaa tcccagacaa 300
tcaagatttg tcttaggtgc gatagctctc ggagttgcta cagcagcagc agtcacagca 360
ggcattgcaa tagcaaaac cataaggctt gagagtgagg tgaatgcaat taaagtgct 420

ctcaaacaaa ctaatgaagc agtatccaca ttagggaatg gtgtgcgggt cctagccact 480
gcagtgagag agctaaaaga atttgtgagc aaaaacctga ctagtgaat caacaggaac 540
aatgtgaca ttctgtatct gaagatggct gtcagcttca gtcaattcaa cagaagattt 600

```

ctaaatgttg tgcggcagtt ttcagacaat gcagggataa caccagcaat atcattggac 660
ctgatgactg atgctgagtt ggccagagct gtatcataca tgccaacatc tgcagggcag 720
ataaaactga tgttggagaa ccgcgcaatg gtaaggagaa aaggatttgg aatcctgata 780
ggggctctacg gaagctctgt gattttacatg gttcaattgc cgatctttgg tgtcatagat 840
acaccttggt ggatcatcaa ggcagctccc tcttgctcag aaaaaaacgg gaattatgct 900

tgcctcctaa gagaggatca aggggtggtat tgtaaaaatg caggatctac tgtttactac 960
ccaaatgaaa aagactgcga aacaagaggt gatcatgttt tttgtgacac agcagcaggg 1020
atcaatgttg ctgagcaatc aagagaatgc aacatcaaca tatctactac caactaccca 1080
tgcaaagtca gcacaggaag acacctata agcatggttg cactatcacc tctcggtgct 1140
ttggtggctt gctataaagg ggtaagctgc tcgattggca gcaattgggt tggaaatcac 1200
aaacaattac ccaaagctg ctcatataca accaaccagg atgcagacac tgtaacaatt 1260
gacaataccg tgtatcaact aagcaaagt gaaagtgaac agcatgtaat aaaagggaga 1320
ccagtttcaa gcagttttga tccaatcaag tttcctgagg atcagttcaa tgttgcgctt 1380

gatcaagtct tcgaaagcat tgagaacagt caggcactag tggaccagtc aaacaaaatt 1440
ctaaacagt cagaaaaagg aaacactggt ttcattatcg tagtaatttt ggttgctggt 1500
cttggtctaa ccatgatttc agtgagcatc atcatcataa tcaagaaaac aaggaagccc 1560
acaggagcac ctccagagct gaatggtgtc accaacggcg gtttcatacc acatagttag 1620

<210> 25

<211> 1620

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 25

atgtcttggg aagtgatgat tatcatttcg ttactcataa cacctcagca cggactaaaa 60
gaaagttatt tagaagaatc atgtagtact ataactgaag gatatctcag tgttttaaga 120
acaggttggg acaccaatgt ctttacatta gaagttgggt atgttgaaaa tcttacatgt 180
actgatggac ctagcttaat caaaacagaa cttagaccta ccaaaagtgc tctgagagaa 240
ctcaaaacag tttctgtcga tcagttagcg agagaagaac aaattgaaaa tcccagacaa 300
tcaaggtttg tctaggtgc aatagctctt ggagttgcca cagcagcagc agtcacagca 360
ggcattgcaa tagccaaaac cataagactt gagagtgaag tgaatgcaat caaaggtgct 420

ctcaaaacaa ccaacgaggg agtatccaca ctaggaaatg gagtgcgagt cctagccact 480
gcagtaagag agctgaaaga atttgtgagc aaaaacctga ctagtgcgat caacaagaac 540
aatgtgaca ttgctgatct gaagatggct gtcagcttca gtcaattcaa cagaagattc 600
ctaaatgttg tgcggcagtt ttcagacaat gcagggataa caccagcaat atcattggac 660
ctaatgactg atgctgagct ggccagagct gtatcataca tgccaacatc tgcagggcag 720
ataaaactaa tgttagagaa ccgtgcaatg gtgaggagaa aaggatttgg aatcttgata 780
ggggctctacg gaagctctgt gattttacatg gtccagctgc cgatctttgg tgtcatagat 840
acaccttggt ggataatcaa ggcagctccc tcttgctcag aaaaagatgg aaattatgct 900

tgcctcctaa gagaggatca aggggtggtat tgcaaaaatg caggatccac tgtttactac 960
ccaaatgaaa aagactgcga aacaagaggt gatcatgttt tttgtgacac agcagcaggg 1020
atcaatgttg ctgagcaatc aagagaatgc aacatcaaca tatctaccac caactaccca 1080
tgcaaagtca gcacaggaag acacctatc agcatggttg cactatcacc tctcggtgct 1140
ttggtagctt gctacaaggg ggttagctgc tcgattggca gtaatcggtt tggaaataac 1200
aaacaactac ctaaaggctg ctcatataca actaaccagg acgcagacac tgtaacaatt 1260
gacaacactg tgtatcaact aagcaaagt gagggtgaac agcatgtaat aaaagggaga 1320
ccagtttcaa gcagttttga tccaatcagg tttcctgagg atcagttcaa tgttgcgctt 1380

gatcaagtct ttgaaagcat tgaaaacagt caagcactag tggaccagtc aaacaaaatt 1440
ctgaacagt cagaaaaagg aaacactggt ttcattattg taataatttt gattgctggt 1500

cttgggttaa ccatgatttc agtgagcatc atcatcataa tcaaaaaaac aaggaagccc 1560
acaggggcac ctccagagct gaatggtgtt accaacggcg gttttatacc gcatagttag 1620

<210> 26
<211> 236
<212> PRT
<213> human Metapneumo virus

<400> 26
Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Thr Ile Asp Met Leu Lys Ala
1 5 10 15
Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
20 25 30
Leu Val Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
35 40 45
Leu Ile Ile Asn Tyr Lys Met Gln Lys Asn Thr Ser Glu Ser Glu His
50 55 60

His Thr Ser Ser Ser Pro Met Glu Ser Ser Arg Glu Thr Pro Thr Val
65 70 75 80
Pro Thr Asp Asn Ser Asp Thr Asn Ser Ser Pro Gln His Pro Thr Gln
85 90 95
Gln Ser Thr Glu Gly Ser Thr Leu Tyr Phe Ala Ala Ser Ala Ser Ser
100 105 110
Pro Glu Thr Glu Pro Thr Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asn Arg Pro Pro
115 120 125

Phe Val Asp Thr His Thr Thr Pro Pro Ser Ala Ser Arg Thr Lys Thr
130 135 140
Ser Pro Ala Val His Thr Lys Asn Asn Pro Arg Thr Ser Ser Arg Thr
145 150 155 160
His Ser Pro Pro Arg Ala Thr Thr Arg Thr Ala Arg Arg Thr Thr Thr
165 170 175
Leu Arg Thr Ser Ser Thr Arg Lys Arg Pro Ser Thr Ala Ser Val Gln
180 185 190

Pro Asp Ile Ser Ala Thr Thr His Lys Asn Glu Glu Ala Ser Pro Ala
195 200 205
Ser Pro Gln Thr Ser Ala Ser Thr Thr Arg Ile Gln Arg Lys Ser Val
210 215 220
Glu Ala Asn Thr Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Thr Ser
225 230 235

<210> 27
<211> 219
<212> PRT
<213> human Metapneumo virus

<400> 27
Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Leu Lys Ala
1 5 10 15

Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
 20 25 30
 Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Ile Gln Lys Thr Thr Ser Glu Ser Glu His
 50 55 60

His Thr Ser Ser Pro Pro Thr Glu Pro Asn Lys Glu Ala Ser Thr Ile
 65 70 75 80
 Ser Thr Asp Asn Pro Asp Ile Asn Pro Ser Ser Gln His Pro Thr Gln
 85 90 95
 Gln Ser Thr Glu Asn Pro Thr Leu Asn Pro Ala Ala Ser Ala Ser Pro
 100 105 110
 Ser Glu Thr Glu Pro Ala Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asn Arg Leu Ser
 115 120 125

Ser Val Asp Arg Ser Thr Ala Gln Pro Ser Glu Ser Arg Thr Lys Thr
 130 135 140
 Lys Pro Thr Val His Thr Ile Asn Asn Pro Asn Thr Ala Ser Ser Thr
 145 150 155 160
 Gln Ser Pro Pro Arg Thr Thr Thr Lys Ala Ile Arg Arg Ala Thr Thr
 165 170 175
 Phe Arg Met Ser Ser Thr Gly Lys Arg Pro Thr Thr Thr Leu Val Gln
 180 185 190

Ser Asp Ser Ser Thr Thr Thr Gln Asn His Glu Glu Thr Gly Ser Ala
 195 200 205
 Asn Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Met Gln Asn
 210 215

<210> 28
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 28
 Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
 1 5 10 15
 Lys Ile Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Arg Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
 20 25 30
 Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asp His Ala Thr Leu Arg Asn Met Ile Lys Thr Glu Asn
 50 55 60

Cys Ala Asn Met Pro Ser Ala Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
 65 70 75 80
 Ser Thr Ala Gly Pro Asn Thr Lys Pro Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln
 85 90 95
 Trp Thr Thr Glu Asn Ser Thr Ser Pro Val Ala Thr Pro Glu Gly His
 100 105 110
 Pro Tyr Thr Gly Thr Thr Gln Thr Ser Asp Thr Thr Ala Pro Gln Gln
 115 120 125

Thr Thr Asp Lys His Thr Ala Pro Leu Lys Ser Thr Asn Glu Gln Ile
130 135 140
Thr Gln Thr Thr Thr Glu Lys Lys Thr Ile Arg Ala Thr Thr Gln Lys
145 150 155 160
Arg Glu Lys Gly Lys Glu Asn Thr Asn Gln Thr Thr Ser Thr Ala Ala
165 170 175
Thr Gln Thr Thr Asn Thr Thr Asn Gln Ile Arg Asn Ala Ser Glu Thr
180 185 190

Ile Thr Thr Ser Asp Arg Pro Arg Thr Asp Thr Thr Thr Gln Ser Ser
195 200 205
Glu Gln Thr Thr Arg Ala Thr Asp Pro Ser Ser Pro Pro His His Ala
210 215 220

<210> 29

<211> 236

<212> PRT

<213> human Metapneumo virus

<400> 29

Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
1 5 10 15
Lys Met Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Lys Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
20 25 30
Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
35 40 45
Leu Ile Ile Asp Tyr Ala Met Leu Lys Asn Met Thr Lys Val Glu His
50 55 60

Cys Val Asn Met Pro Pro Val Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
65 70 75 80
Ser Ala Val Asp Leu Asn Thr Lys Pro Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln
85 90 95
Leu Ala Ala Glu Asp Ser Thr Ser Leu Ala Ala Thr Ser Glu Asp His
100 105 110
Leu His Thr Gly Thr Thr Pro Thr Pro Asp Ala Thr Val Ser Gln Gln

115 120 125
Thr Thr Asp Glu Tyr Thr Thr Leu Leu Arg Ser Thr Asn Arg Gln Thr
130 135 140
Thr Gln Thr Thr Thr Glu Lys Lys Pro Thr Gly Ala Thr Thr Lys Lys
145 150 155 160
Glu Thr Thr Thr Arg Thr Thr Ser Thr Ala Ala Thr Gln Thr Leu Asn
165 170 175
Thr Thr Asn Gln Thr Ser Tyr Val Arg Glu Ala Thr Thr Thr Ser Ala

180 185 190
Arg Ser Arg Asn Ser Ala Thr Thr Gln Ser Ser Asp Gln Thr Thr Gln
195 200 205

Ala Ala Asp Pro Ser Ser Gln Pro His His Thr Gln Lys Ser Thr Thr
 210 215 220
 Thr Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Ser Ser Pro Ser Ser
 225 230 235

<210> 30
 <211> 708
 <212> DNA
 <213> human Metapneumo virus

<400> 30
 gaggtgaaag tggagaacat tcgaacaata gatatgctca aagcaagagt aaaaaatcgt 60
 gtggcagcga gcaaatgctt taaaaatgcc tcttttgtcc tcataggaat aactacattg 120
 agtattgccc tcaatatcta tctgatcata aactataaaa tgcaaaaaaa cacatctgaa 180
 tcagaacatc acaccagctc atcacccatg gaatccagca gagaaactcc aacgggtccc 240
 acagacaact cagacaccaa ctcaagccca cagcatccaa ctcaacagtc cacagaaggc 300
 tccacactct actttgcagc ctcaagcaagc tcaccagaga cagaaccaac atcaacacca 360
 gatacaacaa accgcccgcc ctctgctcgac acacacacaa caccaccaag cgcaagcaga 420
 acaaagacaa gtccggcagt ccacacaaaa aacaacccaa ggacaagctc tagaacacat 480
 tctccaccac gggcaacgac aaggacggca cgcagaacca ccactctccg cacaagcagc 540
 acaagaaaga gaccgtccac agcatcagtc caacctgaca tcagcgaac aaccacaaaa 600
 aacgaagaag caagtccagc gagcccacaa acatctgcaa gcacaacaag aatacaaaagg 660
 aaaagcgtgg aggccaacac atcaacaaca tacaacaaa ctagttaa 708

<210> 31
 <211> 660
 <212> DNA
 <213> human Metapneumo virus

<400> 31
 atggaggtga aagtagagaa cattcgagca atagacatgc tcaaagcaag agtgaaaaat 60
 cggtgtggcac gtagcaaatg ctttaaaaat gcttctttaa tcctcatagg aataactaca 120
 ctgagtatat ctctcaatat ctatctgac ataaactaca caatacaaaa aaccacatcc 180
 gaatcagaac accacaccag ctaccaccc acagaacca acaaggaagc ttcaacaatc 240
 tccacagaca acccagacat caatccaagc tcacagcadc caactcaaca gtccacagaa 300
 aaccccacac tcaacccgc agcatcagcg agcccatcag aaacagaacc agcatcaaca 360
 ccagacacaa caaacgcct gtctccgta gacaggtcca cagcacaacc aagtgaagc 420
 agaacaaaaga caaacccgac agtcacacaa atcaacaacc caaacacagc ttccagtaca 480
 caatccccac caggacaac aacgaaggca atccgcagag ccaccacttt ccgcatgagc 540
 agcacaggaa aaagaccaac cacaacatta gtccagtccg acagcagcac cacaacccaa 600
 aatcatgaag aaacaggttc agcgaacca caggcgtctg caagcacaat gcaaaactag 660

<210> 32
 <211> 675
 <212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 32

```

atggaagtaa gagtggagaa cattcgagcg atagacatgt tcaaagcaaa gataaaaaac 60
cgtataagaa gcagcaggtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg actaacagcg 120
ttaagcatgg cacttaatat ttctctgac atcgatcatg caacattaag aaacatgac 180
aaaacagaaa actgtgctaa catgccgtcg gcagaaccaa gcaaaaagac cccaatgacc 240
tccacagcag gcccaaacac caaacccaat ccacagcaag caacacagtg gaccacagag 300
aactcaacat ccccgatagc aacccagag ggccatccat acacaggac aactcaaca 360
tcagacacaa cagctcccca gcaaacaca gacaaacaca cagcacgct aaaatcaacc 420
aatgaacaga tcacccagac aaccacagag aaaaagacaa tcagagcaac aacccaaaaa 480

agggaaaaag gaaaagaaaa cacaaccaa accacaagca cagctgcaac ccaaacaacc 540
aacaccacca accaaatcag aaatgcaagt gagacaatca caacatccga cagaccaga 600
actgacacca caacccaaag cagcgaacag acaaccggg caacagacc aagctcccca 660
ccacaccatg catag 675

```

<210> 33

<211> 711

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 33

```

atggaagtaa gagtggagaa cattcgggca atagacatgt tcaaagcaaa aatgaaaaac 60
cgtataagaa gtagcaagtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg attaacagca 120
ttaagtatgg cacttaatat ttttttaatc attgattatg caatgttaaa aaacatgacc 180
aaagtggaac actgtgttaa tatgccgctg gtagaaccaa gcaagaagac cccaatgacc 240
tctgcagtag acttaaacac caaacccaat ccacagcagg caacacagtt ggccgcagag 300
gattcaacat ctctagcagc aacctcagag gaccatctac acacaggac aactccaaca 360
ccagatgcaa cagtcctcga gcaaacaca gacgagtaca caacattgct gagatcaacc 420

aacagacaga ccacccaac aaccacagag aaaaagccaa ccggagcaac aacaaaaaa 480
gaaaccacaa ctgaactac aagcacagct gcaacccaaa cactcaacac taccaacca 540
actagctatg tgagagagc aaccacaaca tccgccagat ccagaaacag tgccacaact 600
caaagcagcg accaaacaac ccaggcagca gacccaagct cccaaccaca ccatacacag 660
aaaagcacia caacaacata caacacagac acatcctctc caagtagtta a 711

```

<210> 34

<211> 2005

<212> PRT

<213> human Metapneumo virus

<400> 34

```

Met Asp Pro Leu Asn Glu Ser Thr Val Asn Val Tyr Leu Pro Asp Ser
  1             5             10            15
Tyr Leu Lys Gly Val Ile Ser Phe Ser Glu Thr Asn Ala Ile Gly Ser
      20             25            30
Cys Leu Leu Lys Arg Pro Tyr Leu Lys Asn Asp Asn Thr Ala Lys Val
      35             40            45
Ala Ile Glu Asn Pro Val Ile Glu His Val Arg Leu Lys Asn Ala Val

```

50	55	60
Asn Ser Lys Met Lys Ile Ser Asp Tyr Lys Ile Val Glu Pro Val Asn		
65	70	75
Met Gln His Glu Ile Met Lys Asn Val His Ser Cys Glu Leu Thr Leu		
	85	90
Leu Lys Gln Phe Leu Thr Arg Ser Lys Asn Ile Ser Thr Leu Lys Leu		
	100	105
Asn Met Ile Cys Asp Trp Leu Gln Leu Lys Ser Thr Ser Asp Asp Thr		
	115	120
		125
Ser Ile Leu Ser Phe Ile Asp Val Glu Phe Ile Pro Ser Trp Val Ser		
130	135	140
Asn Trp Phe Ser Asn Trp Tyr Asn Leu Asn Lys Leu Ile Leu Glu Phe		
145	150	155
Arg Lys Glu Glu Val Ile Arg Thr Gly Ser Ile Leu Cys Arg Ser Leu		
	165	170
Gly Lys Leu Val Phe Val Val Ser Ser Tyr Gly Cys Ile Val Lys Ser		
	180	185
		190
Asn Lys Ser Lys Arg Val Ser Phe Phe Thr Tyr Asn Gln Leu Leu Thr		
	195	200
Trp Lys Asp Val Met Leu Ser Arg Phe Asn Ala Asn Phe Cys Ile Trp		
	210	215
Val Ser Asn Ser Leu Asn Glu Asn Gln Glu Gly Leu Gly Leu Arg Ser		
225	230	235
		240
Asn Leu Gln Gly Ile Leu Thr Asn Lys Leu Tyr Glu Thr Val Asp Tyr		
	245	250
Met Leu Ser Leu Cys Cys Asn Glu Gly Phe Ser Leu Val Lys Glu Phe		
	260	265
Glu Gly Phe Ile Met Ser Glu Ile Leu Arg Ile Thr Glu His Ala Gln		
	275	280
Phe Ser Thr Arg Phe Arg Asn Thr Leu Leu Asn Gly Leu Thr Asp Gln		
	290	295
		300
Leu Thr Lys Leu Lys Asn Lys Asn Arg Leu Arg Val His Gly Thr Val		
305	310	315
Leu Glu Asn Asn Asp Tyr Pro Met Tyr Glu Val Val Leu Lys Leu Leu		
	325	330
		335
Gly Asp Thr Leu Arg Cys Ile Lys Leu Leu Ile Asn Lys Asn Leu Glu		
	340	345
Asn Ala Ala Glu Leu Tyr Tyr Ile Phe Arg Ile Phe Gly His Pro Met		
	355	360
Val Asp Glu Arg Asp Ala Met Asp Ala Val Lys Leu Asn Asn Glu Ile		
	370	375
Thr Lys Ile Leu Arg Trp Glu Ser Leu Thr Glu Leu Arg Gly Ala Phe		
385	390	395
		400
Ile Leu Arg Ile Ile Lys Gly Phe Val Asp Asn Asn Lys Arg Trp Pro		
	405	410
Lys Ile Lys Asn Leu Lys Val Leu Ser Lys Arg Trp Thr Met Tyr Phe		
	420	425
Lys Ala Lys Ser Tyr Pro Ser Gln Leu Glu Leu Ser Glu Gln Asp Phe		
		430

435 440 445
 Leu Glu Leu Ala Ala Ile Gln Phe Glu Gln Glu Phe Ser Val Pro Glu
 450 455 460

 Lys Thr Asn Leu Glu Met Val Leu Asn Asp Lys Ala Ile Ser Pro Pro
 465 470 475 480
 Lys Arg Leu Ile Trp Ser Val Tyr Pro Lys Asn Tyr Leu Pro Glu Lys
 485 490 495
 Ile Lys Asn Arg Tyr Leu Glu Glu Thr Phe Asn Ala Ser Asp Ser Leu
 500 505 510
 Lys Thr Arg Arg Val Leu Glu Tyr Tyr Leu Lys Asp Asn Lys Phe Asp
 515 520 525

 Gln Lys Glu Leu Lys Ser Tyr Val Val Lys Gln Glu Tyr Leu Asn Asp
 530 535 540
 Lys Asp His Ile Val Ser Leu Thr Gly Lys Glu Arg Glu Leu Ser Val
 545 550 555 560
 Gly Arg Met Phe Ala Met Gln Pro Gly Lys Gln Arg Gln Ile Gln Ile
 565 570 575
 Leu Ala Glu Lys Leu Leu Ala Asp Asn Ile Val Pro Phe Phe Pro Glu

 580 585 590
 Thr Leu Thr Lys Tyr Gly Asp Leu Asp Leu Gln Arg Ile Met Glu Ile
 595 600 605
 Lys Ser Glu Leu Ser Ser Ile Lys Thr Arg Arg Asn Asp Ser Tyr Asn
 610 615 620
 Asn Tyr Ile Ala Arg Ala Ser Ile Val Thr Asp Leu Ser Lys Phe Asn
 625 630 635 640
 Gln Ala Phe Arg Tyr Glu Thr Thr Ala Ile Cys Ala Asp Val Ala Asp

 645 650 655
 Glu Leu His Gly Thr Gln Ser Leu Phe Cys Trp Leu His Leu Ile Val
 660 665 670
 Pro Met Thr Thr Met Ile Cys Ala Tyr Arg His Ala Pro Pro Glu Thr
 675 680 685
 Lys Gly Glu Tyr Asp Ile Asp Lys Ile Glu Glu Gln Ser Gly Leu Tyr
 690 695 700
 Arg Tyr His Met Gly Gly Ile Glu Gly Trp Cys Gln Lys Leu Trp Thr

 705 710 715 720
 Met Glu Ala Ile Ser Leu Leu Asp Val Val Ser Val Lys Thr Arg Cys
 725 730 735
 Gln Met Thr Ser Leu Leu Asn Gly Asp Asn Gln Ser Ile Asp Val Ser
 740 745 750
 Lys Pro Val Lys Leu Ser Glu Gly Leu Asp Glu Val Lys Ala Asp Tyr
 755 760 765
 Ser Leu Ala Val Lys Met Leu Lys Glu Ile Arg Asp Ala Tyr Arg Asn

 770 775 780
 Ile Gly His Lys Leu Lys Glu Gly Glu Thr Tyr Ile Ser Arg Asp Leu
 785 790 795 800
 Gln Phe Ile Ser Lys Val Ile Gln Ser Glu Gly Val Met His Pro Thr
 805 810 815
 Pro Ile Lys Lys Ile Leu Arg Val Gly Pro Trp Ile Asn Thr Ile Leu
 820 825 830

Asp Asp Ile Lys Thr Ser Ala Glu Ser Ile Gly Ser Leu Cys Gln Glu

835 840 845
 Leu Glu Phe Arg Gly Glu Ser Ile Ile Val Ser Leu Ile Leu Arg Asn
 850 855 860
 Phe Trp Leu Tyr Asn Leu Tyr Met His Glu Ser Lys Gln His Pro Leu
 865 870 875 880
 Ala Gly Lys Gln Leu Phe Lys Gln Leu Asn Lys Thr Leu Thr Ser Val
 885 890 895
 Gln Arg Phe Phe Glu Ile Lys Lys Glu Asn Glu Val Val Asp Leu Trp

900 905 910
 Met Asn Ile Pro Met Gln Phe Gly Gly Gly Asp Pro Val Val Phe Tyr
 915 920 925
 Arg Ser Phe Tyr Arg Arg Thr Pro Asp Phe Leu Thr Glu Ala Ile Ser
 930 935 940
 His Val Asp Ile Leu Leu Arg Ile Ser Ala Asn Ile Arg Asn Glu Ala
 945 950 955 960
 Lys Ile Ser Phe Phe Lys Ala Leu Leu Ser Ile Glu Lys Asn Glu Arg

965 970 975
 Ala Thr Leu Thr Thr Leu Met Arg Asp Pro Gln Ala Val Gly Ser Glu
 980 985 990
 Arg Gln Ala Lys Val Thr Ser Asp Ile Asn Arg Thr Ala Val Thr Ser
 995 1000 1005
 Ile Leu Ser Leu Ser Pro Asn Gln Leu Phe Ser Asp Ser Ala Ile His
 1010 1015 1020
 Tyr Ser Arg Asn Glu Glu Glu Val Gly Ile Ile Ala Asp Asn Ile Thr

1025 1030 1035 1040
 Pro Val Tyr Pro His Gly Leu Arg Val Leu Tyr Glu Ser Leu Pro Phe
 1045 1050 1055
 His Lys Ala Glu Lys Val Val Asn Met Ile Ser Gly Thr Lys Ser Ile
 1060 1065 1070
 Thr Asn Leu Leu Gln Arg Thr Ser Ala Ile Asn Gly Glu Asp Ile Asp
 1075 1080 1085
 Arg Ala Val Ser Met Met Leu Glu Asn Leu Gly Leu Leu Ser Arg Ile

1090 1095 1100
 Leu Ser Val Val Val Asp Ser Ile Glu Ile Pro Thr Lys Ser Asn Gly
 1105 1110 1115 1120
 Arg Leu Ile Cys Cys Gln Ile Ser Arg Thr Leu Arg Glu Thr Ser Trp
 1125 1130 1135
 Asn Asn Met Glu Ile Val Gly Val Thr Ser Pro Ser Ile Thr Thr Cys
 1140 1145 1150
 Met Asp Val Ile Tyr Ala Thr Ser Ser His Leu Lys Gly Ile Ile Ile

1155 1160 1165
 Glu Lys Phe Ser Thr Asp Arg Thr Thr Arg Gly Gln Arg Gly Pro Lys
 1170 1175 1180
 Ser Pro Trp Val Gly Ser Ser Thr Gln Glu Lys Lys Leu Val Pro Val
 1185 1190 1195 1200
 Tyr Asn Arg Gln Ile Leu Ser Lys Gln Gln Arg Glu Gln Leu Glu Ala
 1205 1210 1215
 Ile Gly Lys Met Arg Trp Val Tyr Lys Gly Thr Pro Gly Leu Arg Arg

1220 1225 1230

Leu Leu Asn Lys Ile Cys Leu Gly Ser Leu Gly Ile Ser Tyr Lys Cys
 1235 1240 1245
 Val Lys Pro Leu Leu Pro Arg Phe Met Ser Val Asn Phe Leu His Arg
 1250 1255 1260
 Leu Ser Val Ser Ser Arg Pro Met Glu Phe Pro Ala Ser Val Pro Ala
 1265 1270 1275 1280
 Tyr Arg Thr Thr Asn Tyr His Phe Asp Thr Ser Pro Ile Asn Gln Ala

 1285 1290 1295
 Leu Ser Glu Arg Phe Gly Asn Glu Asp Ile Asn Leu Val Phe Gln Asn
 1300 1305 1310
 Ala Ile Ser Cys Gly Ile Ser Ile Met Ser Val Val Glu Gln Leu Thr
 1315 1320 1325
 Gly Arg Ser Pro Lys Gln Leu Val Leu Ile Pro Gln Leu Glu Glu Ile
 1330 1335 1340
 Asp Ile Met Pro Pro Pro Val Phe Gln Gly Lys Phe Asn Tyr Lys Leu

 1345 1350 1355 1360
 Val Asp Lys Ile Thr Ser Asp Gln His Ile Phe Ser Pro Asp Lys Ile
 1365 1370 1375
 Asp Met Leu Thr Leu Gly Lys Met Leu Met Pro Thr Ile Lys Gly Gln
 1380 1385 1390
 Lys Thr Asp Gln Phe Leu Asn Lys Arg Glu Asn Tyr Phe His Gly Asn
 1395 1400 1405
 Asn Leu Ile Glu Ser Leu Ser Ala Ala Leu Ala Cys His Trp Cys Gly

 1410 1415 1420
 Ile Leu Thr Glu Gln Cys Ile Glu Asn Asn Ile Phe Lys Lys Asp Trp
 1425 1430 1435 1440
 Gly Asp Gly Phe Ile Ser Asp His Ala Phe Met Asp Phe Lys Ile Phe
 1445 1450 1455
 Leu Cys Val Phe Lys Thr Lys Leu Leu Cys Ser Trp Gly Ser Gln Gly
 1460 1465 1470
 Lys Asn Ile Lys Asp Glu Asp Ile Val Asp Glu Ser Ile Asp Lys Leu

 1475 1480 1485
 Leu Arg Ile Asp Asn Thr Phe Trp Arg Met Phe Ser Lys Val Met Phe
 1490 1495 1500
 Glu Ser Lys Val Lys Lys Arg Ile Met Leu Tyr Asp Val Lys Phe Leu
 1505 1510 1515 1520
 Ser Leu Val Gly Tyr Ile Gly Phe Lys Asn Trp Phe Ile Glu Gln Leu
 1525 1530 1535
 Arg Ser Ala Glu Leu His Glu Val Pro Trp Ile Val Asn Ala Glu Gly

 1540 1545 1550
 Asp Leu Val Glu Ile Lys Ser Ile Lys Ile Tyr Leu Gln Leu Ile Glu
 1555 1560 1565
 Gln Ser Leu Phe Leu Arg Ile Thr Val Leu Asn Tyr Thr Asp Met Ala
 1570 1575 1580
 His Ala Leu Thr Arg Leu Ile Arg Lys Lys Leu Met Cys Asp Asn Ala
 1585 1590 1595 1600
 Leu Leu Thr Pro Ile Pro Ser Pro Met Val Asn Leu Thr Gln Val Ile

 1605 1610 1615
 Asp Pro Thr Glu Gln Leu Ala Tyr Phe Pro Lys Ile Thr Phe Glu Arg
 1620 1625 1630
 Leu Lys Asn Tyr Asp Thr Ser Ser Asn Tyr Ala Lys Gly Lys Leu Thr

1635 1640 1645
 Arg Asn Tyr Met Ile Leu Leu Pro Trp Gln His Val Asn Arg Tyr Asn
 1650 1655 1660
 Phe Val Phe Ser Ser Thr Gly Cys Lys Val Ser Leu Lys Thr Cys Ile

 1665 1670 1675 1680
 Gly Lys Leu Met Lys Asp Leu Asn Pro Lys Val Leu Tyr Phe Ile Gly
 1685 1690 1695
 Glu Gly Ala Gly Asn Trp Met Ala Arg Thr Ala Cys Glu Tyr Pro Asp
 1700 1705 1710
 Ile Lys Phe Val Tyr Arg Ser Leu Lys Asp Asp Leu Asp His His Tyr
 1715 1720 1725
 Pro Leu Glu Tyr Gln Arg Val Ile Gly Glu Leu Ser Arg Ile Ile Asp

 1730 1735 1740
 Ser Gly Glu Gly Leu Ser Met Glu Thr Thr Asp Ala Thr Gln Lys Thr
 1745 1750 1755 1760
 His Trp Asp Leu Ile His Arg Val Ser Lys Asp Ala Leu Leu Ile Thr
 1765 1770 1775
 Leu Cys Asp Ala Glu Phe Lys Asp Arg Asp Asp Phe Phe Lys Met Val
 1780 1785 1790
 Ile Leu Trp Arg Lys His Val Leu Ser Cys Arg Ile Cys Thr Thr Tyr

 1795 1800 1805
 Gly Thr Asp Leu Tyr Leu Phe Ala Lys Tyr His Ala Lys Asp Cys Asn
 1810 1815 1820
 Val Lys Leu Pro Phe Phe Val Arg Ser Val Ala Thr Phe Ile Met Gln
 1825 1830 1835 1840
 Gly Ser Lys Leu Ser Gly Ser Glu Cys Tyr Ile Leu Leu Thr Leu Gly
 1845 1850 1855
 His His Asn Asn Leu Pro Cys His Gly Glu Ile Gln Asn Ser Lys Met

 1860 1865 1870
 Lys Ile Ala Val Cys Asn Asp Phe Tyr Ala Ala Lys Lys Leu Asp Asn
 1875 1880 1885
 Lys Ser Ile Glu Ala Asn Cys Lys Ser Leu Leu Ser Gly Leu Arg Ile
 1890 1895 1900
 Pro Ile Asn Lys Lys Glu Leu Asn Arg Gln Arg Arg Leu Leu Thr Leu
 1905 1910 1915 1920
 Gln Ser Asn His Ser Ser Val Ala Thr Val Gly Gly Ser Lys Val Ile

 1925 1930 1935
 Glu Ser Lys Trp Leu Thr Asn Lys Ala Asn Thr Ile Ile Asp Trp Leu
 1940 1945 1950
 Glu His Ile Leu Asn Ser Pro Lys Gly Glu Leu Asn Tyr Asp Phe Phe
 1955 1960 1965
 Glu Ala Leu Glu Asn Thr Tyr Pro Asn Met Ile Lys Leu Ile Asp Asn
 1970 1975 1980
 Leu Gly Asn Ala Glu Ile Lys Lys Leu Ile Lys Val Thr Gly Tyr Met

 1985 1990 1995 2000
 Leu Val Ser Lys Lys
 2005

<211> 2005
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 35

Met Asp Pro Leu Asn Glu Ser Thr Val Asn Val Tyr Leu Pro Asp Ser
 1 5 10 15
 Tyr Leu Lys Gly Val Ile Ser Phe Ser Glu Thr Asn Ala Ile Gly Ser
 20 25 30
 Cys Leu Leu Lys Arg Pro Tyr Leu Lys Asn Asp Asn Thr Ala Lys Val
 35 40 45
 Ala Ile Glu Asn Pro Val Ile Glu His Val Arg Leu Lys Asn Ala Val
 50 55 60

Asn Ser Lys Met Lys Ile Ser Asp Tyr Lys Val Val Glu Pro Val Asn
 65 70 75 80
 Met Gln His Glu Ile Met Lys Asn Val His Ser Cys Glu Leu Thr Leu
 85 90 95
 Leu Lys Gln Phe Leu Thr Arg Ser Lys Asn Ile Ser Thr Leu Lys Leu
 100 105 110
 Asn Met Ile Cys Asp Trp Leu Gln Leu Lys Ser Thr Ser Asp Asp Thr
 115 120 125

Ser Ile Leu Ser Phe Ile Asp Val Glu Phe Ile Pro Ser Trp Val Ser
 130 135 140
 Asn Trp Phe Ser Asn Trp Tyr Asn Leu Asn Lys Leu Ile Leu Glu Phe
 145 150 155 160
 Arg Arg Glu Glu Val Ile Arg Thr Gly Ser Ile Leu Cys Arg Ser Leu
 165 170 175
 Gly Lys Leu Val Phe Ile Val Ser Ser Tyr Gly Cys Ile Val Lys Ser
 180 185 190

Asn Lys Ser Lys Arg Val Ser Phe Phe Thr Tyr Asn Gln Leu Leu Thr
 195 200 205
 Trp Lys Asp Val Met Leu Ser Arg Phe Asn Ala Asn Phe Cys Ile Trp
 210 215 220
 Val Ser Asn Ser Leu Asn Glu Asn Gln Glu Gly Leu Gly Leu Arg Ser
 225 230 235 240
 Asn Leu Gln Gly Met Leu Thr Asn Lys Leu Tyr Glu Thr Val Asp Tyr
 245 250 255

Met Leu Ser Leu Cys Cys Asn Glu Gly Phe Ser Leu Val Lys Glu Phe
 260 265 270
 Glu Gly Phe Ile Met Ser Glu Ile Leu Arg Ile Thr Glu His Ala Gln
 275 280 285
 Phe Ser Thr Arg Phe Arg Asn Thr Leu Leu Asn Gly Leu Thr Asp Gln
 290 295 300
 Leu Thr Lys Leu Lys Asn Lys Asn Arg Leu Arg Val His Gly Thr Val
 305 310 315 320

Leu Glu Asn Asn Asp Tyr Pro Met Tyr Glu Val Val Leu Lys Leu Leu
 325 330 335
 Gly Asp Thr Leu Arg Cys Ile Lys Leu Leu Ile Asn Lys Asn Leu Glu
 340 345 350
 Asn Ala Ala Glu Leu Tyr Tyr Ile Phe Arg Ile Phe Gly His Pro Met

355 360 365
 Val Asp Glu Arg Asp Ala Met Asp Ala Val Lys Leu Asn Asn Glu Ile
 370 375 380

 Thr Lys Ile Leu Arg Leu Glu Ser Leu Thr Glu Leu Arg Gly Ala Phe
 385 390 395 400
 Ile Leu Arg Ile Ile Lys Gly Phe Val Asp Asn Asn Lys Arg Trp Pro
 405 410 415
 Lys Ile Lys Asn Leu Ile Val Leu Ser Lys Arg Trp Thr Met Tyr Phe
 420 425 430

 Lys Ala Lys Asn Tyr Pro Ser Gln Leu Glu Leu Ser Glu Gln Asp Phe
 435 440 445
 Leu Glu Leu Ala Ala Ile Gln Phe Glu Gln Glu Phe Ser Val Pro Glu
 450 455 460
 Lys Thr Asn Leu Glu Met Val Leu Asn Asp Lys Ala Ile Ser Pro Pro
 465 470 475 480
 Lys Arg Leu Ile Trp Ser Val Tyr Pro Lys Asn Tyr Leu Pro Glu Thr
 485 490 495

 Ile Lys Asn Arg Tyr Leu Glu Glu Thr Phe Asn Ala Ser Asp Ser Leu
 500 505 510
 Lys Thr Arg Arg Val Leu Glu Tyr Tyr Leu Lys Asp Asn Lys Phe Asp
 515 520 525
 Gln Lys Glu Leu Lys Ser Tyr Val Val Arg Gln Glu Tyr Leu Asn Asp
 530 535 540
 Lys Glu His Ile Val Ser Leu Thr Gly Lys Glu Arg Glu Leu Ser Val
 545 550 555 560

 Gly Arg Met Phe Ala Met Gln Pro Gly Lys Gln Arg Gln Ile Gln Ile
 565 570 575
 Leu Ala Glu Lys Leu Leu Ala Asp Asn Ile Val Pro Phe Phe Pro Glu
 580 585 590
 Thr Leu Thr Lys Tyr Gly Asp Leu Asp Leu Gln Arg Ile Met Glu Ile
 595 600 605
 Lys Ser Glu Leu Ser Ser Ile Lys Thr Arg Arg Asn Asp Ser Tyr Asn
 610 615 620

 Asn Tyr Ile Ala Arg Ala Ser Ile Val Thr Asp Leu Ser Lys Phe Asn
 625 630 635 640
 Gln Ala Phe Arg Tyr Glu Thr Thr Ala Ile Cys Ala Asp Val Ala Asp
 645 650 655
 Glu Leu His Gly Thr Gln Ser Leu Phe Cys Trp Leu His Leu Ile Val
 660 665 670
 Pro Met Thr Thr Met Ile Cys Ala Tyr Arg His Ala Pro Pro Glu Thr
 675 680 685

 Lys Gly Glu Tyr Asp Ile Asp Lys Ile Glu Glu Gln Ser Gly Leu Tyr
 690 695 700
 Arg Tyr His Met Gly Gly Ile Glu Gly Trp Cys Gln Lys Leu Trp Thr
 705 710 715 720
 Met Glu Ala Ile Ser Leu Leu Asp Val Val Ser Val Lys Thr Arg Cys

 725 730 735
 Gln Met Thr Ser Leu Leu Asn Gly Asp Asn Gln Ser Ile Asp Val Ser

740 745 750
 Lys Pro Val Lys Leu Ser Glu Gly Leu Asp Glu Val Lys Ala Asp Tyr
 755 760 765
 Arg Leu Ala Ile Lys Met Leu Lys Glu Ile Arg Asp Ala Tyr Arg Asn
 770 775 780
 Ile Gly His Lys Leu Lys Glu Gly Glu Thr Tyr Ile Ser Arg Asp Leu

 785 790 795 800
 Gln Phe Ile Ser Lys Val Ile Gln Ser Glu Gly Val Met His Pro Thr
 805 810 815
 Pro Ile Lys Lys Val Leu Arg Val Gly Pro Trp Ile Asn Thr Ile Leu
 820 825 830
 Asp Asp Ile Lys Thr Ser Ala Glu Ser Ile Gly Ser Leu Cys Gln Glu
 835 840 845
 Leu Glu Phe Arg Gly Glu Ser Ile Ile Val Ser Leu Ile Leu Arg Asn

 850 855 860
 Phe Trp Leu Tyr Asn Leu Tyr Met His Glu Ser Lys Gln His Pro Leu
 865 870 875 880
 Ala Gly Lys Gln Leu Phe Lys Gln Leu Asn Lys Thr Leu Thr Ser Val
 885 890 895
 Gln Arg Phe Phe Glu Ile Lys Lys Glu Asn Glu Val Val Asp Leu Trp
 900 905 910
 Met Asn Ile Pro Met Gln Phe Gly Gly Gly Asp Pro Val Val Phe Tyr

 915 920 925
 Arg Ser Phe Tyr Arg Arg Thr Pro Asp Phe Leu Thr Glu Ala Ile Ser
 930 935 940
 His Val Asp Ile Leu Leu Lys Ile Ser Ala Asn Ile Lys Asn Glu Thr
 945 950 955 960
 Lys Val Ser Phe Phe Lys Ala Leu Leu Ser Ile Glu Lys Asn Glu Arg
 965 970 975
 Ala Thr Leu Thr Thr Leu Met Arg Asp Pro Gln Ala Val Gly Ser Glu

 980 985 990
 Arg Gln Ala Lys Val Thr Ser Asp Ile Asn Arg Thr Ala Val Thr Ser
 995 1000 1005
 Ile Leu Ser Leu Ser Pro Asn Gln Leu Phe Ser Asp Ser Ala Ile His
 1010 1015 1020
 Tyr Ser Arg Asn Glu Glu Glu Val Gly Ile Ile Ala Glu Asn Ile Thr
 1025 1030 1035 1040
 Pro Val Tyr Pro His Gly Leu Arg Val Leu Tyr Glu Ser Leu Pro Phe

 1045 1050 1055
 His Lys Ala Glu Lys Val Val Asn Met Ile Ser Gly Thr Lys Ser Ile
 1060 1065 1070
 Thr Asn Leu Leu Gln Arg Thr Ser Ala Ile Asn Gly Glu Asp Ile Asp
 1075 1080 1085
 Arg Ala Val Ser Met Met Leu Glu Asn Leu Gly Leu Leu Ser Arg Ile
 1090 1095 1100
 Leu Ser Val Val Val Asp Ser Ile Glu Ile Pro Ile Lys Ser Asn Gly

 1105 1110 1115 1120
 Arg Leu Ile Cys Cys Gln Ile Ser Arg Thr Leu Arg Glu Thr Ser Trp
 1125 1130 1135
 Asn Asn Met Glu Ile Val Gly Val Thr Ser Pro Ser Ile Thr Thr Cys
 1140 1145 1150

Met Asp Val Ile Tyr Ala Thr Ser Ser His Leu Lys Gly Ile Ile Ile
1155 1160 1165
Glu Lys Phe Ser Thr Asp Arg Thr Thr Arg Gly Gln Arg Gly Pro Lys
1170 1175 1180
Ser Pro Trp Val Gly Ser Ser Thr Gln Glu Lys Lys Leu Val Pro Val
1185 1190 1195 1200
Tyr Asn Arg Gln Ile Leu Ser Lys Gln Gln Arg Glu Gln Leu Glu Ala
1205 1210 1215
Ile Gly Lys Met Arg Trp Val Tyr Lys Gly Thr Pro Gly Leu Arg Arg
1220 1225 1230
Leu Leu Asn Lys Ile Cys Leu Gly Ser Leu Gly Ile Ser Tyr Lys Cys
1235 1240 1245
Val Lys Pro Leu Leu Pro Arg Phe Met Ser Val Asn Phe Leu His Arg
1250 1255 1260
Leu Ser Val Ser Ser Arg Pro Met Glu Phe Pro Ala Ser Val Pro Ala
1265 1270 1275 1280
Tyr Arg Thr Thr Asn Tyr His Phe Asp Thr Ser Pro Ile Asn Gln Ala
1285 1290 1295
Leu Ser Glu Arg Phe Gly Asn Glu Asp Ile Asn Leu Val Phe Gln Asn
1300 1305 1310
Ala Ile Ser Cys Gly Ile Ser Ile Met Ser Val Val Glu Gln Leu Thr
1315 1320 1325
Gly Arg Ser Pro Lys Gln Leu Val Leu Ile Pro Gln Leu Glu Glu Ile
1330 1335 1340
Asp Ile Met Pro Pro Pro Val Phe Gln Gly Lys Phe Asn Tyr Lys Leu
1345 1350 1355 1360
Val Asp Lys Ile Thr Ser Asp Gln His Ile Phe Ser Pro Asp Lys Ile
1365 1370 1375
Asp Met Leu Thr Leu Gly Lys Met Leu Met Pro Thr Ile Lys Gly Gln
1380 1385 1390
Lys Thr Asp Gln Phe Leu Asn Lys Arg Glu Asn Tyr Phe His Gly Asn
1395 1400 1405
Asn Leu Ile Glu Ser Leu Ser Ala Ala Leu Ala Cys His Trp Cys Gly
1410 1415 1420
Ile Leu Thr Glu Gln Cys Ile Glu Asn Asn Ile Phe Lys Lys Asp Trp
1425 1430 1435 1440
Gly Asp Gly Phe Ile Ser Asp His Ala Phe Met Asp Phe Lys Ile Phe
1445 1450 1455
Leu Cys Val Phe Lys Thr Lys Leu Leu Cys Ser Trp Gly Ser Gln Gly
1460 1465 1470
Lys Asn Ile Lys Asp Glu Asp Ile Val Asp Glu Ser Ile Asp Lys Leu
1475 1480 1485
Leu Arg Ile Asp Asn Thr Phe Trp Arg Met Phe Ser Lys Val Met Phe
1490 1495 1500
Glu Pro Lys Val Lys Lys Arg Ile Met Leu Tyr Asp Val Lys Phe Leu
1505 1510 1515 1520
Ser Leu Val Gly Tyr Ile Gly Phe Lys Asn Trp Phe Ile Glu Gln Leu
1525 1530 1535
Arg Ser Ala Glu Leu His Glu Ile Pro Trp Ile Val Asn Ala Glu Gly
1540 1545 1550

Asp Leu Val Glu Ile Lys Ser Ile Lys Ile Tyr Leu Gln Leu Ile Glu

1555 1560 1565
Gln Ser Leu Phe Leu Arg Ile Thr Val Leu Asn Tyr Thr Asp Met Ala
1570 1575 1580
His Ala Leu Thr Arg Leu Ile Arg Lys Lys Leu Met Cys Asp Asn Ala
1585 1590 1595 1600
Leu Leu Thr Pro Ile Ser Ser Pro Met Val Asn Leu Thr Gln Val Ile
1605 1610 1615
Asp Pro Thr Thr Gln Leu Asp Tyr Phe Pro Lys Ile Thr Phe Glu Arg

1620 1625 1630
Leu Lys Asn Tyr Asp Thr Ser Ser Asn Tyr Ala Lys Gly Lys Leu Thr
1635 1640 1645
Arg Asn Tyr Met Ile Leu Leu Pro Trp Gln His Val Asn Arg Tyr Asn
1650 1655 1660
Phe Val Phe Ser Ser Thr Gly Cys Lys Val Ser Leu Lys Thr Cys Ile
1665 1670 1675 1680
Gly Lys Leu Met Lys Asp Leu Asn Pro Lys Val Leu Tyr Phe Ile Gly

1685 1690 1695
Glu Gly Ala Gly Asn Trp Met Ala Arg Thr Ala Cys Glu Tyr Pro Asp
1700 1705 1710
Ile Lys Phe Val Tyr Arg Ser Leu Lys Asp Asp Leu Asp His His Tyr
1715 1720 1725
Pro Leu Glu Tyr Gln Arg Val Ile Gly Glu Leu Ser Arg Ile Ile Asp
1730 1735 1740
Ser Gly Glu Gly Leu Ser Met Glu Thr Thr Asp Ala Thr Gln Lys Thr

1745 1750 1755 1760
His Trp Asp Leu Ile His Arg Val Ser Lys Asp Ala Leu Leu Ile Thr
1765 1770 1775
Leu Cys Asp Ala Glu Phe Lys Asp Arg Asp Asp Phe Phe Lys Met Val
1780 1785 1790
Ile Leu Trp Arg Lys His Val Leu Ser Cys Arg Ile Cys Thr Thr Tyr
1795 1800 1805
Gly Thr Asp Leu Tyr Leu Phe Ala Lys Tyr His Ala Lys Asp Cys Asn

1810 1815 1820
Val Lys Leu Pro Phe Phe Val Arg Ser Val Ala Thr Phe Ile Met Gln
1825 1830 1835 1840
Gly Ser Lys Leu Ser Gly Ser Glu Cys Tyr Ile Leu Leu Thr Leu Gly
1845 1850 1855
His His Asn Ser Leu Pro Cys His Gly Glu Ile Gln Asn Ser Lys Met
1860 1865 1870
Lys Ile Ala Val Cys Asn Asp Phe Tyr Ala Ala Lys Lys Leu Asp Asn

1875 1880 1885
Lys Ser Ile Glu Ala Asn Cys Lys Ser Leu Leu Ser Gly Leu Arg Ile
1890 1895 1900
Pro Ile Asn Lys Lys Glu Leu Asp Arg Gln Arg Arg Leu Leu Thr Leu
1905 1910 1915 1920
Gln Ser Asn His Ser Ser Val Ala Thr Val Gly Gly Ser Lys Ile Ile
1925 1930 1935
Glu Ser Lys Trp Leu Thr Asn Lys Ala Ser Thr Ile Ile Asp Trp Leu

1940 1945 1950

Glu His Ile Leu Asn Ser Pro Lys Gly Glu Leu Asn Tyr Asp Phe Phe
 1955 1960 1965
 Glu Ala Leu Glu Asn Thr Tyr Pro Asn Met Ile Lys Leu Ile Asp Asn
 1970 1975 1980
 Leu Gly Asn Ala Glu Ile Lys Lys Leu Ile Lys Val Thr Gly Tyr Met
 1985 1990 1995 2000
 Leu Val Ser Lys Lys
 2005

<210> 36
 <211> 2005
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 36
 Met Asp Pro Phe Cys Glu Ser Thr Val Asn Val Tyr Leu Pro Asp Ser
 1 5 10 15
 Tyr Leu Lys Gly Val Ile Ser Phe Ser Glu Thr Asn Ala Ile Gly Ser
 20 25 30
 Cys Leu Leu Lys Arg Pro Tyr Leu Lys Asn Asp Asn Thr Ala Lys Val
 35 40 45
 Ala Val Glu Asn Pro Val Val Glu His Val Arg Leu Arg Asn Ala Val
 50 55 60

Met Thr Lys Met Lys Ile Ser Asp Tyr Lys Val Val Glu Pro Val Asn
 65 70 75 80
 Met Gln His Glu Ile Met Lys Asn Ile His Ser Cys Glu Leu Thr Leu
 85 90 95
 Leu Lys Gln Phe Leu Thr Arg Ser Lys Asn Ile Ser Ser Leu Lys Leu
 100 105 110
 Asn Met Ile Cys Asp Trp Leu Gln Leu Lys Ser Thr Ser Asp Asn Thr
 115 120 125

Ser Ile Leu Asn Phe Ile Asp Val Glu Phe Ile Pro Val Trp Val Ser
 130 135 140
 Asn Trp Phe Ser Asn Trp Tyr Asn Leu Asn Lys Leu Ile Leu Glu Phe
 145 150 155 160
 Arg Arg Glu Glu Val Ile Arg Thr Gly Ser Ile Leu Cys Arg Ser Leu
 165 170 175
 Gly Lys Leu Val Phe Ile Val Ser Ser Tyr Gly Cys Val Val Lys Ser
 180 185 190

Asn Lys Ser Lys Arg Val Ser Phe Phe Thr Tyr Asn Gln Leu Leu Thr
 195 200 205
 Trp Lys Asp Val Met Leu Ser Arg Phe Asn Ala Asn Phe Cys Ile Trp
 210 215 220
 Val Ser Asn Asn Leu Asn Lys Asn Gln Glu Gly Leu Gly Leu Arg Ser
 225 230 235 240
 Asn Leu Gln Gly Met Leu Thr Asn Lys Leu Tyr Glu Thr Val Asp Tyr
 245 250 255

Met Leu Ser Leu Cys Cys Asn Glu Gly Phe Ser Leu Val Lys Glu Phe
 260 265 270
 Glu Gly Phe Ile Met Ser Glu Ile Leu Lys Ile Thr Glu His Ala Gln

275 280 285
 Phe Ser Thr Arg Phe Arg Asn Thr Leu Leu Asn Gly Leu Thr Glu Gln
 290 295 300
 Leu Ser Val Leu Lys Ala Lys Asn Arg Ser Arg Val Leu Gly Thr Ile
 305 310 315 320

 Leu Glu Asn Asn Asn Tyr Pro Met Tyr Glu Val Val Leu Lys Leu Leu
 325 330 335
 Gly Asp Thr Leu Lys Ser Ile Lys Leu Leu Ile Asn Lys Asn Leu Glu
 340 345 350
 Asn Ala Ala Glu Leu Tyr Tyr Ile Phe Arg Ile Phe Gly His Pro Met
 355 360 365
 Val Asp Glu Arg Glu Ala Met Asp Ala Val Lys Leu Asn Asn Glu Ile
 370 375 380

 Thr Lys Ile Leu Lys Leu Glu Ser Leu Thr Glu Leu Arg Gly Ala Phe
 385 390 395 400
 Ile Leu Arg Ile Ile Lys Gly Phe Val Asp Asn Asn Lys Arg Trp Pro
 405 410 415
 Lys Ile Lys Asn Leu Lys Val Leu Ser Lys Arg Trp Ala Met Tyr Phe
 420 425 430
 Lys Ala Lys Ser Tyr Pro Ser Gln Leu Glu Leu Ser Val Gln Asp Phe
 435 440 445

 Leu Glu Leu Ala Ala Val Gln Phe Glu Gln Glu Phe Ser Val Pro Glu
 450 455 460

 Lys Thr Asn Leu Glu Met Val Leu Asn Asp Lys Ala Ile Ser Pro Pro
 465 470 475 480
 Lys Lys Leu Ile Trp Ser Val Tyr Pro Lys Asn Tyr Leu Pro Glu Thr
 485 490 495
 Ile Lys Asn Gln Tyr Leu Glu Glu Ala Phe Asn Ala Ser Asp Ser Gln
 500 505 510
 Arg Thr Arg Arg Val Leu Glu Phe Tyr Leu Lys Asp Cys Lys Phe Asp
 515 520 525

 Gln Lys Glu Leu Lys Arg Tyr Val Ile Lys Gln Glu Tyr Leu Asn Asp
 530 535 540
 Lys Asp His Ile Val Ser Leu Thr Gly Lys Glu Arg Glu Leu Ser Val
 545 550 555 560
 Gly Arg Met Phe Ala Met Gln Pro Gly Lys Gln Arg Gln Ile Gln Ile
 565 570 575
 Leu Ala Glu Lys Leu Leu Ala Asp Asn Ile Val Pro Phe Phe Pro Glu
 580 585 590

 Thr Leu Thr Lys Tyr Gly Asp Leu Asp Leu Gln Arg Ile Met Glu Ile
 595 600 605
 Lys Ser Glu Leu Ser Ser Ile Lys Thr Arg Lys Asn Asp Ser Tyr Asn
 610 615 620
 Asn Tyr Ile Ala Arg Ala Ser Ile Val Thr Asp Leu Ser Lys Phe Asn
 625 630 635 640
 Gln Ala Phe Arg Tyr Glu Thr Thr Ala Ile Cys Ala Asp Val Ala Asp
 645 650 655

 Glu Leu His Gly Thr Gln Ser Leu Phe Cys Trp Leu His Leu Ile Val
 660 665 670

Pro Met Thr Thr Met Ile Cys Ala Tyr Arg His Ala Pro Pro Glu Thr
675 680 685
Lys Gly Glu Tyr Asp Ile Asp Lys Ile Gln Glu Gln Ser Gly Leu Tyr
690 695 700
Arg Tyr His Met Gly Gly Ile Glu Gly Trp Cys Gln Lys Leu Trp Thr
705 710 715 720

Met Glu Ala Ile Ser Leu Leu Asp Val Val Ser Val Lys Thr Arg Cys
725 730 735
Gln Met Thr Ser Leu Leu Asn Gly Asp Asn Gln Ser Ile Asp Val Ser
740 745 750
Lys Pro Val Lys Leu Ser Glu Gly Ile Asp Glu Val Lys Ala Asp Tyr
755 760 765
Ser Leu Ala Ile Arg Met Leu Lys Glu Ile Arg Asp Ala Tyr Lys Asn
770 775 780

Ile Gly His Lys Leu Lys Glu Gly Glu Thr Tyr Ile Ser Arg Asp Leu
785 790 795 800
Gln Phe Ile Ser Lys Val Ile Gln Ser Glu Gly Val Met His Pro Thr

805 810 815
Pro Ile Lys Lys Ile Leu Arg Val Gly Pro Trp Ile Asn Thr Ile Leu
820 825 830
Asp Asp Ile Lys Thr Ser Ala Glu Ser Ile Gly Ser Leu Cys Gln Glu
835 840 845
Leu Glu Phe Arg Gly Glu Ser Ile Leu Val Ser Leu Ile Leu Arg Asn
850 855 860
Phe Trp Leu Tyr Asn Leu Tyr Met Tyr Glu Ser Lys Gln His Pro Leu

865 870 875 880
Ala Gly Lys Gln Leu Phe Lys Gln Leu Asn Lys Thr Leu Thr Ser Val
885 890 895
Gln Arg Phe Phe Glu Leu Lys Lys Glu Asn Asp Val Val Asp Leu Trp
900 905 910
Met Asn Ile Pro Met Gln Phe Gly Gly Gly Asp Pro Val Val Phe Tyr
915 920 925
Arg Ser Phe Tyr Arg Arg Thr Pro Asp Phe Leu Thr Glu Ala Ile Ser

930 935 940
His Val Asp Leu Leu Leu Lys Val Ser Asn Asn Ile Lys Asp Glu Thr
945 950 955 960
Lys Ile Arg Phe Phe Lys Ala Leu Leu Ser Ile Glu Lys Asn Glu Arg
965 970 975
Ala Thr Leu Thr Thr Leu Met Arg Asp Pro Gln Ala Val Gly Ser Glu
980 985 990
Arg Gln Ala Lys Val Thr Ser Asp Ile Asn Arg Thr Ala Val Thr Ser

995 1000 1005
Ile Leu Ser Leu Ser Pro Asn Gln Leu Phe Cys Asp Ser Ala Ile His
1010 1015 1020
Tyr Ser Arg Asn Glu Glu Glu Val Gly Ile Ile Ala Asp Asn Ile Thr
1025 1030 1035 1040
Pro Val Tyr Pro His Gly Leu Arg Val Leu Tyr Glu Ser Leu Pro Phe
1045 1050 1055
His Lys Ala Glu Lys Val Val Asn Met Ile Ser Gly Thr Lys Ser Ile

1060	1065	1070
Thr Asn Leu Leu Gln Arg Thr Ser Ala Ile Asn Gly Glu Asp Ile Asp		
1075	1080	1085
Arg Ala Val Ser Met Met Leu Glu Asn Leu Gly Leu Leu Ser Arg Ile		
1090	1095	1100
Leu Ser Val Ile Ile Asn Ser Ile Glu Ile Pro Ile Lys Ser Asn Gly		
1105	1110	1115
Arg Leu Ile Cys Cys Gln Ile Ser Lys Thr Leu Arg Glu Lys Ser Trp		
1125	1130	1135
Asn Asn Met Glu Ile Val Gly Val Thr Ser Pro Ser Ile Val Thr Cys		
1140	1145	1150
Met Asp Val Val Tyr Ala Thr Ser Ser His Leu Lys Gly Ile Ile Ile		
1155	1160	1165
Glu Lys Phe Ser Thr Asp Lys Thr Thr Arg Gly Gln Arg Gly Pro Lys		
1170	1175	1180
Ser Pro Trp Val Gly Ser Ser Thr Gln Glu Lys Lys Leu Val Pro Val		
1185	1190	1195
Tyr Asn Arg Gln Ile Leu Ser Lys Gln Gln Lys Glu Gln Leu Glu Ala		
1205	1210	1215
Ile Gly Lys Met Arg Trp Val Tyr Lys Gly Thr Pro Gly Leu Arg Arg		
1220	1225	1230
Leu Leu Asn Lys Ile Cys Ile Gly Ser Leu Gly Ile Ser Tyr Lys Cys		
1235	1240	1245
Val Lys Pro Leu Leu Pro Arg Phe Met Ser Val Asn Phe Leu His Arg		
1250	1255	1260
Leu Ser Val Ser Ser Arg Pro Met Glu Phe Pro Ala Ser Val Pro Ala		
1265	1270	1275
Tyr Arg Thr Thr Asn Tyr His Phe Asp Thr Ser Pro Ile Asn Gln Ala		
1285	1290	1295
Leu Ser Glu Arg Phe Gly Asn Glu Asp Ile Asn Leu Val Phe Gln Asn		
1300	1305	1310
Ala Ile Ser Cys Gly Ile Ser Ile Met Ser Val Val Glu Gln Leu Thr		
1315	1320	1325
Gly Arg Ser Pro Lys Gln Leu Val Leu Ile Pro Gln Leu Glu Glu Ile		
1330	1335	1340
Asp Ile Met Pro Pro Pro Val Phe Gln Gly Lys Phe Asn Tyr Lys Leu		
1345	1350	1355
Val Asp Lys Ile Thr Ser Asp Gln His Ile Phe Ser Pro Asp Lys Ile		
1365	1370	1375
Asp Ile Leu Thr Leu Gly Lys Met Leu Met Pro Thr Ile Lys Gly Gln		
1380	1385	1390
Lys Thr Asp Gln Phe Leu Asn Lys Arg Glu Asn Tyr Phe His Gly Asn		
1395	1400	1405
Asn Leu Ile Glu Ser Leu Ser Ala Ala Leu Ala Cys His Trp Cys Gly		
1410	1415	1420
Ile Leu Thr Glu Gln Cys Ile Glu Asn Asn Ile Phe Arg Lys Asp Trp		
1425	1430	1435
Gly Asp Gly Phe Ile Ser Asp His Ala Phe Met Asp Phe Lys Val Phe		
1445	1450	1455
Leu Cys Val Phe Lys Thr Lys Leu Leu Cys Ser Trp Gly Ser Gln Gly		
1460	1465	1470

Lys Asn Val Lys Asp Glu Asp Ile Ile Asp Glu Ser Ile Asp Lys Leu
 1475 1480 1485
 Leu Arg Ile Asp Asn Thr Phe Trp Arg Met Phe Ser Lys Val Met Phe
 1490 1495 1500
 Glu Ser Lys Val Lys Lys Arg Ile Met Leu Tyr Asp Val Lys Phe Leu

 1505 1510 1515 1520
 Ser Leu Val Gly Tyr Ile Gly Phe Lys Asn Trp Phe Ile Glu Gln Leu
 1525 1530 1535
 Arg Val Val Glu Leu His Glu Val Pro Trp Ile Val Asn Ala Glu Gly
 1540 1545 1550
 Glu Leu Val Glu Ile Lys Ser Ile Lys Ile Tyr Leu Gln Leu Ile Glu
 1555 1560 1565
 Gln Ser Leu Ser Leu Arg Ile Thr Val Leu Asn Tyr Thr Asp Met Ala

 1570 1575 1580
 His Ala Leu Thr Arg Leu Ile Arg Lys Lys Leu Met Cys Asp Asn Ala
 1585 1590 1595 1600
 Leu Phe Asn Pro Ser Ser Ser Pro Met Phe Asn Leu Thr Gln Val Ile
 1605 1610 1615
 Asp Pro Thr Thr Gln Leu Asp Tyr Phe Pro Arg Ile Ile Phe Glu Arg
 1620 1625 1630
 Leu Lys Ser Tyr Asp Thr Ser Ser Asp Tyr Asn Lys Gly Lys Leu Thr

 1635 1640 1645
 Arg Asn Tyr Met Thr Leu Leu Pro Trp Gln His Val Asn Arg Tyr Asn
 1650 1655 1660
 Phe Val Phe Ser Ser Thr Gly Cys Lys Val Ser Leu Lys Thr Cys Ile
 1665 1670 1675 1680
 Gly Lys Leu Ile Lys Asp Leu Asn Pro Lys Val Leu Tyr Phe Ile Gly
 1685 1690 1695
 Glu Gly Ala Gly Asn Trp Met Ala Arg Thr Ala Cys Glu Tyr Pro Asp

 1700 1705 1710
 Ile Lys Phe Val Tyr Arg Ser Leu Lys Asp Asp Leu Asp His His Tyr
 1715 1720 1725
 Pro Leu Glu Tyr Gln Arg Val Ile Gly Asp Leu Asn Arg Val Ile Asp
 1730 1735 1740
 Ser Gly Glu Gly Leu Ser Met Glu Thr Thr Asp Ala Thr Gln Lys Thr
 1745 1750 1755 1760
 His Trp Asp Leu Ile His Arg Ile Ser Lys Asp Ala Leu Leu Ile Thr

 1765 1770 1775
 Leu Cys Asp Ala Glu Phe Lys Asn Arg Asp Asp Phe Phe Lys Met Val
 1780 1785 1790
 Ile Leu Trp Arg Lys His Val Leu Ser Cys Arg Ile Cys Thr Ala Tyr
 1795 1800 1805
 Gly Thr Asp Leu Tyr Leu Phe Ala Lys Tyr His Ala Val Asp Cys Asn
 1810 1815 1820
 Ile Lys Leu Pro Phe Phe Val Arg Ser Val Ala Thr Phe Ile Met Gln

 1825 1830 1835 1840
 Gly Ser Lys Leu Ser Gly Ser Glu Cys Tyr Ile Leu Leu Thr Leu Gly
 1845 1850 1855
 His His Asn Asn Leu Pro Cys His Gly Glu Ile Gln Asn Ser Lys Met
 1860 1865 1870
 Arg Ile Ala Val Cys Asn Asp Phe Tyr Ala Ser Lys Lys Leu Asp Asn

1875 1880 1885
Lys Ser Ile Glu Ala Asn Cys Lys Ser Leu Leu Ser Gly Leu Arg Ile

1890 1895 1900
Pro Ile Asn Lys Lys Glu Leu Asn Arg Gln Lys Lys Leu Leu Thr Leu
1905 1910 1915 1920
Gln Ser Asn His Ser Ser Ile Ala Thr Val Gly Gly Ser Lys Ile Ile
1925 1930 1935
Glu Ser Lys Trp Leu Lys Asn Lys Ala Ser Thr Ile Ile Asp Trp Leu
1940 1945 1950
Glu His Ile Leu Asn Ser Pro Lys Gly Glu Leu Asn Tyr Asp Phe Phe

1955 1960 1965
Glu Ala Leu Glu Asn Thr Tyr Pro Asn Met Ile Lys Leu Ile Asp Asn
1970 1975 1980
Leu Gly Asn Ala Glu Ile Lys Lys Leu Ile Lys Val Thr Gly Tyr Met
1985 1990 1995 2000
Leu Val Ser Lys Lys
2005

<210> 37
<211> 2005
<212> PRT
<213> human Metapneumo virus

<400> 37
Met Asp Pro Phe Cys Glu Ser Thr Val Asn Val Tyr Leu Pro Asp Ser
1 5 10 15
Tyr Leu Lys Gly Val Ile Ser Phe Ser Glu Thr Asn Ala Ile Gly Ser
20 25 30
Cys Leu Leu Lys Arg Pro Tyr Leu Lys Lys Asp Asn Thr Ala Lys Val
35 40 45
Ala Val Glu Asn Pro Val Val Glu His Val Arg Leu Arg Asn Ala Val
50 55 60

Met Thr Lys Met Lys Ile Ser Asp Tyr Lys Val Val Glu Pro Ile Asn
65 70 75 80
Met Gln His Glu Ile Met Lys Asn Ile His Ser Cys Glu Leu Thr Leu
85 90 95
Leu Lys Gln Phe Leu Thr Arg Ser Lys Asn Ile Ser Ser Leu Lys Leu
100 105 110
Ser Met Ile Cys Asp Trp Leu Gln Leu Lys Ser Thr Ser Asp Asn Thr
115 120 125

Ser Ile Leu Asn Phe Ile Asp Val Glu Phe Ile Pro Val Trp Val Ser
130 135 140
Asn Trp Phe Ser Asn Trp Tyr Asn Leu Asn Lys Leu Ile Leu Glu Phe
145 150 155 160
Arg Arg Glu Glu Val Ile Arg Thr Gly Ser Ile Leu Cys Arg Ser Leu
165 170 175
Gly Lys Leu Val Phe Ile Val Ser Ser Tyr Gly Cys Val Val Lys Ser
180 185 190

Asn Lys Ser Lys Arg Val Ser Phe Phe Thr Tyr Asn Gln Leu Leu Thr

195	200	205
Trp Lys Asp Val Met Leu Ser Arg Phe Asn Ala Asn Phe Cys Ile Trp		
210	215	220
Val Ser Asn Asn Leu Asn Lys Asn Gln Glu Gly Leu Gly Phe Arg Ser		
225	230	235
Asn Leu Gln Gly Met Leu Thr Asn Lys Leu Tyr Glu Thr Val Asp Tyr		
245	250	255
Met Leu Ser Leu Cys Ser Asn Glu Gly Phe Ser Leu Val Lys Glu Phe		
260	265	270
Glu Gly Phe Ile Met Ser Glu Ile Leu Lys Ile Thr Glu His Ala Gln		
275	280	285
Phe Ser Thr Arg Phe Arg Asn Thr Leu Leu Asn Gly Leu Thr Glu Gln		
290	295	300
Leu Ser Met Leu Lys Ala Lys Asn Arg Ser Arg Val Leu Gly Thr Ile		
305	310	315
320		
Leu Glu Asn Asn Asp Tyr Pro Met Tyr Glu Val Val Leu Lys Leu Leu		
325	330	335
Gly Asp Thr Leu Lys Ser Ile Lys Leu Leu Ile Asn Lys Asn Leu Glu		
340	345	350
Asn Ala Ala Glu Leu Tyr Tyr Ile Phe Arg Ile Phe Gly His Pro Met		
355	360	365
Val Asp Glu Arg Glu Ala Met Asp Ala Val Lys Leu Asn Asn Glu Ile		
370	375	380
385		
Thr Lys Ile Leu Lys Leu Glu Ser Leu Thr Glu Leu Arg Gly Ala Phe		
390	395	400
Ile Leu Arg Ile Ile Lys Gly Phe Val Asp Asn Asn Lys Arg Trp Pro		
405	410	415
Lys Ile Lys Asn Leu Lys Val Leu Ser Lys Arg Trp Val Met Tyr Phe		
420	425	430
Lys Ala Lys Ser Tyr Pro Ser Gln Leu Glu Leu Ser Val Gln Asp Phe		
435	440	445
450		
Leu Glu Leu Ala Ala Val Gln Phe Glu Gln Glu Phe Ser Val Pro Glu		
455	460	
Lys Thr Asn Leu Glu Met Val Leu Asn Asp Lys Ala Ile Ser Pro Pro		
465	470	475
480		
Lys Lys Leu Ile Trp Ser Val Tyr Pro Lys Asn Tyr Leu Pro Glu Ile		
485	490	495
Ile Lys Asn Gln Tyr Leu Glu Glu Val Phe Asn Ala Ser Asp Ser Gln		
500	505	510
515		
Arg Thr Arg Arg Val Leu Glu Phe Tyr Leu Lys Asp Cys Lys Phe Asp		
520	525	
Gln Lys Asp Leu Lys Arg Tyr Val Leu Lys Gln Glu Tyr Leu Asn Asp		
530	535	540
545		
Lys Asp His Ile Val Ser Leu Thr Gly Lys Glu Arg Glu Leu Ser Val		
550	555	560
Gly Arg Met Phe Ala Met Gln Pro Gly Lys Gln Arg Gln Ile Gln Ile		
565	570	575
Leu Ala Glu Lys Leu Leu Ala Asp Asn Ile Val Pro Phe Phe Pro Glu		
580	585	590
Thr Leu Thr Lys Tyr Gly Asp Leu Asp Leu Gln Arg Ile Met Glu Met		

595	600	605
Lys Ser Glu Leu Ser Ser Ile Lys Thr Arg Lys Asn Asp Ser Tyr Asn		
610	615	620
Asn Tyr Ile Ala Arg Ala Ser Ile Val Thr Asp Leu Ser Lys Phe Asn		
625	630	635
Gln Ala Phe Arg Tyr Glu Thr Thr Ala Ile Cys Ala Asp Val Ala Asp		
645	650	655
Glu Leu His Gly Thr Gln Ser Leu Phe Cys Trp Leu His Leu Ile Val		
660	665	670
Pro Met Thr Thr Met Ile Cys Ala Tyr Arg His Ala Pro Pro Glu Thr		
675	680	685
Lys Gly Glu Tyr Asp Ile Asp Lys Ile Glu Glu Gln Ser Gly Leu Tyr		
690	695	700
Arg Tyr His Met Gly Gly Ile Glu Gly Trp Cys Gln Lys Leu Trp Thr		
705	710	715
Met Glu Ala Ile Ser Leu Leu Asp Val Val Ser Val Lys Thr Arg Cys		
725	730	735
Gln Met Thr Ser Leu Leu Asn Gly Asp Asn Gln Ser Ile Asp Val Ser		
740	745	750
Lys Pro Val Lys Leu Ser Glu Gly Ile Asp Glu Val Lys Ala Asp Tyr		
755	760	765
Ser Leu Ala Ile Lys Met Leu Lys Glu Ile Arg Asp Ala Tyr Lys Asn		
770	775	780
Ile Gly His Lys Leu Lys Glu Gly Glu Thr Tyr Ile Ser Arg Asp Leu		
785	790	795
Gln Phe Ile Ser Lys Val Ile Gln Ser Glu Gly Val Met His Pro Thr		
805	810	815
Pro Ile Lys Lys Ile Leu Arg Val Gly Pro Trp Ile Asn Thr Ile Leu		
820	825	830
Asp Asp Ile Lys Thr Ser Ala Glu Ser Ile Gly Ser Leu Cys Gln Glu		
835	840	845
Leu Glu Phe Arg Gly Glu Ser Met Leu Val Ser Leu Ile Leu Arg Asn		
850	855	860
Phe Trp Leu Tyr Asn Leu Tyr Met His Glu Ser Lys Gln His Pro Leu		
865	870	875
Ala Gly Lys Gln Leu Phe Lys Gln Leu Asn Lys Thr Leu Thr Ser Val		
885	890	895
Gln Arg Phe Phe Glu Leu Lys Lys Glu Asn Asp Val Val Asp Leu Trp		
900	905	910
Met Asn Ile Pro Met Gln Phe Gly Gly Gly Asp Pro Val Val Phe Tyr		
915	920	925
Arg Ser Phe Tyr Arg Arg Thr Pro Asp Phe Leu Thr Glu Ala Ile Ser		
930	935	940
His Val Asp Leu Leu Leu Lys Val Ser Asn Asn Ile Lys Asn Glu Thr		
945	950	955
Lys Ile Arg Phe Phe Lys Ala Leu Leu Ser Ile Glu Lys Asn Glu Arg		
965	970	975
Ala Thr Leu Thr Thr Leu Met Arg Asp Pro Gln Ala Val Gly Ser Glu		
980	985	990

Arg Gln Ala Lys Val Thr Ser Asp Ile Asn Arg Thr Ala Val Thr Ser
 995 1000 1005
 Ile Leu Ser Leu Ser Pro Asn Gln Leu Phe Cys Asp Ser Ala Ile His

1010 1015 1020
 Tyr Ser Arg Asn Glu Glu Val Gly Ile Ile Ala Asp Asn Ile Thr
 1025 1030 1035 1040
 Pro Val Tyr Pro His Gly Leu Arg Val Leu Tyr Glu Ser Leu Pro Phe
 1045 1050 1055
 His Lys Ala Glu Lys Val Val Asn Met Ile Ser Gly Thr Lys Ser Ile
 1060 1065 1070
 Thr Asn Leu Leu Gln Arg Thr Ser Ala Ile Asn Gly Glu Asp Ile Asp

1075 1080 1085
 Arg Ala Val Ser Met Met Leu Glu Asn Leu Gly Leu Leu Ser Arg Ile
 1090 1095 1100
 Leu Ser Val Ile Ile Asn Ser Ile Glu Ile Pro Ile Lys Ser Asn Gly
 1105 1110 1115 1120
 Arg Leu Ile Cys Cys Gln Ile Ser Lys Thr Leu Arg Glu Lys Ser Trp
 1125 1130 1135
 Asn Asn Met Glu Ile Val Gly Val Thr Ser Pro Ser Ile Val Thr Cys

1140 1145 1150
 Met Asp Val Val Tyr Ala Thr Ser Ser His Leu Lys Gly Ile Ile Ile
 1155 1160 1165
 Glu Lys Phe Ser Thr Asp Lys Thr Thr Arg Gly Gln Arg Gly Pro Lys
 1170 1175 1180
 Ser Pro Trp Val Gly Ser Ser Thr Gln Glu Lys Lys Leu Val Pro Val
 1185 1190 1195 1200
 Tyr Asn Arg Gln Ile Leu Ser Lys Gln Gln Lys Glu Gln Leu Glu Ala

1205 1210 1215
 Ile Gly Lys Met Arg Trp Val Tyr Lys Gly Thr Pro Gly Leu Arg Arg
 1220 1225 1230
 Leu Leu Asn Lys Ile Cys Ile Gly Ser Leu Gly Ile Ser Tyr Lys Cys
 1235 1240 1245
 Val Lys Pro Leu Leu Pro Arg Phe Met Ser Val Asn Phe Leu His Arg
 1250 1255 1260
 Leu Ser Val Ser Ser Arg Pro Met Glu Phe Pro Ala Ser Val Pro Ala

1265 1270 1275 1280
 Tyr Arg Thr Thr Asn Tyr His Phe Asp Thr Ser Pro Ile Asn Gln Ala
 1285 1290 1295
 Leu Ser Glu Arg Phe Gly Asn Glu Asp Ile Asn Leu Val Phe Gln Asn
 1300 1305 1310
 Ala Ile Ser Cys Gly Ile Ser Ile Met Ser Val Val Glu Gln Leu Thr
 1315 1320 1325
 Gly Arg Ser Pro Lys Gln Leu Val Leu Ile Pro Gln Leu Glu Glu Ile

1330 1335 1340
 Asp Ile Met Pro Pro Pro Val Phe Gln Gly Lys Phe Asn Tyr Lys Leu
 1345 1350 1355 1360
 Val Asp Lys Ile Thr Ser Asp Gln His Ile Phe Ser Pro Asp Lys Ile
 1365 1370 1375
 Asp Ile Leu Thr Leu Gly Lys Met Leu Met Pro Thr Ile Lys Gly Gln
 1380 1385 1390

Lys Thr Asp Gln Phe Leu Asn Lys Arg Glu Asn Tyr Phe His Gly Asn

1395 1400 1405
Asn Leu Ile Glu Ser Leu Ser Ala Ala Leu Ala Cys His Trp Cys Gly
1410 1415 1420
Ile Leu Thr Glu Gln Cys Val Glu Asn Asn Ile Phe Arg Lys Asp Trp
1425 1430 1435 1440
Gly Asp Gly Phe Ile Ser Asp His Ala Phe Met Asp Phe Lys Ile Phe
1445 1450 1455
Leu Cys Val Phe Lys Thr Lys Leu Leu Cys Ser Trp Gly Ser Gln Gly

1460 1465 1470
Lys Asn Val Lys Asp Glu Asp Ile Ile Asp Glu Ser Ile Asp Lys Leu
1475 1480 1485
Leu Arg Ile Asp Asn Thr Phe Trp Arg Met Phe Ser Lys Val Met Phe
1490 1495 1500
Glu Ser Lys Val Lys Lys Arg Ile Met Leu Tyr Asp Val Lys Phe Leu
1505 1510 1515 1520
Ser Leu Val Gly Tyr Ile Gly Phe Lys Asn Trp Phe Ile Glu Gln Leu

1525 1530 1535
Arg Val Val Glu Leu His Glu Val Pro Trp Ile Val Asn Ala Glu Gly
1540 1545 1550
Glu Leu Val Glu Ile Lys Pro Ile Lys Ile Tyr Leu Gln Leu Ile Glu
1555 1560 1565
Gln Ser Leu Ser Leu Arg Ile Thr Val Leu Asn Tyr Thr Asp Met Ala
1570 1575 1580
His Ala Leu Thr Arg Leu Ile Arg Lys Lys Leu Met Cys Asp Asn Ala

1585 1590 1595 1600
Leu Phe Asn Pro Ser Ser Ser Pro Met Phe Ser Leu Thr Gln Val Ile
1605 1610 1615
Asp Pro Thr Thr Gln Leu Asp Tyr Phe Pro Lys Val Ile Phe Glu Arg
1620 1625 1630
Leu Lys Ser Tyr Asp Thr Ser Ser Asp Tyr Asn Lys Gly Lys Leu Thr
1635 1640 1645
Arg Asn Tyr Met Thr Leu Leu Pro Trp Gln His Val Asn Arg Tyr Asn

1650 1655 1660
Phe Val Phe Ser Ser Thr Gly Cys Lys Ile Ser Leu Lys Thr Cys Ile
1665 1670 1675 1680
Gly Lys Leu Ile Lys Asp Leu Asn Pro Lys Val Leu Tyr Phe Ile Gly
1685 1690 1695
Glu Gly Ala Gly Asn Trp Met Ala Arg Thr Ala Cys Glu Tyr Pro Asp
1700 1705 1710
Ile Lys Phe Val Tyr Arg Ser Leu Lys Asp Asp Leu Asp His His Tyr

1715 1720 1725
Pro Leu Glu Tyr Gln Arg Val Ile Gly Asp Leu Asn Arg Val Ile Asp
1730 1735 1740
Gly Gly Glu Gly Leu Ser Met Glu Thr Thr Asp Ala Thr Gln Lys Thr
1745 1750 1755 1760
His Trp Asp Leu Ile His Arg Ile Ser Lys Asp Ala Leu Leu Ile Thr
1765 1770 1775
Leu Cys Asp Ala Glu Phe Lys Asn Arg Asp Asp Phe Phe Lys Met Val

1780 1785 1790

Ile Leu Trp Arg Lys His Val Leu Ser Cys Arg Ile Cys Thr Ala Tyr
1795 1800 1805
Gly Thr Asp Leu Tyr Leu Phe Ala Lys Tyr His Ala Thr Asp Cys Asn
1810 1815 1820
Ile Lys Leu Pro Phe Phe Val Arg Ser Val Ala Thr Phe Ile Met Gln
1825 1830 1835 1840
Gly Ser Lys Leu Ser Gly Ser Glu Cys Tyr Ile Leu Leu Thr Leu Gly
1845 1850 1855
His His Asn Asn Leu Pro Cys His Gly Glu Ile Gln Asn Ser Lys Met
1860 1865 1870
Arg Ile Ala Val Cys Asn Asp Phe His Ala Ser Lys Lys Leu Asp Asn
1875 1880 1885
Lys Ser Ile Glu Ala Asn Cys Lys Ser Leu Leu Ser Gly Leu Arg Ile
1890 1895 1900
Pro Ile Asn Lys Lys Glu Leu Asn Arg Gln Lys Lys Leu Leu Thr Leu
1905 1910 1915 1920
Gln Ser Asn His Ser Ser Ile Ala Thr Val Gly Gly Ser Lys Ile Ile
1925 1930 1935
Glu Ser Lys Trp Leu Lys Asn Lys Ala Ser Thr Ile Ile Asp Trp Leu
1940 1945 1950
Glu His Ile Leu Asn Ser Pro Lys Gly Glu Leu Asn Tyr Asp Phe Phe
1955 1960 1965
Glu Ala Leu Glu Asn Thr Tyr Pro Asn Met Ile Lys Leu Ile Asp Asn
1970 1975 1980
Leu Gly Asn Ala Glu Ile Lys Lys Leu Ile Lys Val Pro Gly Tyr Met
1985 1990 1995 2000
Leu Val Ser Lys Lys
2005

<210> 38
<211> 6018
<212> DNA
<213> human Metapneumo virus

<400> 38
atggatcctc tcaatgaatc cactgttaat gtctatcttc ctgactcata tcttaaagga 60
gtgatttctt ttagtgagac taatgcaatt ggttcattgtc tcttaaaaag accttaccta 120
aaaaatgaca aactgcaa agttgccata gagaatcctg ttatcgagca tgtagactc 180
aaaaatgcag tcaattctaa gatgaaaata tcagattaca agatagtaga gccagtaaac 240
atgcaacatg aaattatgaa gaatgtacac agttgtgagc tcacattatt aaaacagttt 300
ttaacaagga gtaaaaatat tagcactctc aaattaaata tgatatgtga ttggctgcag 360
ttaaagtcta catcagatga taccicaatc ctaagtttta tagatgtaga atttatacct 420
agctgggtaa gcaattggtt tagtaattgg tacaatctca acaagttgat tctggaattc 480
aggaaaagaag aagtaataag aactgggttca atcttggtga ggtcattggg taaattagtt 540
tttgttgtat catcatatgg atgtatagtc aagagcaaca aaagcaaaag agtgagcttc 600
ttcacatata atcaactgtt aacatggaaa gatgtgatgt taagtagatt caatgcaaat 660
ttttgtatat gggtaaagcaa cagtctgaat gaaaatcaag aagggtctagg gttgagaagt 720
aatctgcaag gcatattaac taataagcta tatgaaactg tagattatat gcttagttta 780
tggtgcaatg aaggtttctc acttggtgaaa gagttcgaag gctttattat gagtgaatt 840

cttaggatta ctgaacatgc tcaattcagt actagattta gaaatacttt attaaatgga 900

ttaactgac aattaacaaa attaaaaaat aaaaacagac tcagagttca tggtagcgtg 960

ttagaaaaata atgattatcc aatgtacgaa gttgtactta agttattagg agatactttg 1020

agatgtatta aattattaat caataaaaac ttagagaatg ctgctgaatt atactatata 1080

tttagaatat tcggtcacc aatggttagat gaaagagatg caatggatgc tgtcaaatta 1140

aacaatgaaa tcacaaaaat ccttaggtgg gagagcttga cagaactaag aggggcattc 1200

atattaagga ttatcaaagg atttgttagac aacaacaaaa gatggcccaa aattaaaaac 1260

ttaaaagtgc ttagtaagag atggactatg tacttcaaag caaaaagtta cccagtgcaa 1320

cttgaattaa gcgaacaaga ttttttagag ctgctgcaa tacagtttga acaagagttt 1380

tctgtccctg aaaaaaccaa ccttgagatg gtattaaatg ataaagctat atcacctcct 1440

aaaagattaa tatggtctgt gtatccaaaa aattacttac ctgagaaaaat aaaaaatcga 1500

tatctagaag agactttcaa tgcaagtgat agtctcaaaa caagaagagt actagagtac 1560

tatttgaaag ataataaatt cgacacaaaa gaacttaaaa gttatgttgt taaacaagaa 1620

tattttaatg ataaggatca tattgtctcg ctaactggaa aagaaagaga attaagtgtg 1680

ggtagaatgt ttgctatgca accaggaaaa cagcgacaaa tacaatatat ggctgaaaaa 1740

ttgttagctg ataataattgt accttttttc ccagaaacct taacaaagta tggtagtcta 1800

gatcttcaga gaataatgga aatcaaatcg gaactttctt ctattaaaac tagaagaaat 1860

gatagttata ataattacat tgcaagagca tccatagtaa cagatttaag taagttcaac 1920

caagccttta ggtatgaaac tacagcgatc tgtgcggatg tagcagatga actacatgga 1980

acacaaagcc tatctgttg gttacatctt atcgtcccta tgacaacaat gatatgtgcc 2040

tatagacatg caccaccaga aacaaaaggt gaatatgata tagataagat agaagagcaa 2100

agtggtttat atagatatca tatgggtggg attgaaggat ggtgtcaaaa actctggaca 2160

atggaagcta tatctctatt agatgttgta tctgtaaaaa cacgatgtca aatgacatct 2220

ttattaaacg gtgacaacca atcaatagat glaagtaaac cagtttaagt atctgagggt 2280

ttagatgaag tgaaagcaga ttatagcttg gctgtaaaaa tgttaaaaaga aataagagat 2340

gcatacagaa atataggcca taaacttaaa gaaggggaaa catatatac aagagatctt 2400

cagtttataa gtaaggtgat tcaatctgaa ggagtaatgc atcctacccc tataaaaaag 2460

atcttaagag tgggaccatg gataaacaca atattagatg acattaaaac cagtgcagag 2520

tcaataggga gtctatgtca ggaattagaa tttagggggg aaagcataat agttagtctg 2580

atattaagga atttttggct gtataattta tacatgcatg aatcaaagca acaccccta 2640

gcaggggaagc agttattcaa acaactaaat aaaacattaa catcagtga gagatttttt 2700

gaaataaaaa aggaaaatga agtagtagat ctatggatga acataccaat gcagtttgga 2760

ggaggagatc cagtagtctt ctatagatct ttctatagaa ggaccctga ttttttaact 2820

gaagcaatca gtcatgtgga tattctgtta agaatatcag ccaacataag aaatgaagcg 2880

aaaataagtt tcttcaaagc cttactgtca atagaaaaaa atgaacgtgc tacactgaca 2940

acactaatga gagatcctca agctgttggc tcagagcgac aagcaaaaag aacaagtgat 3000

atcaatagaa cagcagttac cagcatctta agtctttctc caaatcaact tttcagcgat 3060

agtgtctatac actacagtag aaatgaagaa gaggtcggaa tcattgctga caacataaca 3120

cctgtttatc ctcatggact gagagttttg tatgaatcat taccttttca taaagctgaa 3180

aaagttgtga atatgatatc aggaacgaaa tccataacca acttattaca gagaacatct 3240

gctattaatg gtgaagatgt tgacagagct gtatccatga tgctggagaa cctaggatta 3300

ttatctagaa tattgtcagt agttgttgat agtatagaaa ttccaaccaa atctaagtgt 3360

aggctgatat gttgtcagat atctagaacc ctaagggaga catcatggaa taatatggaa 3420

atagttggag taacatcccc tagcatcact acatgcatgg atgtcatata tgcaactagc 3480

tctcatttga aagggataat cattgaaaag ttcagcactg acagaactac aagaggtcaa 3540

agaggtccaa agagcccttg ggtagggtcg agcactcaag agaaaaaatt agttcctgtt 3600

tataacagac aaattctttc aaaacaacaa agagaacagc tagaagcaat tggaaaaatg 3660

agatgggtat ataaaggagc accaggttta agacgattac tcaataagat ttgtcttgga 3720

agtttaggca ttagttacaa atgtgtaaaa cttttattac ctaggtttat gagtgtaaat 3780

ttcctacaca ggttatctgt cagtagtaga cctatggaat tcccagcatc agttccagct 3840
 tatagaacaa caaattacca ttttgacact agtcctatta atcaagcact aagttagaga 3900
 tttgggaatg aagatattaa tttggtcttc caaaatgcaa tcagctgtgg aattagcata 3960
 atgagtgtag tagaacaatt aactggtagg agtccaaaac agttagtgtt aatacctcaa 4020
 ttagaagaaa tagacattat gccaccacca gtgtttcaag ggaaattcaa ttataagcta 4080
 gtagataaga taactttctg tcaacatata ttcagtccag acaaaataga tatgttaaca 4140
 ctggggaaaa tgctcatgcc cactataaaa ggtcagaaaa cagatcagtt cctgaacaag 4200
 agagagaatt atttccatgg gaataatctt attgagtcct tgtcagcagc gttagcatgt 4260

cattggtgtg ggatattaac agagcaatgt atagaaaata atattttcaa gaaagactgg 4320
 ggtgacgggt tcatatcgga tcatgctttt atggacttca aaatattcct atgtgtcttt 4380
 aaaactaaac ttttatgtag ttgggggtcc caagggaata acattaaaga tgaagatata 4440
 gtagatgaat caatagataa actgttaagg attgataata ctttttgag aatgttcagc 4500
 aaggttatgt ttgaatcaaa ggttaagaaa aggataatgt tataatgatgt aaaatttcta 4560
 tcattagtag gttatatagg gtttaagaat tggtttatag aacagttgag atcagctgag 4620
 ttgatgagg taccttggat tgtcaatgcc gaaggatgat tggttgagat caagtcaatt 4680
 aaaatctatt tgcaactgat agagcaaatgt ttatttttaa gaataactgt tttgaactat 4740

acagatatgg cacatgctct cacaagatta atcagaaaaga agttgatgtg tgataatgca 4800
 ctattaaact cgattccatc cccaatgggt aatttaactc aagtattga tcctacagaa 4860
 caattagctt atttccctaa gataacattt gaaaggctaa aaaattatga cactagtcca 4920
 aattatgcta aaggaaagct aacaaggaat tacatgatac tgttgccatg gcaacatgtt 4980
 aatagatata actttgtctt tagttctact ggatgtaaag ttagtctaaa aacatgcatt 5040
 ggaaaactta tgaagatct aaaccctaaa gttctgtact ttattggaga aggggcagga 5100
 aattggatgg ccagaacagc atgtgaatat cctgacatca aatttgtata cagaagtta 5160
 aaagatgacc ttgatcatca ttatcctttg gaataaccaga gagttatagg agaattaagc 5220

aggataatag atagcgggtg agggctttca atggaaacaa cagatgcaac tcaaaaaact 5280
 cattgggatt tgatacacag agtaagcaaa gatgctttat taataacttt atgtgatgca 5340
 gaatttaagg acagagatga ttttttaag atggtaattc tatggaggaa acatgtatta 5400
 tcatgcagaa ttgcaactac ttatgggaca gacctctatt tattcgcaaa gtatcatgct 5460
 aaagactgca atgtaaaatt accttttttt gtgagatcag tagccacctt tattatgcaa 5520
 ggtagtaaac tgtcaggctc agaattgctac atactcttaa cactaggcca ccacaacaat 5580
 ttacctgcc atggagaaat acaaaattct aagatgaaaa tagcagtggtg taatgatttt 5640
 tatgctgcaa aaaaacttga caataaatct attgaagcca actgtaaatc acttttatca 5700

gggctaagaa taccgataaa taagaaagaa ttaaataagac agagaagggtt attaacacta 5760
 caaagcaacc attcttctgt agcaacagtt ggaggtagca aggtcataga gtctaaatgg 5820
 ttaacaaaca aggcaaacac aataattgat tggttagaac atatttttaa ttctccaaaa 5880
 ggtgaattaa attatgattt ttttgaagca ttagaaaata cttaccctaa tatgattaaa 5940
 ctaatagata atctagggaa tgcagagata aaaaaactga tcaaagtaac tggatatatg 6000
 cttgtaagta aaaaatga 6018

<210> 39

<211> 6018

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 39

atggatcctc ttaatgaatc cactgttaat gtctatctcc ctgattcgta ccttaaagga 60
 gtaatttctt ttagtgaac taatgcaatt ggttcatgtc tcttaaaaag accttactta 120
 aaaaatgaca aactgcaaa agttgccata gagaatcctg ttattgagca tgtgagactc 180

aaaaatgcag tcaattctaa aatgaaaata tcagattaca aggtagtaga gccagtaaac 240
 atgcaacatg aaataatgaa gaatgtacac agttgtgagc tcacactatt gaaacagttt 300
 ttaacaagga gtaaaaacat tagcactctc aaattaaata tgatatgtga ttggctgcaa 360
 ttaaagtcta catcagatga tacctcaatc ctaagtttca tagatgtaga atttatacct 420

 agttgggtaa gcaactgggt tagtaattgg tacaatctca ataagttaat tttggaattc 480
 agaagagagg aagtaataag aaccggttca atcttatgca ggtcattggg taaattagtt 540
 tttattgtat catcatcagg atgtatcgtc aagagcaaca aaagcaaaag agtgagcttc 600
 ttcacataca atcaactgtt aacatggaaa gatgtgatgt taagtagatt taatgcgaat 660
 ttttgtatat gggtaaagca tagtctgaat gaaaatcagg aagggttagg gttaaagaagt 720
 aatctacaag gtatgttaac taataaacta tatgaaactg tagattatat gctaagttta 780
 tgttgcgaatg aaggttttctc acttgtaaaa gagtctgaag gttttattat gagtgaatc 840
 cttaggatta ctgaacatgc tcaattcagt actagattta gaaatacttt attaaatgga 900

 ttaacagatc aattaacaaa attaaaaaat aaaaacagac tcagagttca tggtagccta 960
 ttagaaaaata atgattatcc aatgtatgaa gttgtactta aattattagg agatactttg 1020
 agatgtatca aattattaat caataaaaaac ttagagaatg ctgcagaatt atactatata 1080
 ttcagaatct ttggtatcc aatggtagat gaaagagatg caatggatgc tgtcaaatga 1140
 aacaatgaaa tcacaaaaat cctaagggtg gagagcttga cagaactaag aggagcattc 1200
 atattaagga ttatcaaagg atttgtggac aacaacaaaa ggtggcccaa aattaaaaat 1260
 ttaatagtgc ttagcaaaag atggactatg tacttcaaag ctaaaaatta tcccagtcga 1320
 ctgaattaa gtgaacaaga ctttctagag ctgtctgcaa tacaatttga acaagagttt 1380

 tctgttcttg aaaaaaccaa tcttgatg gtattaaatg acaaagccat atcacctcct 1440
 aaaagattaa tatggtctgt gtatccaaag aattacttac ctgagacgat aaaaaatcga 1500
 tatttagaag aaactttcaa tgcgagtgt agtctcaaaa caagaagagt actagagtag 1560

 tatttaaaag acaataaatt tgatcaaaag gaacttaaaa gttatgtagt tagacaagaa 1620
 tatttaaatg ataaggagca cattgtctca ttaactggaa aagaaagaga attaagtga 1680
 ggtagaatgt ttgctatgca accaggaaaa cagcgacaaa tacaataatt ggcagaaaaa 1740
 ttgttagctg ataacattgt acctttcttc ccggaacct taacaaagta tggtagatca 1800
 gatcttcaga gaataatgga aatcaaatca gaactttctt ctatcaaac cagaagaaat 1860
 gacagtata ataattacat tgcaagagca tccatagtaa cagatttgag caagttaac 1920
 caagccttta gatatgaac tacagcgatc tgtcggatg tagcagacga attacatgga 1980
 acacaaagct tatctgttg gttacatctt atcgttctta tgactacaat gatatgtgcc 2040

 tatagacatg caccaccaga aacaaaaggt gaatatgata tagataagat agaagagcaa 2100
 agtggctctat atagatatca catgggcggt attgaaggat ggtgtcaaaa actctggaca 2160
 atggaagcta tatctttatt ggatgttgta tctgtaaaga cacggtgtca aatgacatct 2220
 ttattaaacg gtgataacca atcaatagat gtaagttaac cagtcaagtt atctgaaggt 2280
 ttagatgaag tgaaggcaga ttatcgctta gcaataaaaa tgctaaaaga aataagagat 2340
 gcatacagaa atataggcca taaacttaaa gaaggggaaa catatatac aagggtatctt 2400
 caatttataa gcaaggtgat tcaatctgaa ggagtgtatc atcctacccc tataaaaaag 2460
 gtcttgagag taggaccatg gataaacaca atattagatg acattaaaac tagtgctgag 2520

 tcaataggga gtctatgtca agaattagaa tttaggggag aaagcataat agttagtctg 2580
 atattaagaa acttctggct gtataactta tacatgcatg aatcaaagca acatcctttg 2640
 gcagggaac agttattcaa acaactaaat aaaacattaa catcagtga gagatttttt 2700
 gaaattaaaa aggaaaaatga ggtagtagat ctatggatga acataccaat gcaatttgga 2760
 ggaggagatc cagtgtctt ctatagatct ttctatagaa ggaccctga ttttttaact 2820
 gaggcaatca gccatgtaga tattctgtta aaaatatcag ctaacataaa aaatgaaacg 2880
 aaagtaagtt tcttcaaagc ctactatca atagaaaaaa atgaacgtgc tacactgaca 2940
 acgctaatga gagatctca agctgttgga tcagaacgac aagcaaaagt aacaagtgc 3000

 atcaatagaa cagcagttac cagtatctta agtctttccc caaatcaact tttcagtgt 3060

agtgcataac actatagcag gaatgaagaa gaagtgggaa tcattgcaga aaacataaca 3120
 cctgtttatc ctcatgggct gagagtatta tatgaatcat tgccctttca caaagctgaa 3180
 aaagtgttaa acatgatatc agggacaaaa tctataacca acttattaca gagaacatcc 3240
 gctatfaatg gtgaagatat tgacagggct gtatctatga tgttggagaa tctaggatta 3300
 ttatctagaa tattgtcagt agttgttgat agtatagaaa ttccaatcaa atctaattgtt 3360
 aggctgatat gttgtcaaat ctctaggact ttaagagaga catcatggaa taatatggaa 3420
 atagtgggag taacatctcc tagcatcact acatgtatgg atgtcatata tgcaactagt 3480

tctcatttga aggggataat tatagaaaag ttcagcactg acagaactac aaggggtcaa 3540
 agagggtcaa aaagcccttg ggtagggtcg agtactcaag agaaaaaatt agtacctgtt 3600
 tataacagac aaattctttc aaaacaacaa agagaacagc tagaagcaat tggaaaaatg 3660
 agatgggtgt ataaagggac accaggcttg cgacgattac tcaacaagat ctgtcttggg 3720
 agttttaggca ttagttaaca atgtgtaaaa cttttattac ctaggtttat gagtgtaaat 3780
 ttcttacata ggttatctgt cagtagtaga cctatggaat tcccagcatc agttccagct 3840
 tatagaacaa caaattacca ttctgacact agtcttatta atcaagcact aagttagaga 3900
 tttaggaatg aagatatfaa cttggtcttc caaaatgcga tcagctgtgg aattagcata 3960

atgagtgtag tagaacaatt aacaggtaga agcccaaaac agttagtgtt aataccccaa 4020
 ttagaagaaa tagacattat gccaccacca gtgtttcaag ggaaattcaa ttataaatta 4080
 gtagataaga taacttctga tcaacatata ttcagtcagg acaaaataga tatgttaaca 4140
 ctagggaaaa tgctcatgcc tactataaaa ggtcagaaaa cagatcagtt cttaataaag 4200
 agagagaatt atttccatgg gaacaatctt attgagtctt tatcagcagc attagcatgt 4260
 cattggtgtg ggatattaac agaacaatgc atagaaaata atattttcaa gaaggactgg 4320
 ggtgacgggt ttatatcaga tcatgctttt atggacttca aaatattcct atgtgtcttt 4380
 aaaactaac ttttatgtag ttggggatcc caagggaaaa acattaaaga tgaagatata 4440

gtagatgaat caatagataa attgttaagg attgacaata ctttttgag aatgttcagc 4500
 aaagtatatg ttgaacaaa agttaagaaa aggataatgt tatatgatgt aaaattccta 4560
 tcactagtag gctacatagg gttaagaac tggtttatag agcagttgag atcagctgaa 4620
 ttgcatgaaa taccttggat tgtcaatgcc gaagggtgatt tggttgagat caagtcaatt 4680
 aaaatctatt tgcaactgat agaacaagc ttatttttaa gaataactgt ttgaactat 4740
 acagatatgg cacatgctct cacacgatta atcagaaaaga agttaatgtg tgataatgca 4800
 ctgttaaccc caatttcac cccaatggtt aacttaactc aagtatttga tcccacaaca 4860
 caattagatt acttcccca gataacattc gaaaggctaa aaaattatga cacaagtcca 4920

aattatgcta aaggaaagct aacaagaaat tacatgatac tattgccatg gcagcatgtt 4980
 aatagatata actttgtctt tagttctact ggatgtaaag ttagtctgaa aacatgtatt 5040
 ggaaaactta tgaagactt aaatcctaaa gttttgtact ttattggaga aggagcagga 5100
 aattggatgg ccagaacagc atgtgaatat cctgatatta aatttgtata tagaagtctg 5160
 aaagatgacc ttgatcatca ttatcctctg gaataccaga gagtgatagg tgaattaagc 5220
 agaatcatag atagtgggtg aggactttca atggaaacaa cagacgcaac tcaaaaaact 5280
 cattgggatt tgatacacag ggtaagcaaa gatgctttat taataacttt atgtgatgca 5340
 gaatttaagg acagagatga tttttttaag atggtaattc tatggagaaa acatgtatta 5400

tcatgcagaa ttgcaactac ttatgggacg gacctctatt tattcgcaaa gtatcatgct 5460
 aaagactgca atgtaaaatt acctttttt gtgagatcag ttgctacttt cattatgcag 5520
 ggtagtaagc tgcaggttc agaagtctac atactcttaa cactaggcca ccacaacagt 5580
 ttaccttgcc atggagaaat acaaaattct aagatgaaaa tagcagtggtg taatgatttt 5640
 tatgtgcaa aaaaactcga caataaatca attgaaagct attgtaaatc acttttgc 5700
 gggctaagaa tacctataaa taagaaggaa ctgatagac agagaagatt attaacacta 5760
 caaagcaatc attcttctgt ggcaacagtt ggcggttagca agatcataga gtctaaatgg 5820
 ttaacaaaca aagcaagtac aataattgat tggttagaac atatttttaa ttctccaaag 5880

ggcgaattaa attatgattt ttttgaagca ttggagaaca cttaccctaa tatgattaaa 5940
 ctaatagata acttagggaa tgcagagatt aaaaaactta tcaaagtaac aggatacatg 6000
 cttgtaagta aaaaatga 6018

<210> 40

<211> 6018

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 40

atggatccct tttgtgaatc tactgttaat gtttatctcc ctgattcata tctcaaagga 60
 gtaatatctt ttagtgaac caatgcaatt ggatcatgtc ttttgaag accctatcta 120
 aaaaatgaca aactgccaa agttgctgta gaaaaccctg ttgttgaaca tgtgaggctt 180
 agaaatgcag tcatgacca aatgaagata tcagattata aagtgggtga accagttaat 240
 atgcagcatg aaataatgaa aaatatacat agttgtgagc ttacattatt aaaacaattc 300
 ttaacgagaa gcaaaaacat tagctctcta aaattaaata tgatatgtga ttggttacag 360
 ttaaaatcca cttcagataa cacatcaatt ctcaatttta tagatgtgga gttcatacc 420

gtttgggtaa gcaattgggt cagtaactgg tataatctca ataaattaat cttagagttt 480
 agaagagaag aagtaataag aactgggtca attttatgta gatcactagg caagttagtt 540
 tttattgtat catcttatgg atgtgtagta aaaagcaaca aaagtaaaag agtgagcttt 600
 ttcacctata accaactgtt aacatggaaa gatgtgatgt taagtagatt caatgcaaac 660
 ttttgtatat gggtgaagta caacctgaac aaaaatcaag aaggactagg acttagaagc 720
 aatctgcaag gtatgttaac caataaatta tatgaaactg ttgattacat gctaagccta 780
 tgctgcaatg aaggattctc tctggtgaaa gagtttgaag gatttattat gagtgaatt 840
 ctaaaaatta ctgagcatgc tcagttcagt actaggttta ggaatacttt attgaatggg 900

ttaactgaac aattatcagt gttgaaagct aagaacagat cttagagttct tggaactata 960
 ttagaaaaca acaattacc tatgtacgaa gtagtactta aattattagg ggacaccttg 1020
 aaaagcataa agttattaat taacaagaat ttagaaaatg ctgcagaatt atattatata 1080
 ttcagaattt ttggacacc tatgtagat gagagggaag caatggatgc tgttaaatta 1140
 aacaatgaga ttacaaaaa tcttaaatta gagagttaa cagaactaag aggagcattt 1200
 atactaagaa ttataaaagg gttttagac aataataaaa gatggcctaa aattaagaat 1260
 ttaaaagtgc tcagcaaaag atgggctatg tatttcaaag ctaaaagtta ccctagccaa 1320
 cttgagctaa gtgtacaaga ttttttagaa cttgctgcag tacaatttga gcaggaattc 1380

tctgtacctg aaaaaacca ctttagatg gtattaaatg ataaagcaat atcacctcca 1440
 aaaaagctaa tatggtctgt atatcaaaa aactacctgc ctgaaactat aaaaaatcaa 1500
 tatttagaag aggttttcaa tgcaagtgc agccaaagaa caaggagagt cttagaattt 1560
 tacttaaaag attgtaatt tgatcaaaaa gaacttaaac gttatgta taaacaagag 1620
 tatctgaatg acaagacca cattgtctcg ttaactggga aggaagaga attaatgta 1680
 ggtaggatgt ttgcaatgca accaggaaaa caaagacaga tacagatatt agctgagaaa 1740
 cttctagctg ataatttgt acctttttc ccagaaactt taacaaagta tggtagctta 1800
 gatctccaaa gaattatgga aataaaatca gaactttctt ccattaaaac tagaaagaat 1860

gatagctaca acaattatat tgcaagggcc tctatagtaa cagacttaag taagttcaat 1920
 caggccttta gatatgaac cacagctata tgtgcagatg tagctgatga gttacatggg 1980
 acacaaagct tattctgttg gttacatctt attgttcca tgactacaat gatatgtgca 2040
 tacagacatg caccaccaga aacaaaaggg gaatatgata tagacaaaat acaagagcaa 2100
 agcggattat acagatatca tatgggaggg attgaagggt ggtgccagaa gttatggaca 2160
 atggaagcaa tatccttgtt agatgtagta tctgtgaaga ctgctgtca gatgacctct 2220
 ctattaaacg gagacaatca gtcaatagat gttagtaaac cagtaaaatt gtctgaaggt 2280

atagatgaag taaaagcaga ctatagctta gcaattagaa tgcttaaga aataagagat 2340
 gcttataaaa acattgggtca taaactcaaa gaagggtgaaa catatataatc aagggtatctc 2400
 caattttataa gtaagggtgat tcaatctgaa ggagtcagtc atcctacccc tataaaaaag 2460
 atattaagag taggtccttg gataaataca atactagatg atattaaaac cagtgcagaa 2520
 tcaataggaa gtctatgtca agaactagaa ttcagagggg agagtatact agttagcttg 2580
 atattaagga atttctggct gtataacttg tacatgtatg agtcaaaaca gcaccatta 2640
 gctgggaagc aactgttcaa gcaattgaac aaaacattaa catctgtgca gagatttttt 2700
 gaactgaaga aagaaaaatga tgtggttgac ctatggatga atataccaat gcagtttgga 2760
 gggggagatc cagtagtttt ttacagatct ttttacagaa ggactcccga tttcctaact 2820
 gaagcaatca gccatgtgga ttactgttta aaagtgtcaa acaatatcaa agatgagact 2880
 aagatacgtat ttttcaaagc cttattatct atagaaaaga atgaacgtgc tacattaaca 2940
 acactaatga gagaccctca ggacagtagga tcagaacgac aagctaaggt aacaagtgat 3000
 ataaatagaa cagcagttac cagcactatg agtctatctc cgaatcagct cttctgtgat 3060
 agtgctatac attatagtag aaatagggaa gaagttggga tcattgcaga caacataaca 3120
 cctgtctatc ctcatgggct gagagtgtc tatgaatcac taccttttca taaggctgaa 3180
 aaggttgtca atagatatac aggcacaaag tctataacta atctattaca gagaacatct 3240
 gctatcaatg gtgaagatat tgatagagca gtgtctatga tgttagagaa cttagggttg 3300
 ttatctagaa tattgtcagt aataattaat agtatagaaa taccaatcaa gtccaatggc 3360
 agattgatat gctgtcaaat ttccaagacc ttgagagaaa aatcatggaa caatatggaa 3420
 atagtaggag tgacatctcc tagtattgtg acatgtatgg atgttgtgta tgcaactagt 3480
 tctcatttaa aaggaataat tattgaaaaa ttcagtactg acaagaccac aagaggtcag 3540
 aggggaccaa aaagccctg ggtaggatca agcactcaag agaaaaaatt ggttcctgtt 3600
 tataatagac aaattcttcc aaaacaacaa aaagagcaac tggaagcaat agggaaaatg 3660
 aggtgggtgt acaaaggaac tccagggtca agaagattgc tcaacaagat ttgcatagga 3720
 agcttaggta ttagctataa atgtgtgaaa cttttattac caagattcat gagtgtaaac 3780
 ttcttacata ggttatctgt tagtagtaga cccatggaat tcccagcttc tgttccagct 3840
 tacaggacaa caaattacca ttttgacact agtccaatca accaagcatt aagttagagg 3900
 ttcgggaacg aagacattaa tttagtgttc caaaatgcaa tcagctgcgg aattagtata 3960
 atgagtgttg tagaacagtt aactggtaga agcccaaac aattagtcct aatccctcaa 4020
 ttagaagaga tagatattat gcctctcct gtatttcaag gaaaattcaa ttataaacta 4080
 gttgataaga taacctccga tcaacacatc ttcagtcctg acaaaataga catattaaca 4140
 ctagggaaga tgcttatgcc taccataaaa ggtcaaaaaa ctgatcagtt cttaaataag 4200
 agagaaaaact attttcatgg aaataattta attgaatctt tatctgcagc acttgcatgc 4260
 cactggtgtg ggatattaac agaacagtgc atagaaaaca atatctttag gaaagattgg 4320
 ggtgatgggt tcatctcaga tcatgccttc atggatttca aggtatttct atgtgtattt 4380
 aaaaccaaac ttttatgtag ttggggatct caaggaaaga atgtaaaaga tgaagatata 4440
 atagatgaat ccattgacaa attattaaga attgacaaca cttttggag aatgttcagc 4500
 aaagtcagtg ttgaatcaaa agtcaaaaaa agaataatgt tatatgatgt gaaattccta 4560
 tcattagtag gttatatagg atttaaaaac tggtttatag aacagttaag agtggttaga 4620
 ttgcatgagg taccttggat tgtcaatgct gaaggagagt tagttgaaat taaatcaatc 4680
 aaaattttatc tgcagttaat agaacaaagt ctatctttga gaataactgt attgaattat 4740
 acagacatgg cacatgctct tacacgatta attaggaaaa aattgatgtg tgataatgca 4800
 ctctttaatc caagttcatc accaatgttt aatctaactc aggttattga tcccacaaca 4860
 caactagact attttcctag gataatattt gagagggtta aaagttatga taccagttca 4920
 gactacaaca aagggaagtt aacaaggaat tacatgacat tattaccatg gcaacacgta 4980
 aacaggtaca attttgtctt tagttctaca ggttgtaaag tcagtttgaa gacatgcac 5040
 gggaaattga taaaggattt aaatcctaaa gttctttact ttattggaga aggagcaggt 5100

aactggatgg caagaacagc atgtgaatat cctgatataa aatttgtata taggagttta 5160
aaggatgacc ttgatcacca ttaccatta gaatatcaaa gggtaatagg tgatctaaat 5220
agggatag atagtggta aggattatca atggaaacca cagatgcaac tcaaaaaact 5280
cattgggact tgatacacag aataagtaaa gatgctttat tgataacatt gtgtgatgca 5340
gaattcaaaa acagagatga tttctttaag atggtaatcc tttggagaaa acatgtatta 5400
tctttagtaa tctgtacagc ttatggaaca gatctttact tatttgcaaa gtatcatgcg 5460
gtggactgca atataaaatt accatttttt gtaagatctg tagctacttt tattatgcaa 5520
ggaagcaaat tatcagggtc agaattgtac atacttttaa cattaggtca tcacaataat 5580

ctacctgtc atggagaaat acaaaattcc aaaatgagaa tagcagtgtg taatgatttc 5640
tatgcctcaa agaaactgga caacaatatca attgaagcaa actgcaaatc tcttctatca 5700
ggattgagaa tacctataaa caaaaaggag ttaaatagac aaaagaaatt gttacacta 5760
caaagtaacc atttctctat agcaacagtt ggcggcagta agattataga atccaaatgg 5820
ttaagaata aagcaagtac aataattgat tggtagagc atattttgaa ttctccaaaa 5880
ggtgaattaa actatgattt ctttgaagca ttagagaaca cataccccaa tatgatcaag 5940
cttatagata atttgggaaa tgcagaaata aagaaactaa tcaaggtcac tgggtatatg 6000
cttgtgagta agaagtaa 6018

<210> 41

<211> 6018

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 41

atggatccat tttgtgaatc cactgtcaat gtttatcttc ctgactcata tctcaaagga 60
gtaatatctt tcagtgaac caatgcaatt ggctcatgcc ttttgaaaag accctatcta 120
aaaaaagata aactgctaa agttgctgta gaaaaccctg ttgttgaaca tgtcaggctt 180
agaaatgcag tcatgaccaa aatgaagata tcagattata aagtgggtga accaattaat 240
atgcagcatg aaataatgaa aaatatacac agttgtgagc tcacattatt aaaacaattc 300
ttaacaagaa gtaaaaacat tagctctcta aaattaagta tgatatgtga ttgggttacag 360
ttaaaatcca cctcagataa cacatcaatt cttaatitta tagatgtgga gtttatacct 420

gtttgggtga gcaattggtt tagtaactgg tataatctca ataaattaat cttagagttt 480
agaagagagg aagtaataag aactggttca attttatgta gatcactagg caagttagtt 540
ttcattgtat catcttatgg gtgtgtagta aaaagcaaca aaagtaaaag agtaagtttt 600
ttcacatata accaactggt aacatggaaa gatgtgatgt taagttaggtt caatgcaaac 660
ttttgtatat gggtlaagtaa caacctgaac aaaaatcaag aaggactagg atttagaagt 720
aatctgcaag gtatgttaac caataaatta tatgaaactg ttgattatat gtttaagtcta 780
tgtagttaat aagggttctc actagtgaag gagttcgaag gctttattat gagtgaatt 840
cttaaaatta ctgagcatgc tcaattcagt actaggttta ggaatacttt attaaatggg 900

ttgactgaac aattatcaat gttgaagct aaaaacagat cttagagttct tggcactata 960
ttagaaaaca atgattacc catgtatgaa gtagtactta aattattagg ggacactttg 1020
aaaagtataa aattattaat taacaagaat ttagaaaatg ctgcagaatt atattatata 1080
ttcagaattt ttggacacc tatggtgat gagaggaag caatggatgc tgttaaat 1140
aataatgaga ttacaaaaa tcttaaaactg gagagcttaa cagaactaag aggagcattt 1200
atactaagaa ttataaaagg gttttagat aataataaaa gatgcctaa aattaagaat 1260
ttaaaagtgc tcagtaaaag atgggttatg tatttcaaag ccaaaagtta ccctagccaa 1320
cttgagctaa gtgtacaaga ttttttagaa cttgctgcag tacaattcga acaggaattt 1380

tctgtccctg aaaaaaccaa cttgagatg gtattaaatg ataaagcaat atctcctcca 1440
aaaaagttaa tatggtcggt atatccaaa aattatctac ctgaaattat aaaaaatcaa 1500
tatttagaag aggtcttcaa tgcaagtgc agtcaaagaa cgaggagagt cttagaattt 1560

tacttaaaag attgcaaatt tgatcaaaaa gaccttaaac gttatgtact taaacaagag 1620
 tatctaaatg acaaagacca cattgtctca ttaactggga aggaaagaga attaagtgt 1680
 ggcagatgt ttgcaatgca accaggcaaa caaagacaaa tacagatact agctgagaaa 1740
 cttctagctg ataataattgt accctttttc ccagaaactt taacaaaagta tggtagcttg 1800
 gatctccaaa gaattatgga aatgaaatca gaacttttct ccattaaaac taggaagaat 1860

gatagttaca acaattatat tgcaagagcc tccatagtaa cagacctaag taaattcaat 1920

caagccttta gatatgaac cacagctatc tgtgcagatg tagcagatga gttacatggt 1980
 acgcaaagct tattttgttg gttacatctt attgttccca tgaccacaat gatatgtgca 2040
 tacagacatg caccaccaga aacaaagggg gagtatgaca tagacaaaat agaagagcaa 2100
 agtgggctat acagatatca tatgggaggg attgaagggt ggtgtcagaa gttatggaca 2160
 atggaagcga tatccttggt agatgtagta tctgttaaga ctcgttgtca gatgacctct 2220
 ctattaaacg gagacaatca atcaatagat gtcagttaac cagtaaaatt gtcgtgaagg 2280
 atagatgaag taaaagcaga ttatagctta gcaattaaaa tgcttaaaaga gataagagat 2340
 gcctataaaa acattggcca taaactcaaa gaagggtgaaa catatataatc aagagatctc 2400

caatttataa gtaagggtgat tcaatctgag ggggtcatgc atcctacccc cataaaaaag 2460
 atattaaggg taggtccctg gataaataca atactagatg acattaaaac cagtgcagaa 2520
 tcaataggga gtcgtgtgca agaactagag ttcagaggag aaagtatgct agttagcttg 2580
 atattaagga atttctggct gtataactta tacatgcatg agtcaaaaca gcatccgtta 2640
 gctggaaaac aactgtttta gcaattgaac aaaacactaa catctgtgca aagatttttt 2700
 gagctgaaga aagaaaatga tgtggttgac ctatggatga atataccaat gcagtttgga 2760
 gggggagacc cagtagtttt ttacagatct ttttacagaa ggactcctga tttcctgact 2820
 gaagcaatca gccatgtgga tttactgtta aaagtttcga acaatattaa aaatgagact 2880

aagatacgat tctttaagc cttattatct atagaaaaga atgaacgtgc aacattaaca 2940
 acactaatga gagaccccca ggcgtagga tcggaaagac aagctaaggt aacaagtgat 3000
 ataaatagaa cagcagttac tagcatactg agtctatctc cgaatcagct cttttgtgat 3060
 agtgctatac actatagcag aaatgaagaa gaagtcggga tcattgcaga caacataaca 3120
 cctgtttatc ctcacggatt gagagtgtc tatgaatcac taccttttca taaggctgaa 3180
 aagggtgtca atatgatatc aggtacaaaag tctataacta acctattgca gagaacatct 3240
 gctatcaatg gtgaagatat tgatagagca gtgtctatga tgttagagaa cttaggggtg 3300
 ttatctagga tattgtcagt aataattaat agtatagaaa taccaattaa gtccaatggc 3360

agattgatat gctgtcaaat ttctaagact ttgagagaaa aatcatggaa caatatggaa 3420
 atagtaggag tgacatctcc aagtattgta acatgtatgg atgttgtgta tgcaactagt 3480
 tctcatttta aaggaataat tattgaaaaa ttcagtactg acaagaccac aagaggtcag 3540
 aggggaccaa aaagcccctg ggtaggatca agcactcaag agaaaaaatt agttcctgtt 3600
 tataatagac aaattctttc aaaacaacaa aaggagcaac tggaagcaat aggaaaaatg 3660
 aggtgggtgt ataaaggaac tccagggtca agaagattgc tcaataagat ttgcatagga 3720
 agtttaggta ttagctataa atgtgtaaaa cctctattac caagattcat gagtgtaaac 3780
 ttcttacata ggttatctgt tagtagcaga cccatggaat tcccagcttc tgttccagct 3840

tataggacaa caaattacca ctttgacact agtccaatca accaagcatt aagtgagagg 3900
 ttcgggaacg aagacattaa tctagtgttc caaaatgcaa tcagctgcgg aattagtata 3960
 atgagtgttg tagaacagtt aactggtaga agcccaaac aattagtctt aatcccccac 4020
 ttagaagaga tagatattat gcctcctcct gtatttcaag gaaaaattca ttataaacta 4080
 gttgataaaa taacctctga tcaacacatc ttcagtcctg acaaaataga catattaaca 4140
 ctagggaaga tgcttatgcc tactataaaa ggtcaaaaaa ctgatcagtt cttaaataag 4200
 agagaaaact atttccatgg aaataattta attgaatctt tatctgcagc acttgcagtc 4260
 cactggtgtg gaattattaac agaacagtgt gtagaaaaca atatcttttag gaaagactgg 4320

ggtagtgggt tcatatcaga tcatgccttc atggatttca agatatttct atgtgtattt 4380

aaaaccaaac ttttatgtag ttggggatcc caagggaaaa atgtaaaaga tgaagatata 4440
 atagatgaat ccattgacaa attattaaga attgacaaca ctttttggag aatgttcagc 4500
 aaagtcatgt ttgaatcaaa ggtcaaaaaa agaataatgt tatatgatgt aaaattccta 4560
 tcattagtag gttatataagg atttaaaaaac tggtttatag agcagttaag agtagtagaa 4620
 ttgcattgaag tgccttggat tgtcaatgct gaaggggagc tagttgaaat taaaccaatc 4680
 aaaattttatt tgcagttaat agaacaaagt ctatctttta gaataactgt tttgaattat 4740
 acagacatgg cacatgctct tacacgatta attaggaaga aattgatgtg tgataatgca 4800

ctcttcaatc caagttcatc accaatgttt agtctaactc aagttatcga tcctacaaca 4860
 cagctagact attttcttaa ggtgatattt gaaaggttta aaagttatga taccagtcca 4920
 gactacaaca aagggaagtt aacaagaaat tacatgacat tattaccatg gcagcacgta 4980
 aacaggtata attttgtctt tagttcaaca ggatgtaaaa tcagcttgaa gacatgcac 5040
 gggaaattga taaaggactt aaaccttaag gttctttact ttattggaga aggagcaggt 5100
 aactggatgg caagaacagc atgtgagtat cctgacataa aatttgtata taggagtcca 5160
 aaggatgac ttgatcatca ttaccatta gaatatcaaa gggtaatagg tgatttaaat 5220
 agggtaatag atggtgtgta aggactatca atggagacca cagatgaac tcaaaagact 5280

cattgggact taatacacag aataagtaaa gatgctttat tgataacatt gtgtgatgca 5340
 gaattcaaaa acagagatga tttcttttaa atggtaattc tttggagaaa acatgtatta 5400
 tcatgtagaa tctgtacagc ttatggaaca gatctttact tatttgcaaa gtatcatgca 5460
 acggactgca atataaaatt accatTTTT gtaaggtctg tagctacttt tattatgcaa 5520
 ggaagcaaat tgtcaggatc agaatgttac atacttttaa cattaggtca tcacaataat 5580
 ctgccatgcc atggagaaat acaaaattcc aaaatgagaa tagcagtgtg taatgatttc 5640
 catgcctcaa aaaaactaga caacaaatca attgaagcta actgtaaatc tcttctatca 5700
 ggattaagaa taccaataaa caaaaaagag ttaaataagac aaaagaaact gttaacacta 5760

caaagcaatc attcttccat agcaacagtt ggccggcagta agattataga atccaaatgg 5820
 ttaaagaata aagcaagtac aataattgat tggttagagc atatcttgaa tttctcaaaa 5880
 ggtgaattaa actatgattt ctttgaagca ttagagaaca catacccaa tatgatcaag 5940
 cttatagata acctgggaaa tgcagagata aaaaaactaa tcaaagttcc tgggtatatg 6000
 cttgtgagta agaagtaa 6018

<210> 42
 <211> 187
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 42
 Met Ser Arg Lys Ala Pro Cys Lys Tyr Glu Val Arg Gly Lys Cys Asn
 1 5 10 15
 Arg Gly Ser Glu Cys Lys Phe Asn His Asn Tyr Trp Ser Trp Pro Asp
 20 25 30
 Arg Tyr Leu Leu Ile Arg Ser Asn Tyr Leu Leu Asn Gln Leu Leu Arg
 35 40 45
 Asn Thr Asp Arg Ala Asp Gly Leu Ser Ile Ile Ser Gly Ala Gly Arg
 50 55 60
 Glu Asp Arg Thr Gln Asp Phe Val Leu Gly Ser Thr Asn Val Val Gln
 65 70 75 80
 Gly Tyr Ile Asp Asp Asn Gln Ser Ile Thr Lys Ala Ala Ala Cys Tyr
 85 90 95
 Ser Leu His Asn Ile Ile Lys Gln Leu Gln Glu Val Glu Val Arg Gln

100 105 110
Ala Arg Asp Asn Lys Leu Ser Asp Ser Lys His Val Ala Leu His Asn
115 120 125

Leu Val Leu Ser Tyr Met Glu Met Ser Lys Thr Pro Ala Ser Leu Ile
130 135 140
Asn Asn Leu Lys Arg Leu Pro Arg Glu Lys Leu Lys Lys Leu Ala Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ile Asp Leu Ser Ala Gly Ala Glu Asn Asp Ser Ser Tyr Ala
165 170 175
Leu Gln Asp Ser Glu Ser Thr Asn Gln Val Gln
180 185

<210> 43
<211> 187
<212> PRT
<213> human Metapneumo virus

<400> 43
Met Ser Arg Lys Ala Pro Cys Lys Tyr Glu Val Arg Gly Lys Cys Asn
1 5 10 15
Arg Gly Ser Glu Cys Lys Phe Asn His Asn Tyr Trp Ser Trp Pro Asp
20 25 30
Arg Tyr Leu Leu Ile Arg Ser Asn Tyr Leu Leu Asn Gln Leu Leu Arg
35 40 45
Asn Thr Asp Arg Ala Asp Gly Leu Ser Ile Ile Ser Gly Ala Gly Arg
50 55 60

Glu Asp Arg Thr Gln Asp Phe Val Leu Gly Ser Thr Asn Val Val Gln
65 70 75 80
Gly Tyr Ile Asp Asp Asn Gln Ser Ile Thr Lys Ala Ala Ala Cys Tyr
85 90 95
Ser Leu His Asn Ile Ile Lys Gln Leu Gln Glu Val Glu Val Arg Gln
100 105 110
Ala Arg Asp Ser Lys Leu Ser Asp Ser Lys His Val Ala Leu His Asn
115 120 125

Leu Ile Leu Ser Tyr Met Glu Met Ser Lys Thr Pro Ala Ser Leu Ile
130 135 140
Asn Asn Leu Lys Arg Leu Pro Arg Glu Lys Leu Lys Lys Leu Ala Lys
145 150 155 160
Leu Ile Ile Asp Leu Ser Ala Gly Ala Asp Asn Asp Ser Ser Tyr Ala
165 170 175
Leu Gln Asp Ser Glu Ser Thr Asn Gln Val Gln
180 185

<210> 44
<211> 187
<212> PRT
<213> human Metapneumo virus

<400> 44

```

Met Ser Arg Lys Ala Pro Cys Lys Tyr Glu Val Arg Gly Lys Cys Asn
 1           5           10           15
Arg Gly Ser Asp Cys Lys Phe Asn His Asn Tyr Trp Ser Trp Pro Asp
      20           25           30
Arg Tyr Leu Leu Leu Arg Ser Asn Tyr Leu Leu Asn Gln Leu Leu Arg
      35           40           45
Asn Thr Asp Lys Ala Asp Gly Leu Ser Ile Ile Ser Gly Ala Gly Arg
      50           55           60

Glu Asp Arg Thr Gln Asp Phe Val Leu Gly Ser Thr Asn Val Val Gln
65           70           75           80

```

```

Gly Tyr Ile Asp Asp Asn Gln Gly Ile Thr Lys Ala Ala Ala Cys Tyr
      85           90           95
Ser Leu His Asn Ile Ile Lys Gln Leu Gln Glu Thr Glu Val Arg Gln
      100          105          110
Ala Arg Asp Asn Lys Leu Ser Asp Ser Lys His Val Ala Leu His Asn
      115          120          125
Leu Ile Leu Ser Tyr Met Glu Met Ser Lys Thr Pro Ala Ser Leu Ile
      130          135          140

Asn Asn Leu Lys Lys Leu Pro Arg Glu Lys Leu Lys Lys Leu Ala Arg
145          150          155          160
Leu Ile Ile Asp Leu Ser Ala Gly Thr Asp Asn Asp Ser Ser Tyr Ala
      165          170          175
Leu Gln Asp Ser Glu Ser Thr Asn Gln Val Gln
      180          185

```

<210> 45

<211> 187

<212> PRT

<213> human Metapneumo virus

<400> 45

```

Met Ser Arg Lys Ala Pro Cys Lys Tyr Glu Val Arg Gly Lys Cys Asn
 1           5           10           15
Arg Gly Ser Glu Cys Lys Phe Asn His Asn Tyr Trp Ser Trp Pro Asp
      20           25           30
Arg Tyr Leu Leu Leu Arg Ser Asn Tyr Leu Leu Asn Gln Leu Leu Arg
      35           40           45
Asn Thr Asp Lys Ala Asp Gly Leu Ser Ile Ile Ser Gly Ala Gly Arg
      50           55           60

Glu Asp Arg Thr Gln Asp Phe Val Leu Gly Ser Thr Asn Val Val Gln
65           70           75           80
Gly Tyr Ile Asp Asn Asn Gln Gly Ile Thr Lys Ala Ala Ala Cys Tyr
      85           90           95
Ser Leu His Asn Ile Ile Lys Gln Leu Gln Glu Ile Glu Val Arg Gln
      100          105          110
Ala Arg Asp Asn Lys Leu Ser Asp Ser Lys His Val Ala Leu His Asn

```

115					120					125					
Leu	Ile	Leu	Ser	Tyr	Met	Glu	Met	Ser	Lys	Thr	Pro	Ala	Ser	Leu	Ile
130					135					140					
Asn	Asn	Leu	Lys	Lys	Leu	Pro	Arg	Glu	Lys	Leu	Lys	Lys	Leu	Ala	Lys
145					150					155					160
Leu	Ile	Ile	Asp	Leu	Ser	Ala	Gly	Thr	Asp	Asn	Asp	Ser	Ser	Tyr	Ala
165					170					175					
Leu	Gln	Asp	Ser	Glu	Ser	Thr	Asn	Gln	Val	Gln					
180					185										

<210> 46
<211> 564
<212> DNA
<213> human Metapneumo virus

```
<400> 46
atgtctcgca aggctccgtg caaatatgaa gtgcggggca aatgcaatag aggaagttag 60
tgcaagttta accacaatta ctggagttag ccagatagat acttattaat aagatcaaat 120
tatttattaa atcaactttt aaggaacact gatagagctg atggcttatc aataatatca 180
ggagcaggca gagaagatag gacacaagat ttgtctctag gttccacca tgtggttcaa 240
ggttatattg atgataacca aagcataaca aaagctgcag cctgttacag tctacataat 300
ataatcaaac aactacaaga agttgaagtt aggcaggcta gagataacaa actatctgac 360
agcaaacatg tagcacttca caacttagtc ctatcttata tggagatgag caaaactcct 420

gcattcttaa tcaacaatct caagagactg ccgagagaga aactgaaaaa attagcaaa 480
ctcataattg acttatcagc aggtgctgaa aatgactctt catatgcctt gcaagacagt 540
gaaagcacta atcaagtgca gtga                                     564
```

<210> 47
<211> 564
<212> DNA
<213> human Metapneumo virus

<400> 47							
atgtctcgca	aggctccatg	caaatatgaa	gtgcggggca	aatgcaacag	aggaagttag		60
tgtaaagttta	accacaattta	ctggagtttg	ccagatagat	acttattaat	aagatcaaac		120
tatctattaa	atcagctttt	aaggaaact	gatagagctg	atggcctatc	aataatatca		180
ggcgcaggca	gagaagacag	aacgcaagat	tttgttctag	gttccacca	tgtggttcaa		240
ggttatattg	atgataacca	aagcataaca	aaagctgcag	cctgctacag	tctacacaac		300
ataatcaagc	aactacaaga	agttgaagtt	aggcaggcta	gagatagcaa	actatctgac		360
agcaagcatg	tggcactcca	taacttaatc	ttatcttaca	tggagatgag	caaaactccc		420
gcattctftaa	tcaacaatct	taaaagactg	ccgagagaaa	aactgaaaaa	attagcaaa		480
ctgataattg	acttatcagc	aggcgtctgac	aatgactctt	catatgcctt	gcaagacagt		540
gaaagcacta	atcaagtcca	gtga					564

$\langle 210 \rangle$	48
$\langle 211 \rangle$	564
$\langle 212 \rangle$	DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 48

atgtctcgta aggtccatg caaatatgaa gtgcggggca aatgcaacag agggagtgat 60
tgcaaattca atcacaatta ctggagttgg cctgatagat atttattgtt aagatcaa 120
tatctcttaa atcagctttt aagaacaca gataaggctg atggtttgtc aataatatca 180
ggagcaggta gagaagatag aactcaagac ttgtttcttg gtttactaa tgtggttcaa 240
gggtacattg atgacaacca aggaataacc aaggctgcag cttgctatag tctacacaac 300
ataatcaagc aactacaaga aacagaagta agacaggcta gagacaaca gctttctgat 360
agcaaacatg tggcgtcca caacttgata ttatcctata tggagatgag caaaactcct 420

gcattcttaa tcaacaacct aaagaaacta ccaagggaaa aactgaagaa attagcaaga 480
ttaataattg atttatcagc aggaactgac aatgactctt catatgcctt gcaagacagt 540
gaaagcacta atcaagtga gtaa 564

<210> 49

<211> 564

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 49

atgtctcgca aagctccatg caaatatgaa gtacggggca agtgcaacag gggaagtgag 60
tgcaaattca accacaatta ctggagctgg cctgataggt atttattgtt aagatcaa 120
tatctcttga atcagctttt aagaacact gataaggctg atggtttgtc aataatatca 180
ggagcaggta gagaagatag gactcaagac ttgtttcttg gtttactaa tgtggttcaa 240
gggtacattg ataacaatca aggaataaca aaggctgcag cttgctatag tctacataac 300
ataataaac agctacaaga aatagaagta agacaggcta gagataata gctttctgac 360
agcaaacatg tggcacttca caacttgata ttatcctata tggagatgag caaaactcct 420

gcattcctga ttaataacct aaagaaacta ccaagagaaa aactgaagaa attagcgaaa 480
ttaataattg atttatcagc aggaactgat aatgactctt catatgcctt gcaagacagt 540
gaaagcacta atcaagtga gtaa 564

<210> 50

<211> 71

<212> PRT

<213> human Metapneumo virus

<400> 50

Met	Thr	Leu	His	Met	Pro	Cys	Lys	Thr	Val	Lys	Ala	Leu	Ile	Lys	Cys
1				5					10					15	
Ser	Glu	His	Gly	Pro	Val	Phe	Ile	Thr	Ile	Glu	Val	Asp	Asp	Met	Ile
			20					25						30	
Trp	Thr	His	Lys	Asp	Leu	Lys	Glu	Ala	Leu	Ser	Asp	Gly	Ile	Val	Lys
			35				40					45			
Ser	His	Thr	Asn	Ile	Tyr	Asn	Cys	Tyr	Leu	Glu	Asn	Ile	Glu	Ile	Ile
			50				55					60			

Tyr Val Lys Ala Tyr Leu Ser
65 70

<210> 51
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 51
 Met Thr Leu His Met Pro Cys Lys Thr Val Lys Ala Leu Ile Lys Cys
 1 5 10 15
 Ser Glu His Gly Pro Val Phe Ile Thr Ile Glu Val Asp Glu Met Ile
 20 25 30
 Trp Thr Gln Lys Glu Leu Lys Glu Ala Leu Ser Asp Gly Ile Val Lys
 35 40 45
 Ser His Thr Asn Ile Tyr Asn Cys Tyr Leu Glu Asn Ile Glu Ile Ile
 50 55 60
 Tyr Val Lys Ala Tyr Leu Ser
 65 70

<210> 52
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 52
 Met Thr Leu His Met Pro Cys Lys Thr Val Lys Ala Leu Ile Lys Cys
 1 5 10 15
 Ser Lys His Gly Pro Lys Phe Ile Thr Ile Glu Ala Asp Asp Met Ile
 20 25 30
 Trp Thr His Lys Glu Leu Lys Glu Thr Leu Ser Asp Gly Ile Val Lys
 35 40 45
 Ser His Thr Asn Ile Tyr Ser Cys Tyr Leu Glu Asn Ile Glu Ile Ile
 50 55 60
 Tyr Val Lys Thr Tyr Leu Ser
 65 70

<210> 53
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 53
 Met Thr Leu His Met Pro Cys Lys Thr Val Lys Ala Leu Ile Lys Cys
 1 5 10 15

Ser Lys His Gly Pro Lys Phe Ile Thr Ile Glu Ala Asp Asp Met Ile
20 25 30
Trp Thr His Lys Glu Leu Lys Glu Thr Leu Ser Asp Gly Ile Val Lys
35 40 45
Ser His Thr Asn Ile Tyr Ser Cys Tyr Leu Glu Asn Ile Glu Ile Ile
50 55 60
Tyr Val Lys Ala Tyr Leu Ser
65 70

<210> 54
<211> 216
<212> DNA
<213> human Metapneumo virus

<400> 54
atgactcttc atatgccttg caagacagtg aaagcactaa tcaagtcag tgagcatggt 60
ccagttttca ttactataga ggttgatgac atgatatgga ctcaaaagga cttaaaagaa 120
gctttatctg atgggatagt gaagtctcat actaacatit acaattgtta ttagaaaaac 180
atagaaatta tatatgtcaa ggcttactta agttag 216

<210> 55
<211> 216
<212> DNA
<213> human Metapneumo virus

<400> 55
atgactcttc atatgccttg caagacagtg aaagcactaa tcaagtcag tgagcatggt 60
cctgttttca ttactataga ggttgatgaa atgatatgga ctcaaaaaga attaaaagaa 120
gctttgtccg atgggatagt gaagtctcac accaacatit acaattgtta ttagaaaaac 180
atagaaatta tatatgtcaa ggcttactta agttag 216

<210> 56
<211> 216
<212> DNA
<213> human Metapneumo virus

<400> 56
atgactcttc atatgccttg caagacagtg aaagcactaa tcaagtcag taaacatggt 60
cccaaattca ttaccataga ggcagatgat atgatatgga ctcaaaaaga attaaaagaa 120
acactgtctg atgggatagt aaaatcacac accaatatit atagtgtta cttagaaaat 180
atagaaataa tatatgttaa aacttactta agttag 216

<210> 57
<211> 216
<212> DNA
<213> human Metapneumo virus

<400> 57

atgactcttc atatgccttg caagacagtg aaagcactaa tcaagtgcag taagcatggt 60
cccaaattca ttacataga ggcagatgat atgatatgga cacacaaaga attaaaggag 120
acactgtctg atgggatagt aaaatcacac accaatatit acagtgttta tttagaaaat 180
atagaaataa tatatgttaa agcttactta agttag 216

<210> 58

<211> 727

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 58

atgtctcgca aggctccgtg caaatatgaa gtgcggggca aatgcaatag aggaagttag 60
tgcaagttaa accacaatta ctggagttag ccagatagat acttattaat aagatcaaat 120
tatttattaa atcaactttt aaggaacact gatagagctg atggcttata aataatatca 180
ggagcaggca gagaagatag gacacaagat ttgtctctag gttccaccaa tgtggttcaa 240
ggtttatattg atgataacca aagcataaca aaagctgcag cctgttacag tctacataat 300
ataatcaaac aactacaaga agttgaagtt aggcaggcta gagataacaa actatctgac 360
agcaaacatg tagcacttca caacttagtc ctatcttata tggagatgag caaaactcct 420

gcatctttta tcaacaatct caagagactg ccgagagaga aactgaaaaa attagcaaag 480
ctcataattg acttatcagc aggtgctgaa aatgactctt catatgcctt gcaagacagt 540
gaaagcacta atcaagtgcg gtgagcatgg tccagttttc attactatag aggttgatga 600
catgatatgg actcacaagg acttaaaaga agctttatct gatgggatag tgaagtctca 660
tactaacatt tacaattggt atttagaaaa catagaaatt atatatgtca aggccttactt 720
aagtttag 727

<210> 59

<211> 727

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 59

atgtctcgca aggtccatg caaatatgaa gtgcggggca aatgcaacag aggaagttag 60
tgtaagttaa accacaatta ctggagttag ccagatagat acttattaat aagatcaaac 120
tatctattaa atcagctttt aaggaacact gatagagctg atggcctatc aataatatca 180
ggcgaggca gagaagacag aacgcaagat ttgtttctag gttccaccaa tgtggttcaa 240
ggtttatattg atgataacca aagcataaca aaagctgcag cctgtctacag tctacacaac 300
ataatcaagc aactacaaga agttgaagtt aggcaggcta gagatagcaa actatctgac 360
agcaagcatg tggcactcca taacttaatc ttatcttaca tggagatgag caaaactccc 420

gcatctttta tcaacaatct taaaagactg ccgagagaaa aactgaaaaa attagcaaag 480
ctgataattg acttatcagc aggcgctgac aatgactctt catatgcctt gcaagacagt 540
gaaagcacta atcaagtgcg gtgagcatgg tctgtttttc attactatag aggttgatga 600
aatgatatgg actcaaaaag aattaaaaga agctttgtcc gatgggatag tgaagtctca 660
caccaacatt tacaattggt atttagaaaa catagaaatt atatatgtca aggccttactt 720
aagtttag 727

<210> 60

<211> 727

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 60

atgtctcgta aggtccatg caaatatgaa gtgcggggca aatgcaacag agggagtgat 60
tgcaaattca atcacaatta ctggagtgg cctgatagat atttattgtt aagatcaa 120
tatctcttaa atcagctttt aagaacaca gataaggctg atggtttgtc aataatatca 180
ggagcaggta gagaagatag aactcaagac ttgtttcttg gtttactaa tgtggttcaa 240
gggtacattg atgacaacca aggaataacc aaggctgcag cttgctatag tctacacaac 300
ataatcaagc aactacaaga aacagaagta agacaggcta gagacaaca gctttctgat 360
agcaaacatg tggcgctcca caacttgata ttatcctata tggagatgag caaaactcct 420

gcattctctaa tcaacaacct aaagaaacta ccaagggaaa aactgaagaa attagcaaga 480
ttaataattg atttatcagc aggaactgac aatgactctt catatgcctt gcaagacagt 540
gaaagcacta atcaagtga gtaaacatgg tcccaattc attaccatag aggcagatga 600
tatgatattg actcacaag aattaaaaga aacactgtct gatgggatag taaaatcaca 660
caccaatatt tatagtgtt acttagaaaa tatagaaata atatagtta aaacttactt 720
aagttag 727

<210> 61

<211> 727

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 61

atgtctcgca aagctccatg caaatatgaa gtacggggca agtgcaacag gggaagtga 60
tgcaaattca accacaatta ctggagctgg cctgataggt atttattgtt aagatcaa 120
tatctcttga atcagctttt aagaacact gataaggctg atggtttgtc aataatatca 180
ggagcaggta gagaagatag gactcaagac ttgtttcttg gtttactaa tgtggttcaa 240
gggtacattg ataacaatca aggaataaca aaggctgcag cttgctatag tctacataac 300
ataataaac agctacaaga aatagaagta agacaggcta gagataata gctttctgac 360
agcaaacatg tggcacttca caacttgata ttatcctata tggagatgag caaaactcct 420

gcattcctga ttaataacct aaagaaacta ccaagagaaa aactgaagaa attagcgaaa 480
ttaataattg atttatcagc aggaactgat aatgactctt catatgcctt gcaagacagt 540
gaaagcacta atcaagtga gtaagcatgg tcccaattc attaccatag aggcagatga 600
tatgatattg acacacaag aattaaagga gacactgtct gatgggatag taaaatcaca 660
caccaatatt tacagtgtt atttagaaaa tatagaaata atatagtta aagcttactt 720
aagttag 727

<210> 62

<211> 254

<212> PRT

<213> human Metapneumo virus

<400> 62

Met	Glu	Ser	Tyr	Leu	Val	Asp	Thr	Tyr	Gln	Gly	Ile	Pro	Tyr	Thr	Ala
1				5					10					15	
Ala	Val	Gln	Val	Asp	Leu	Ile	Glu	Lys	Asp	Leu	Leu	Pro	Ala	Ser	Leu
				20				25					30		
Thr	Ile	Trp	Phe	Pro	Leu	Phe	Gln	Ala	Asn	Thr	Pro	Pro	Ala	Val	Leu
				35				40					45		

Leu Asp Gln Leu Lys Thr Leu Thr Ile Thr Thr Leu Tyr Ala Ala Ser
50 55 60

Gln Asn Gly Pro Ile Leu Lys Val Asn Ala Ser Ala Gln Gly Ala Ala
65 70 75 80

Met Ser Val Leu Pro Lys Lys Phe Glu Val Asn Ala Thr Val Ala Leu
85 90 95

Asp Glu Tyr Ser Lys Leu Glu Phe Asp Lys Leu Thr Val Cys Glu Val
100 105 110

Lys Thr Val Tyr Leu Thr Thr Met Lys Pro Tyr Gly Met Val Ser Lys
115 120 125

Phe Val Ser Ser Ala Lys Ser Val Gly Lys Lys Thr His Asp Leu Ile
130 135 140

Ala Leu Cys Asp Phe Met Asp Leu Glu Lys Asn Thr Pro Val Thr Ile
145 150 155 160

Pro Ala Phe Ile Lys Ser Val Ser Ile Lys Glu Ser Glu Ser Ala Thr
165 170 175

Val Glu Ala Ala Ile Ser Ser Glu Ala Asp Gln Ala Leu Thr Gln Ala
180 185 190

Lys Ile Ala Pro Tyr Ala Gly Leu Ile Met Ile Met Thr Met Asn Asn
195 200 205

Pro Lys Gly Ile Phe Lys Lys Leu Gly Ala Gly Thr Gln Val Ile Val
210 215 220

Glu Leu Gly Ala Tyr Val Gln Ala Glu Ser Ile Ser Lys Ile Cys Lys
225 230 235 240

Thr Trp Ser His Gln Gly Thr Arg Tyr Val Leu Lys Ser Arg
245 250

<210> 63

<211> 254

<212> PRT

<213> human Metapneumo virus

<400> 63

Met Glu Ser Tyr Leu Val Asp Thr Tyr Gln Gly Ile Pro Tyr Thr Ala
1 5 10 15

Ala Val Gln Val Asp Leu Val Glu Lys Asp Leu Leu Pro Ala Ser Leu
20 25 30

Thr Ile Trp Phe Pro Leu Phe Gln Ala Asn Thr Pro Pro Ala Val Leu
35 40 45

Leu Asp Gln Leu Lys Thr Leu Thr Ile Thr Thr Leu Tyr Ala Ala Ser
50 55 60

Gln Ser Gly Pro Ile Leu Lys Val Asn Ala Ser Ala Gln Gly Ala Ala
65 70 75 80

Met Ser Val Leu Pro Lys Lys Phe Glu Val Asn Ala Thr Val Ala Leu
85 90 95

Asp Glu Tyr Ser Lys Leu Glu Phe Asp Lys Leu Thr Val Cys Glu Val
100 105 110

Lys Thr Val Tyr Leu Thr Thr Met Lys Pro Tyr Gly Met Val Ser Lys
115 120 125

Phe Val Ser Ser Ala Lys Ser Val Gly Lys Lys Thr His Asp Leu Ile
 130 135 140
 Ala Leu Cys Asp Phe Met Asp Leu Glu Lys Asn Thr Pro Val Thr Ile

145 150 155 160
 Pro Ala Phe Ile Lys Ser Val Ser Ile Lys Glu Ser Glu Ser Ala Thr
 165 170 175
 Val Glu Ala Ala Ile Ser Ser Glu Ala Asp Gln Ala Leu Thr Gln Ala
 180 185 190
 Lys Ile Ala Pro Tyr Ala Gly Leu Ile Met Ile Met Thr Met Asn Asn
 195 200 205
 Pro Lys Gly Ile Phe Lys Lys Leu Gly Ala Gly Thr Gln Val Ile Val

210 215 220
 Glu Leu Gly Ala Tyr Val Gln Ala Glu Ser Ile Ser Lys Ile Cys Lys
 225 230 235 240
 Thr Trp Ser His Gln Gly Thr Arg Tyr Val Leu Lys Ser Ser
 245 250

<210> 64
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 64
 Met Glu Ser Tyr Leu Val Asp Thr Tyr Gln Gly Ile Pro Tyr Thr Ala
 1 5 10 15
 Ala Val Gln Val Asp Leu Val Glu Lys Asp Leu Leu Pro Ala Ser Leu
 20 25 30
 Thr Ile Trp Phe Pro Leu Phe Gln Ala Asn Thr Pro Pro Ala Val Leu
 35 40 45
 Leu Asp Gln Leu Lys Thr Leu Thr Ile Thr Thr Leu Tyr Ala Ala Ser
 50 55 60

Gln Asn Gly Pro Ile Leu Lys Val Asn Ala Ser Ala Gln Gly Ala Ala
 65 70 75 80
 Met Ser Val Leu Pro Lys Lys Phe Glu Val Asn Ala Thr Val Ala Leu
 85 90 95
 Asp Glu Tyr Ser Lys Leu Asp Phe Asp Lys Leu Thr Val Cys Asp Val
 100 105 110
 Lys Thr Val Tyr Leu Thr Thr Met Lys Pro Tyr Gly Met Val Ser Lys
 115 120 125

Phe Val Ser Ser Ala Lys Ser Val Gly Lys Lys Thr His Asp Leu Ile
 130 135 140
 Ala Leu Cys Asp Phe Met Asp Leu Glu Lys Asn Ile Pro Val Thr Ile
 145 150 155 160
 Pro Ala Phe Ile Lys Ser Val Ser Ile Lys Glu Ser Glu Ser Ala Thr
 165 170 175
 Val Glu Ala Ala Ile Ser Ser Glu Ala Asp Gln Ala Leu Thr Gln Ala
 180 185 190

Lys Ile Ala Pro Tyr Ala Gly Leu Ile Met Ile Met Thr Met Asn Asn
195 200 205
Pro Lys Gly Ile Phe Lys Lys Leu Gly Ala Gly Thr Gln Val Ile Val
210 215 220
Glu Leu Gly Ala Tyr Val Gln Ala Glu Ser Ile Ser Arg Ile Cys Lys
225 230 235 240
Ser Trp Ser His Gln Gly Thr Arg Tyr Val Leu Lys Ser Arg
245 250

<210> 65
<211> 254
<212> PRT
<213> human Metapneumo virus

<400> 65
Met Glu Ser Tyr Leu Val Asp Thr Tyr Gln Gly Ile Pro Tyr Thr Ala
1 5 10 15
Ala Val Gln Val Asp Leu Val Glu Lys Asp Leu Leu Pro Ala Ser Leu
20 25 30
Thr Ile Trp Phe Pro Leu Phe Gln Ala Asn Thr Pro Pro Ala Val Leu
35 40 45
Leu Asp Gln Leu Lys Thr Leu Thr Ile Thr Thr Leu Tyr Ala Ala Ser
50 55 60

Gln Asn Gly Pro Ile Leu Lys Val Asn Ala Ser Ala Gln Gly Ala Ala
65 70 75 80
Met Ser Val Leu Pro Lys Lys Phe Glu Val Asn Ala Thr Val Ala Leu
85 90 95
Asp Glu Tyr Ser Lys Leu Asp Phe Asp Lys Leu Thr Val Cys Asp Val
100 105 110
Lys Thr Val Tyr Leu Thr Thr Met Lys Pro Tyr Gly Met Val Ser Lys
115 120 125

Phe Val Ser Ser Ala Lys Ser Val Gly Lys Lys Thr His Asp Leu Ile
130 135 140
Ala Leu Cys Asp Phe Met Asp Leu Glu Lys Asn Ile Pro Val Thr Ile
145 150 155 160
Pro Ala Phe Ile Lys Ser Val Ser Ile Lys Glu Ser Glu Ser Ala Thr
165 170 175
Val Glu Ala Ala Ile Ser Ser Glu Ala Asp Gln Ala Leu Thr Gln Ala
180 185 190

Lys Ile Ala Pro Tyr Ala Gly Leu Ile Met Ile Met Thr Met Asn Asn
195 200 205
Pro Lys Gly Ile Phe Lys Lys Leu Gly Ala Gly Thr Gln Val Ile Val
210 215 220
Glu Leu Gly Ala Tyr Val Gln Ala Glu Ser Ile Ser Arg Ile Cys Lys
225 230 235 240
Ser Trp Ser His Gln Gly Thr Arg Tyr Val Leu Lys Ser Arg
245 250

<210> 66

<211> 765
 <212> DNA
 <213> human Metapneumo virus

<400> 66
 atggagtcct acctagtaga cacctatcaa ggcattcctt acacagcagc tgttcaagtt 60
 gatctaataag aaaaggacct gttacctgca agcctaacaa tatggttccc ttgttttcag 120
 gccaacacac caccagcagt gctgctcgat cagctaaaaa ccttgacaat aaccactctg 180
 tatgctgcat cacaaaaatgg tccaatactc aaagtgaatg catcagccca aggtgcagca 240
 atgtctgtac ttcccaaaaa atttgaagtc aatgcgactg tagcactcga tgaatatagc 300
 aaactggaat ttgacaaact cacagtctgt gaagtaaaaa cagtttactt aacaaccatg 360
 aaaccatacg ggatgggtatc aaaatttgtg agctcagcca aatcagttgg caaaaaaaca 420

 catgatctaa tcgcactatg tgattttatg gatctagaaa agaacacacc tgttacaata 480
 ccagcattca tcaaatcagt ttcaatcaaa gagagtgagt cagctactgt tgaagctgct 540
 ataagcagtg aagcagacca agctctaaca caggccaaaa ttgcacctta tgcgggatta 600
 attatgatca tgactatgaa caatcccaaa ggcatattca aaaagcttgg agctgggact 660
 caagtcatag tagaactagg agcatatgtc caggctgaaa gcataagcaa aatatgcaag 720
 acttggagcc atcaagggac aagatatgtc ttgaagtcca gataa 765

<210> 67
 <211> 765
 <212> DNA
 <213> human Metapneumo virus

<400> 67
 atggagtcct atctggtaga cacttatcaa ggcattccctt acacagcagc tgttcaagtt 60
 gatctagtag aaaaggacct gttacctgca agcctaacaa tatggttccc ctgttttcag 120
 gccaatacac caccagcagt tctgcttgat cagctaaaga ctctgactat aactactctg 180
 tatgctgcat cacaaagtgg tccaatacta aaagtgaatg catcagccca ggggtgcagca 240
 atgtctgtac ttcccaaaaa gtttgaagtc aatgcgactg tagcacttga cgaatatagc 300
 aaattagaat ttgacaaact tacagtctgt gaagtaaaaa cagtttactt aacaaccatg 360
 aaaccatag ggatgggtatc aaagtittgtg agctcggcca aatcagttgg caaaaaaaca 420

 catgatctaa tcgcattatg tgattttatg gatctagaaa agaacacacc agttacaata 480
 ccagcattta tcaaatcagt ttctatcaag gagagtgaat cagccactgt tgaagctgca 540
 ataagcagtg aagcagacca agctctaaca caagccaaaa ttgcacctta tgcgggactg 600
 atcatgatta tgaccatgaa caatcccaaa ggcatattca agaagcttgg agctgggacc 660
 caagttatag tagaactagg agcatatgtc caggctgaaa gcataagtaa aatatgcaag 720
 acttggagcc atcaaggaac aagatatgtg ctgaagtcca gttaa 765

<210> 68
 <211> 765
 <212> DNA
 <213> human Metapneumo virus

<400> 68
 atggagtcct atctagtaga cacttatcaa ggcattccat atacagctgc tgttcaagtt 60
 gacctggtag aaaaagattt actgccagca agtttgacaa tatggtttcc ttattttcag 120
 gccaacacac caccagcagt tctgcttgat cagctaaaaa ccttgacaat aacaactctg 180
 tatgctgcat cacagaatgg tccaatactc aaggtaaatg catctgccca aggtgctgcc 240
 atgtctgtac ttcccaaaaa attcgaggta aatgcaactg tagcacttga tgaatacagt 300

aaacttgatt ttgacaagct gacggtctgc gatgttaaaa cagtttattt gacaactatg 360
 aaaccgtacg ggatggtgtc aaaatttgtg agttcagcca aatcagttgg caaaaagaca 420

catgatctaa ttgactatg tgacttcatg gacctagaga aaaatatacc tgtgacaata 480
 ccagcattca taaagtcagt ttcaatcaaa gagagtgaat cagccactgt tgaagctgca 540
 ataagcagcg aagccgacca agccttgaca caagccaaga ttgcgccta tgcaggacta 600
 attatgatca tgaccatgaa caatccaaaa ggtatatcca agaaactagg ggctggaaca 660
 caagtgatag tagagctggg ggcatatgtt caggctgaga gcatcagtag gatctgcaag 720
 agctggagtc accaaggaac aagatagta ctaaaatcca gataa 765

<210> 69
 <211> 765
 <212> DNA
 <213> human Metapneumo virus

<400> 69
 atggagtcct atctagtga cacttatcaa ggcatccct acacagctgc tgttcaagtt 60
 gatctggtag aaaaagactt actaccagca agtttgacaa tatggtttcc tctattccaa 120
 gccaacacac caccagcggg tttgctcgat cagctaaaaa ccttgactat aacaactctg 180
 tatgtctgat cacagaatgg tccaatactc aaagtaaatg catcagctca gggtgctgct 240
 atgtctgtac ttcccaaaaa attcgaagta aatgcaactg tggcacttga tgaatacagc 300
 aaacttgact ttgacaagtt aacggtttgc gatgttaaaa cagtttattt gacaaccatg 360
 aagccatatg ggatggtgtc aaaatttgtg agttcagcca aatcagttgg caaaaagaca 420

catgatctaa ttgactgtg tgacttcatg gacctagaga aaaatatacc tgtgacaata 480
 ccagcattca taaagtcagt ttcaatcaaa gagagtgaat cagccactgt tgaagctgca 540
 ataagcagtg aggccgacca agcattaaca caagccaaaa ttgcacccta tgcaggacta 600
 atcatgatca tgaccatgaa caatccaaaa ggtatatcca agaaactagg agctggaaca 660
 caagtgatag tagagctagg ggcatatgtt caagccgaga gcatcagcag gatctgcaag 720
 agctggagtc accaaggaac aagatatgta ctaaaatcca gataa 765

<210> 70
 <211> 394
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 70
 Met Ser Leu Gln Gly Ile His Leu Ser Asp Leu Ser Tyr Lys His Ala
 1 5 10 15
 Ile Leu Lys Glu Ser Gln Tyr Thr Ile Lys Arg Asp Val Gly Thr Thr
 20 25 30

Thr Ala Val Thr Pro Ser Ser Leu Gln Gln Glu Ile Thr Leu Leu Cys
 35 40 45
 Gly Glu Ile Leu Tyr Ala Lys His Ala Asp Tyr Lys Tyr Ala Ala Glu
 50 55 60
 Ile Gly Ile Gln Tyr Ile Ser Thr Ala Leu Gly Ser Glu Arg Val Gln
 65 70 75 80
 Gln Ile Leu Arg Asn Ser Gly Ser Glu Val Gln Val Val Leu Thr Arg
 85 90 95

Thr Tyr Ser Leu Gly Lys Ile Lys Asn Asn Lys Gly Glu Asp Leu Gln
 100 105 110
 Met Leu Asp Ile His Gly Val Glu Lys Ser Trp Val Glu Glu Ile Asp
 115 120 125
 Lys Glu Ala Arg Lys Thr Met Ala Thr Leu Leu Lys Glu Ser Ser Gly
 130 135 140
 Asn Ile Pro Gln Asn Gln Arg Pro Ser Ala Pro Asp Thr Pro Ile Ile
 145 150 155 160

Leu Leu Cys Val Gly Ala Leu Ile Phe Thr Lys Leu Ala Ser Thr Ile
 165 170 175
 Glu Val Gly Leu Glu Thr Thr Val Arg Arg Ala Asn Arg Val Leu Ser
 180 185 190
 Asp Ala Leu Lys Arg Tyr Pro Arg Met Asp Ile Pro Lys Ile Ala Arg
 195 200 205
 Ser Phe Tyr Asp Leu Phe Glu Gln Lys Val Tyr His Arg Ser Leu Phe
 210 215 220

Ile Glu Tyr Gly Lys Ala Leu Gly Ser Ser Ser Thr Gly Ser Lys Ala
 225 230 235 240
 Glu Ser Leu Phe Val Asn Ile Phe Met Gln Ala Tyr Gly Ala Gly Gln
 245 250 255
 Thr Met Leu Arg Trp Gly Val Ile Ala Arg Ser Ser Asn Asn Ile Met
 260 265 270
 Leu Gly His Val Ser Val Gln Ala Glu Leu Lys Gln Val Thr Glu Val

275 280 285
 Tyr Asp Leu Val Arg Glu Met Gly Pro Glu Ser Gly Leu Leu His Leu
 290 295 300
 Arg Gln Ser Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ser Leu Ala Asn Cys Pro Asn
 305 310 315 320
 Phe Ala Ser Val Val Leu Gly Asn Ala Ser Gly Leu Gly Ile Ile Gly
 325 330 335
 Met Tyr Arg Gly Arg Val Pro Asn Thr Glu Leu Phe Ser Ala Ala Glu

340 345 350
 Ser Tyr Ala Lys Ser Leu Lys Glu Ser Asn Lys Ile Asn Phe Ser Ser
 355 360 365
 Leu Gly Leu Thr Asp Glu Glu Lys Glu Ala Ala Glu His Phe Leu Asn

370 375 380
 Val Ser Asp Asp Ser Gln Asn Asp Tyr Glu
 385 390

<210> 71
 <211> 394
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 71
 Met Ser Leu Gln Gly Ile His Leu Ser Asp Leu Ser Tyr Lys His Ala
 1 5 10 15

Ile Leu Lys Glu Ser Gln Tyr Thr Ile Lys Arg Asp Val Gly Thr Thr
 20 25 30
 Thr Ala Val Thr Pro Ser Ser Leu Gln Gln Glu Ile Thr Leu Leu Cys
 35 40 45
 Gly Glu Ile Leu Tyr Ala Lys His Ala Asp Tyr Lys Tyr Ala Ala Glu
 50 55 60

 Ile Gly Ile Gln Tyr Ile Ser Thr Ala Leu Gly Ser Glu Arg Val Gln
 65 70 75 80
 Gln Ile Leu Arg Asn Ser Gly Ser Glu Val Gln Val Val Leu Thr Arg
 85 90 95
 Thr Tyr Ser Leu Gly Lys Val Lys Asn Asn Lys Gly Glu Asp Leu Gln
 100 105 110
 Met Leu Asp Ile His Gly Val Glu Lys Ser Trp Val Glu Glu Ile Asp
 115 120 125

 Lys Glu Ala Arg Lys Thr Met Ala Thr Leu Leu Lys Glu Ser Ser Gly
 130 135 140
 Asn Ile Pro Gln Asn Gln Arg Pro Ser Ala Pro Asp Thr Pro Ile Ile
 145 150 155 160
 Leu Leu Cys Val Gly Ala Leu Ile Phe Thr Lys Leu Ala Ser Thr Ile
 165 170 175
 Glu Val Gly Leu Glu Thr Thr Val Arg Arg Ala Asn Arg Val Leu Ser
 180 185 190

 Asp Ala Leu Lys Arg Tyr Pro Arg Met Asp Ile Pro Lys Ile Ala Arg
 195 200 205
 Ser Phe Tyr Asp Leu Phe Glu Gln Lys Val Tyr Tyr Arg Ser Leu Phe
 210 215 220
 Ile Glu Tyr Gly Lys Ala Leu Gly Ser Ser Ser Thr Gly Ser Lys Ala
 225 230 235 240
 Glu Ser Leu Phe Val Asn Ile Phe Met Gln Ala Tyr Gly Ala Gly Gln
 245 250 255

 Thr Met Leu Arg Trp Gly Val Ile Ala Arg Ser Ser Asn Asn Ile Met
 260 265 270
 Leu Gly His Val Ser Val Gln Ala Glu Leu Lys Gln Val Thr Glu Val
 275 280 285
 Tyr Asp Leu Val Arg Glu Met Gly Pro Glu Ser Gly Leu Leu His Leu
 290 295 300
 Arg Gln Ser Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ser Leu Ala Asn Cys Pro Asn
 305 310 315 320

 Phe Ala Ser Val Val Leu Gly Asn Ala Ser Gly Leu Gly Ile Ile Gly
 325 330 335
 Met Tyr Arg Gly Arg Val Pro Asn Thr Glu Leu Phe Ser Ala Ala Glu
 340 345 350
 Ser Tyr Ala Lys Ser Leu Lys Glu Ser Asn Lys Ile Asn Phe Ser Ser
 355 360 365
 Leu Gly Leu Thr Asp Glu Glu Lys Glu Ala Ala Glu His Phe Leu Asn
 370 375 380

 Val Ser Asp Asp Ser Gln Asn Asp Tyr Glu
 385 390

<210> 72
 <211> 394
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 72

```
Met Ser Leu Gln Gly Ile His Leu Ser Asp Leu Ser Tyr Lys His Ala
 1          5          10          15
Ile Leu Lys Glu Ser Gln Tyr Thr Ile Lys Arg Asp Val Gly Thr Thr
 20          25          30
Thr Ala Val Thr Pro Ser Ser Leu Gln Gln Glu Ile Thr Leu Leu Cys
 35          40          45
Gly Glu Ile Leu Tyr Thr Lys His Thr Asp Tyr Lys Tyr Ala Ala Glu
 50          55          60

Ile Gly Ile Gln Tyr Ile Cys Thr Ala Leu Gly Ser Glu Arg Val Gln
 65          70          75          80
```

```
Gln Ile Leu Arg Asn Ser Gly Ser Glu Val Gln Val Val Leu Thr Lys
 85          90          95
Thr Tyr Ser Leu Gly Lys Gly Lys Asn Ser Lys Gly Glu Glu Leu Gln
100          105          110
Met Leu Asp Ile His Gly Val Glu Lys Ser Trp Ile Glu Glu Ile Asp
115          120          125
Lys Glu Ala Arg Lys Thr Met Val Thr Leu Leu Lys Glu Ser Ser Gly
130          135          140

Asn Ile Pro Gln Asn Gln Arg Pro Ser Ala Pro Asp Thr Pro Ile Ile
145          150          155          160
```

```
Leu Leu Cys Val Gly Ala Leu Ile Phe Thr Lys Leu Ala Ser Thr Ile
165          170          175
Glu Val Gly Leu Glu Thr Thr Val Arg Arg Ala Asn Arg Val Leu Ser
180          185          190
Asp Ala Leu Lys Arg Tyr Pro Arg Ile Asp Ile Pro Lys Ile Ala Arg
195          200          205
Ser Phe Tyr Glu Leu Phe Glu Gln Lys Val Tyr Tyr Arg Ser Leu Phe
210          215          220
```

```
Ile Glu Tyr Gly Lys Ala Leu Gly Ser Ser Ser Thr Gly Ser Lys Ala
225          230          235          240
Glu Ser Leu Phe Val Asn Ile Phe Met Gln Ala Tyr Gly Ala Gly Gln
245          250          255
Thr Leu Leu Arg Trp Gly Val Ile Ala Arg Ser Ser Asn Asn Ile Met
260          265          270
Leu Gly His Val Ser Val Gln Ser Glu Leu Lys Gln Val Thr Glu Val
275          280          285
```

```
Tyr Asp Leu Val Arg Glu Met Gly Pro Glu Ser Gly Leu Leu His Leu
290          295          300
Arg Gln Ser Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ser Leu Ala Asn Cys Pro Asn
305          310          315          320
Phe Ala Ser Val Val Leu Gly Asn Ala Ser Gly Leu Gly Ile Ile Gly
325          330          335
```

Met Tyr Arg Gly Arg Val Pro Asn Thr Glu Leu Phe Ser Ala Ala Glu
340 345 350

Ser Tyr Ala Arg Ser Leu Lys Glu Ser Asn Lys Ile Asn Phe Ser Ser
355 360 365

Leu Gly Leu Thr Asp Glu Glu Lys Glu Ala Ala Glu His Phe Leu Asn
370 375 380

Met Ser Gly Asp Asn Gln Asn Asp Tyr Glu
385 390

<210> 73

<211> 394

<212> PRT

<213> human Metapneumo virus

<400> 73

Met Ser Leu Gln Gly Ile His Leu Ser Asp Leu Ser Tyr Lys His Ala
1 5 10 15
Ile Leu Lys Glu Ser Gln Tyr Thr Ile Lys Arg Asp Val Gly Thr Thr
20 25 30
Thr Ala Val Thr Pro Ser Ser Leu Gln Gln Glu Ile Thr Leu Leu Cys
35 40 45
Gly Glu Ile Leu Tyr Thr Lys His Thr Asp Tyr Lys Tyr Ala Ala Glu
50 55 60

Ile Gly Ile Gln Tyr Ile Cys Thr Ala Leu Gly Ser Glu Arg Val Gln
65 70 75 80
Gln Ile Leu Arg Asn Ser Gly Ser Glu Val Gln Val Val Leu Thr Lys
85 90 95
Thr Tyr Ser Leu Gly Lys Gly Lys Asn Ser Lys Gly Glu Glu Leu Gln
100 105 110
Met Leu Asp Ile His Gly Val Glu Lys Ser Trp Val Glu Glu Ile Asp
115 120 125

Lys Glu Ala Arg Lys Thr Met Val Thr Leu Leu Lys Glu Ser Ser Gly
130 135 140
Asn Ile Pro Gln Asn Gln Arg Pro Ser Ala Pro Asp Thr Pro Ile Ile
145 150 155 160
Leu Leu Cys Val Gly Ala Leu Ile Phe Thr Lys Leu Ala Ser Thr Ile
165 170 175
Glu Val Gly Leu Glu Thr Thr Val Arg Arg Ala Asn Arg Val Leu Ser
180 185 190

Asp Ala Leu Lys Arg Tyr Pro Arg Val Asp Ile Pro Lys Ile Ala Arg
195 200 205
Ser Phe Tyr Glu Leu Phe Glu Gln Lys Val Tyr Tyr Arg Ser Leu Phe
210 215 220
Ile Glu Tyr Gly Lys Ala Leu Gly Ser Ser Ser Thr Gly Ser Lys Ala
225 230 235 240
Glu Ser Leu Phe Val Asn Ile Phe Met Gln Ala Tyr Gly Ala Gly Gln
245 250 255

Thr Met Leu Arg Trp Gly Val Ile Ala Arg Ser Ser Asn Asn Ile Met
260 265 270

Leu Gly His Val Ser Val Gln Ala Glu Leu Lys Gln Val Thr Glu Val
 275 280 285
 Tyr Asp Leu Val Arg Glu Met Gly Pro Glu Ser Gly Leu Leu His Leu
 290 295 300
 Arg Gln Ser Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ser Leu Ala Asn Cys Pro Asn
 305 310 315 320

Phe Ala Ser Val Val Leu Gly Asn Ala Ser Gly Leu Gly Ile Ile Gly
 325 330 335
 Met Tyr Arg Gly Arg Val Pro Asn Thr Glu Leu Phe Ser Ala Ala Glu
 340 345 350
 Ser Tyr Ala Arg Ser Leu Lys Glu Ser Asn Lys Ile Asn Phe Ser Ser
 355 360 365
 Leu Gly Leu Thr Asp Glu Glu Lys Glu Ala Ala Glu His Phe Leu Asn
 370 375 380

Met Ser Asp Asp Asn Gln Asp Asp Tyr Glu
 385 390

<210> 74
 <211> 1185
 <212> DNA
 <213> human Metapneumo virus

<400> 74
 atgtctcttc aagggtattca cctgagtgat ttatcataca agcatgctat attaaaagag 60
 tctcagtaca caataaaaag agatgtgggt acaacaactg cagtgcacacc ctcattcattg 120
 caacaagaaa taacactgtt gtgtggagaa attctgtatg ctaaacatgc tgactacaaa 180
 tatgtctgcag aaataggaat acaatatatt agcacagctt taggatcaga gagagtgcag 240
 cagattctga ggaactcagg cagtgaagtc caagtggctt taaccagaac gtactctctg 300
 gggaaaatta aaaaacaataa aggagaagat ttacagatgt tagacataca cggggtagag 360
 aagagctggg tagaagagat agacaaagaa gcaaggaaaa caatggcaac cttgcttaag 420
 gaatcatcag gtaatatccc acaaaatcag aggccctcag caccagacac acccataatc 480
 ttattatgtg taggtgcctt aatattcact aaactagcat caaccataga agtgggacta 540
 gagaccacag tcagaagggc taaccgtgta ctaagtgatg cactcaagag ataccctaga 600
 atggacatac caaagattgc cagatccttc tatgacttat ttgaacaaaa agtgtatcac 660
 agaagtttgt tcattgagta tggcaaagca ttaggctcat catctacagg cagcaaagca 720
 gaaagtctat ttgttaatat attcatgcaa gcttatgggg ccggtcaaac aatgctaagg 780
 tggggggtca ttgccaggtc atccaacaat ataatgttag gacatgtatc cgtccaagct 840
 gagttaaacc aggtcacaga agtctatgac ttggtgcgag aaatgggccc tgaatctgga 900
 cttctacatt taaggcaaaag cccaaaagct ggactgttat cactagccaa ctgtcccaac 960
 ttgtcaagtg ttgttctcgg aaatgcctca ggcttaggca taatcggtat gtatcgaggg 1020
 agagtaccaa acacagaatt attttcagca gctgaaagtt atgccaaaag ttgaaagaa 1080
 agcaataaaa taaatttctc ttcattagga cttacagatg aagagaaaag ggctgcagaa 1140
 ctttcttaa atgtgagtga cgacagtcaa aatgattatg agtaa 1185

<210> 75
 <211> 1185
 <212> DNA
 <213> human Metapneumo virus

<400> 75

atgtctcttc aagggtattca cctgagtgat ctatcatata agcatgctat attaaaagag 60
tctcagtata caataaagag agatgttaggc acaacaaccg cagtacacac ctcatcattg 120
caacaagaaa taacactatt gtgtggagaa attctatatg ctaagcatgc tgattacaaa 180
tatgctgcag aaataggaat acaatatatt agcacagctc taggatcaga gagagtacag 240
cagattctaa gaaactcagg tagtgaagtc caagtggttt taaccagaac gtactccttg 300
gggaaagtta aaaacaacaa aggagaagat ttacagatgt tagacataca cggagtagag 360
aaaagctggg tggaagagat agacaaagaa gcaagaaaaa caatggcaac ttigtcttaa 420

gaatcatcag gcaatatcc acaaaatcag aggccttcag caccagacac acccataatc 480
ttattatgtg taggtgcctt aatatattacc aaactagcat caactataga agtgggatta 540
gagaccacag tcagaagagc taacctgtga ctaagtgatg cactcaaaag ataccctagg 600
atggacatac caaaaatcgc tagatctttc tatgacttat ttgaacaaaa agtgtattac 660
agaagtttgt tcattgagta tggcaagca ttaggctcat cctctacagg cagcaaaagca 720
gaaagtttat tcgttaatat attcatgcaa gcttacgggtg ctgggtcaaac aatgctgagg 780
tggggagtca ttgccaggtc atctaacaat ataagttag gacatgtatc tgttcaagct 840
gagttaaaac aagtcacaga agtctatgac ctgggtcgag aaatgggccc tgaatctggg 900

ctcctacatt taaggcaag cccaaaagct ggactgttat cactagccaa ttgtcccaac 960

tttgctagtg ttgttctcgg caatgcctca ggcttaggca taataggtat gtatcgcggg 1020
agagtgccaa acacagaact attttcagca gcagaaagct atgccaaagag ttgaaagaa 1080
agcaataaaa ttaacttttc ttcattagga ctacagatg aagaaaaaga ggctgcagaa 1140
catttcctaa atgtgagtga cgacagtcaa aatgattatg agtaa 1185

<210> 76

<211> 1185

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 76

atgtctcttc aagggtattca cctaagtgat ctatcatata aacatgctat attaaaagag 60
tctcaataca caataaaaag agatgttaggc accacaactg cagtacacac ttcatcatta 120
caacaagaaa taacactttt gtgtggggaa atactttaca ctaaacacac tgattacaaa 180
tatgctgctg agataggaat acaatatatt tgcacagctc taggatcaga aagagtacaa 240
cagattttga gaaactcagg tagtgaagtt cagggtggtc taacacaaac atactcctta 300
gggaaaggca aaaacagtta aggggaagag ctgcagatgt tagatataca tggagtggaa 360
aagagttgga tagaagaaat agacaaagag gcaagaaaga caatggtaac ttigtcttaag 420

gaatcatcag gtaacatccc acaaaaccag agaccttcag caccagacac accaataatt 480
ttattatgtg taggtgccct aatatcact aaactagcat caacaataga agttggatta 540
gagactacag ttagaagagc taatagagtg ctaagtgatg cactcaaaag ataccaagg 600
atagatatac caaagattgc tagatctttt tatgaactat ttgaacaaaa agtgtactac 660
agaagtttat tcattgagta cggaagagct ttaggctcat cttcaacagg aagcaaaagca 720
gaaagtttgt ttgtaaatat atttatgcaa gcttatggag ctggccaaac actgctaagg 780
tggggtgtca ttgccagatc atccaacaac ataagtctag ggcatgtatc tgtgcaatct 840
gaattgaagc aagttacaga ggtttatgac ttggtgagag aaatgggtcc tgaatctggg 900

cttttacatc taagacaaag tccaaaggca gggctgttat cattggccaa ttgcccatt 960
tttgctagtg ttgttcttgg caatgcctca ggtctaggca taatcggaat gtacagaggg 1020
agagtacaa acacagagct attttctgca gcagaaagtt atgccagaag cttaaaagaa 1080
agcaataaaa tcaacttctc ttctgttaggg cttacagatg aagaaaaaga agctgcagaa 1140

cacttcttaa acatgagtgg tgacaatcaa aatgattatg agtaa 1185

<210> 77

<211> 1185

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 77

```

atgtctcttc aagggtattca cctaagtgat ctgtcatata aacatgctat attaaaagag 60
tctcaataca caataaaaag agatgtaggc accacaactg cagtgcacacc ttcattcattg 120
cagcaagaga taacactttt gtgtggagag attctttaca ctaaacatac tgattacaaa 180
tatgtctcag agatagggat acaatatatt tgcacagctc taggatcaga aagagtacaa 240
cagattttta gaaattcagg tagtgagggt caggtgggtc taaccaagac atactcttta 300
gggaaaggta aaaatagtaa aggggaagag ttgcaaatgt tagatataca tggagtggaa 360
aagagttggg tagaagaaat agacaagag gcaagaaaaa caatgggtgac ttigtctaaag 420

gaatcatcag gcaacatccc acaaaaccag aggccttcag caccagacac accaataatt 480
ttattgtgtg taggtgcttt aatattcact aaactagcat caacaataga agttggacta 540
gagactacag ttagaagggc taacagagtg ttaagtgatg cgctcaaaag ataccctagg 600
gtagatatac caagattgc tagatctttt tatgaactat ttgagcagaa agtgtattac 660
aggagtctat tcattgagta tgggaaagct ttaggctcat cttcaacagg aagcaaagca 720
gaaagtttgt ttgtaaatat atttatgcaa gcttatggag cgggtcagac aatgctaagg 780
tggggtgtca ttgccagatc atctaacaac ataatgctag ggcatgtatc tgtgcaagct 840
gaattgaaac aagttacaga ggtttatgat ttggttaagag aaatgggtcc tgaatctggg 900

cttttacatc taagacaaag tccaaaggca ggactgttat cgttggctaa ttgcccctaat 960
ttigtctagt ttgttcttgg taatgcttca ggtctaggta taatcggaat gtacagggga 1020
agagtgccaa acacagagct attttctgca gcagaaagtt atgccagaag cttaaaagaa 1080
agcaacaaaa tcaacttctc ctcatagggt ctcacagacg aagaaaaaga agctgcagaa 1140
cacttcttaa acatgagtga tgacaatcaa gatgattatg agtaa 1185

```

<210> 78

<211> 294

<212> PRT

<213> human Metapneumo virus

<400> 78

```

Met Ser Phe Pro Glu Gly Lys Asp Ile Leu Phe Met Gly Asn Glu Ala
 1           5           10          15
Ala Lys Leu Ala Glu Ala Phe Gln Lys Ser Leu Arg Lys Pro Gly His
      20           25           30
Lys Arg Ser Gln Ser Ile Ile Gly Glu Lys Val Asn Thr Val Ser Glu
      35           40           45
Thr Leu Glu Leu Pro Thr Ile Ser Arg Pro Ala Lys Pro Thr Ile Pro
      50           55           60

Ser Glu Pro Lys Leu Ala Trp Thr Asp Lys Gly Gly Ala Thr Lys Thr
65           70           75           80
Glu Ile Lys Gln Ala Ile Lys Val Met Asp Pro Ile Glu Glu Glu Glu
      85           90           95
Ser Thr Glu Lys Lys Val Leu Pro Ser Ser Asp Gly Lys Thr Pro Ala

```

100 105 110
 Glu Lys Lys Leu Lys Pro Ser Thr Asn Thr Lys Lys Lys Val Ser Phe
 115 120 125

Thr Pro Asn Glu Pro Gly Lys Tyr Thr Lys Leu Glu Lys Asp Ala Leu
 130 135 140
 Asp Leu Leu Ser Asp Asn Glu Glu Glu Asp Ala Glu Ser Ser Ile Leu
 145 150 155 160
 Thr Phe Glu Glu Arg Asp Thr Ser Ser Leu Ser Ile Glu Ala Arg Leu
 165 170 175
 Glu Ser Ile Glu Glu Lys Leu Ser Met Ile Leu Gly Leu Leu Arg Thr
 180 185 190

Leu Asn Ile Ala Thr Ala Gly Pro Thr Ala Ala Arg Asp Gly Ile Arg
 195 200 205
 Asp Ala Met Ile Gly Val Arg Glu Glu Leu Ile Ala Asp Ile Ile Lys
 210 215 220
 Glu Ala Lys Gly Lys Ala Ala Glu Met Met Glu Glu Glu Met Ser Gln
 225 230 235 240
 Arg Ser Lys Ile Gly Asn Gly Ser Val Lys Leu Thr Glu Lys Ala Lys
 245 250 255

Glu Leu Asn Lys Ile Val Glu Asp Glu Ser Thr Ser Gly Glu Ser Glu
 260 265 270
 Glu Glu Glu Glu Pro Lys Asp Thr Gln Asp Asn Ser Gln Glu Asp Asp
 275 280 285
 Ile Tyr Gln Leu Ile Met
 290

<210> 79
 <211> 294
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 79
 Met Ser Phe Pro Glu Gly Lys Asp Ile Leu Phe Met Gly Asn Glu Ala
 1 5 10 15
 Ala Lys Leu Ala Glu Ala Phe Gln Lys Ser Leu Arg Lys Pro Asn His
 20 25 30
 Lys Arg Ser Gln Ser Ile Ile Gly Glu Lys Val Asn Thr Val Ser Glu
 35 40 45
 Thr Leu Glu Leu Pro Thr Ile Ser Arg Pro Thr Lys Pro Thr Ile Leu
 50 55 60
 Ser Glu Pro Lys Leu Ala Trp Thr Asp Lys Gly Gly Ala Ile Lys Thr
 65 70 75 80
 Glu Ala Lys Gln Thr Ile Lys Val Met Asp Pro Ile Glu Glu Glu Glu
 85 90 95
 Phe Thr Glu Lys Arg Val Leu Pro Ser Ser Asp Gly Lys Thr Pro Ala
 100 105 110
 Glu Lys Lys Leu Lys Pro Ser Thr Asn Thr Lys Lys Lys Val Ser Phe
 115 120 125

Thr Pro Asn Glu Pro Gly Lys Tyr Thr Lys Leu Glu Lys Asp Ala Leu

130 135 140
 Asp Leu Leu Ser Asp Asn Glu Glu Glu Asp Ala Glu Ser Ser Ile Leu
 145 150 155 160
 Thr Phe Glu Glu Arg Asp Thr Ser Ser Leu Ser Ile Glu Ala Arg Leu
 165 170 175
 Glu Ser Ile Glu Glu Lys Leu Ser Met Ile Leu Gly Leu Leu Arg Thr
 180 185 190

Leu Asn Ile Ala Thr Ala Gly Pro Thr Ala Ala Arg Asp Gly Ile Arg
 195 200 205
 Asp Ala Met Ile Gly Ile Arg Glu Glu Leu Ile Ala Asp Ile Ile Lys
 210 215 220
 Glu Ala Lys Gly Lys Ala Ala Glu Met Met Glu Glu Glu Met Asn Gln
 225 230 235 240
 Arg Thr Lys Ile Gly Asn Gly Ser Val Lys Leu Thr Glu Lys Ala Lys
 245 250 255

Glu Leu Asn Lys Ile Val Glu Asp Glu Ser Thr Ser Gly Glu Ser Glu
 260 265 270
 Glu Glu Glu Glu Pro Lys Asp Thr Gln Glu Asn Asn Gln Glu Asp Asp
 275 280 285
 Ile Tyr Gln Leu Ile Met
 290

<210> 80
 <211> 294
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 80
 Met Ser Phe Pro Glu Gly Lys Asp Ile Leu Phe Met Gly Asn Glu Ala
 1 5 10 15
 Ala Lys Ile Ala Glu Ala Phe Gln Lys Ser Leu Lys Lys Ser Gly His
 20 25 30
 Lys Arg Thr Gln Ser Ile Val Gly Glu Lys Val Asn Thr Ile Ser Glu
 35 40 45
 Thr Leu Glu Leu Pro Thr Ile Ser Lys Pro Ala Arg Ser Ser Thr Leu
 50 55 60

Leu Glu Pro Lys Leu Ala Trp Ala Asp Asn Ser Gly Ile Thr Lys Ile
 65 70 75 80
 Thr Glu Lys Pro Ala Thr Lys Thr Thr Asp Pro Val Glu Glu Glu Glu
 85 90 95
 Phe Asn Glu Lys Lys Val Leu Pro Ser Ser Asp Gly Lys Thr Pro Ala
 100 105 110
 Glu Lys Lys Ser Lys Phe Ser Thr Ser Val Lys Lys Lys Val Ser Phe
 115 120 125

Thr Ser Asn Glu Pro Gly Lys Tyr Thr Lys Leu Glu Lys Asp Ala Leu
 130 135 140
 Asp Leu Leu Ser Asp Asn Glu Glu Glu Asp Ala Glu Ser Ser Ile Leu
 145 150 155 160
 Thr Phe Glu Glu Lys Asp Thr Ser Ser Leu Ser Ile Glu Ala Arg Leu
 165 170 175

Glu Ser Ile Glu Glu Lys Leu Ser Met Ile Leu Gly Leu Leu Arg Thr
180 185 190

Leu Asn Ile Ala Thr Ala Gly Pro Thr Ala Ala Arg Asp Gly Ile Arg
195 200 205
Asp Ala Met Ile Gly Ile Arg Glu Glu Leu Ile Ala Glu Ile Ile Lys
210 215 220
Glu Ala Lys Gly Lys Ala Ala Glu Met Met Glu Glu Glu Met Asn Gln
225 230 235 240
Arg Ser Lys Ile Gly Asn Gly Ser Val Lys Leu Thr Glu Lys Ala Lys
245 250 255

Glu Leu Asn Lys Ile Val Glu Asp Glu Ser Thr Ser Gly Glu Ser Glu
260 265 270
Glu Glu Glu Glu Pro Lys Glu Thr Gln Asp Asn Asn Gln Gly Glu Asp
275 280 285
Ile Tyr Gln Leu Ile Met
290

<210> 81

<211> 294

<212> PRT

<213> human Metapneumo virus

<400> 81

Met Ser Phe Pro Glu Gly Lys Asp Ile Leu Phe Met Gly Asn Glu Ala
1 5 10 15
Ala Lys Ile Ala Glu Ala Phe Gln Lys Ser Leu Lys Arg Ser Gly His
20 25 30
Lys Arg Thr Gln Ser Ile Val Gly Glu Lys Val Asn Thr Ile Ser Glu
35 40 45
Thr Leu Glu Leu Pro Thr Ile Ser Lys Pro Ala Arg Ser Ser Thr Leu
50 55 60

Leu Glu Pro Lys Leu Ala Trp Ala Asp Ser Ser Gly Ala Thr Lys Thr
65 70 75 80
Thr Glu Lys Gln Thr Lys Thr Thr Asp Pro Val Glu Glu Glu Glu
85 90 95
Leu Asn Glu Lys Lys Val Ser Pro Ser Ser Asp Gly Lys Thr Pro Ala
100 105 110
Glu Lys Lys Ser Lys Ser Pro Thr Asn Val Lys Lys Lys Val Ser Phe
115 120 125

Thr Ser Asn Glu Pro Gly Lys Tyr Thr Lys Leu Glu Lys Asp Ala Leu
130 135 140
Asp Leu Leu Ser Asp Asn Glu Glu Glu Asp Ala Glu Ser Ser Ile Leu
145 150 155 160
Thr Phe Glu Glu Arg Asp Thr Ser Ser Leu Ser Ile Glu Ala Arg Leu
165 170 175
Glu Ser Ile Glu Glu Lys Leu Ser Met Ile Leu Gly Leu Leu Arg Thr
180 185 190

Leu Asn Ile Ala Thr Ala Gly Pro Thr Ala Ala Arg Asp Gly Ile Arg
195 200 205
Asp Ala Met Ile Gly Ile Arg Glu Glu Leu Ile Ala Glu Ile Ile Lys
210 215 220
Glu Ala Lys Gly Lys Ala Ala Glu Met Met Glu Glu Glu Met Asn Gln
225 230 235 240
Arg Ser Lys Ile Gly Asn Gly Ser Val Lys Leu Thr Glu Lys Ala Lys
245 250 255

Glu Leu Asn Lys Ile Val Glu Asp Glu Ser Thr Ser Gly Glu Ser Glu
260 265 270

Glu Glu Glu Glu Pro Lys Glu Thr Gln Asp Asn Asn Gln Gly Glu Asp
275 280 285
Ile Tyr Gln Leu Ile Met
290

<210> 82
<211> 885
<212> DNA
<213> human Metapneumo virus

<400> 82
atgtcattcc ctgaaggaaa agatattctt ttcattgggta atgaagcagc aaaattagca 60
gaagctttcc agaaatcatt aagaaaacca ggtcataaaa gatctcaatc tattatagga 120
gaaaaagtga atactgtatc agaaacattg gaattaccta ctatcagtag acctgcaaaa 180
ccaaccatac cgtcagaacc aaagttagca tggacagata aaggtggggc aacaaaaact 240
gaaataaagc aagcaatcaa agtcatggat cccattgaag aagaagagtc taccgagaag 300
aaggtgctac cctccagtga tgggaaaacc cctgcagaaa agaaactgaa accatcaact 360
aacaccaaaa agaaggtttc atttacacca aatgaaccag ggaaatatac aaagttggaa 420

aaagatgctc tagatttgct ctacagataat gaagaagaag atgcagaatc ttcaatctta 480
acctttgaag aaagagatac ttcattcatta agcattgagg ccagattgga atcaatagag 540
gagaaattaa gcatgatatt agggctatta agaacactca acattgtctac agcaggaccc 600
acagcagcaa gagatgggat cagagatgca atgattggcg taagagagga attaatagca 660
gacataataa aggaagctaa agggaaagca gcagaaatga tggaaagagga aatgagtcaa 720
cgatcaaaaa taggaaatgg tagtgtaaaa ttaacagaaa aagcaaaaaga gctcaacaaa 780
attgttgaag atgaaagcac aagtggagaa tccgaagaag aagaagaacc aaaagacaca 840
caagacaata gtcaagaaga tgacatttac cagttaatta ttagtag 885

<210> 83
<211> 885
<212> DNA
<213> human Metapneumo virus

<400> 83
atgtcattcc ctgaaggaaa agatattctt ttcattgggta atgaagcagc aaaattggca 60
gaagcttttc aaaaatcatt aagaaaacct aatcataaaa gatctcaatc tattatagga 120
gaaaaagtga aactgtatc tgaacattg gaattaccta ctatcagtag acctacaaa 180
ccgaccatat tgcagagcc gaagttagca tggacagaca aaggtggggc aatcaaaaact 240
gaagcaaagc aaacaatcaa agttatggat cctattgaag aagaagagtt tactgagaaa 300

```

agggtgctgc cctccagtga tgggaaaact cctgcagaaa agaagttgaa accatcaacc 360
aacactaaaa agaaggtctc atttacacca aatgaaccag gaaaatacac aaagttggag 420

aaagatgctc tagacttgct ttcagacaat gaagaagaag atgcagaatc ctcaatctta 480
accttcgaag aaagagatac ttcattcatta agcattgaag ccagactaga atcgattgag 540
gagaaattaa gcatgatatt agggctatta agaactca acattgctac agcaggaccc 600
acagcagcaa gagatgggat cagagatgca atgattggca taaggaggga actaatagca 660
gacataataa aagaagccaa gggaaaagca gcagaaatga tggaagaaga aatgaaccag 720
cggacaaaaa taggaaacgg tagtgtaaaa ttaactgaaa aggcaaagga gctcaacaaa 780
attgttgaag acgaaagcac aagtgggtgaa tccgaagaag aagaagaacc aaaagacaca 840
caggaaaata atcaagaaga tgacatttac cagttaatta tgtag 885

```

<210> 84

<211> 885

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 84

```

atgtcattcc ctgaaggaaa ggatattctg ttcattgggt atgaagcagc aaaaatagcc 60
gaagctttcc agaaatcact gaaaaaatca ggtcacaaga gaactcaatc tattgtaggg 120
gaaaaagtta acactatata agaaactcta gaactaccta ccatcagcaa acctgcacga 180
tcattctacac tgctggaacc aaaattggca tgggcagaca acagcggaat caccaaaatc 240
acagaaaaac cagcaaccaa aacaacagat cctgttgaag aagaggaatt caatgaaaag 300
aaagtgttac cttccagtga tgggaagact cctgcagaga aaaaatcaaa gttttcaacc 360
agtgtaaaaa agaaagtttc ctttcatca aatgaaccag ggaaatacac caaactagag 420

aaagatgccc tagatttgct ctccagacaat gaggaagaag acgcagaatc ctcaatccta 480
acttttgagg agaaagatac atcatcacta agcattgaag ctagactaga atctatagaa 540
gagaagttag gcatgatatt aggactgctt cgtacactta acattgcaac agcaggacca 600
acagctgcac gagatggaat tagggatgca atgattggta taagagaaga gctaatagca 660
gagataatta aggaagccaa gggaaaagca gctgaaatga tggaagaaga gatgaatcaa 720
agatcaaaaa taggaaatgg cagtgtaaaa ctaaccgaga aggcaaaaga gctcaacaaa 780
attgttgaag acgagagcac aagcgggtgaa tcagaagaag aagaagaacc aaaagaaact 840
caggataaca atcaaggaga agatatttat cagttaatca tgtag 885

```

<210> 85

<211> 885

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 85

```

atgtcattcc ctgaaggaaa agatatcctg ttcattgggt atgaagcagc aaaaatagca 60
gaagctttcc agaaatcact aaaaagatca ggtcacaaaa gaaccagtc tattgtaggg 120
gaaaaagtaa acactatata agaaactcta gagctaccta ccatcagcaa acctgcacga 180
tcattctacac tgctagagcc aaaattggca tgggcagaca gcagcggagc caccaaaacc 240
acagaaaaac aaacaaccaa aacaacagat cctgttgaag aagaggaact caatgaaaag 300
aaggatatcac cttccagtga tgggaagact cctgcagaga aaaaatcaaa atctccaacc 360
aatgtaaaaa agaaagtttc cttcacatca aatgaaccag ggaaatatac taaactagaa 420

aaagatgccc tagatttgct ctccagacaat gaggaagaag acgcagagtc ctcaatccta 480
acctttgaag agagagacac atcatcacta agcattgagg ctagactaga atcaatagaa 540
gagaagctaa gcatgatatt aggactgctt cgtacactta acattgcaac agcaggacca 600
acggctgcaa gggatggaat cagagatgca atgattggta taagagaaga actaatagca 660
gaaataataa aagaagcaaa gggaaaagca gccgaaatga tggaagagga aatgaatcaa 720

```

agggtcaaaaa taggtaatgg cagtgtaaaa ctaaccgaga aggcaaaaga acttaataaa 780
 attgttgaag acgagagcac aagtgggtgaa tcagaagaag aagaagaacc aaaagaaact 840
 caggataaca atcaaggaga agatatctac cagttaatca tgtag 885

<210> 86
 <211> 183
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 86
 Met Ile Thr Leu Asp Val Ile Lys Ser Asp Gly Ser Ser Lys Thr Cys
 1 5 10 15
 Thr His Leu Lys Lys Ile Ile Lys Asp His Ser Gly Lys Val Leu Ile
 20 25 30
 Val Leu Lys Leu Ile Leu Ala Leu Leu Thr Phe Leu Thr Val Thr Ile
 35 40 45
 Thr Ile Asn Tyr Ile Lys Val Glu Asn Asn Leu Gln Ile Cys Gln Ser
 50 55 60
 Lys Thr Glu Ser Asp Lys Lys Asp Ser Ser Ser Asn Thr Thr Ser Val
 65 70 75 80
 Thr Thr Lys Thr Thr Leu Asn His Asp Ile Thr Gln Tyr Phe Lys Ser
 85 90 95
 Leu Ile Gln Arg Tyr Thr Asn Ser Ala Ile Asn Ser Asp Thr Cys Trp
 100 105 110
 Lys Ile Asn Arg Asn Gln Cys Thr Asn Ile Thr Thr Tyr Lys Phe Leu
 115 120 125
 Cys Phe Lys Ser Glu Asp Thr Lys Thr Asn Asn Cys Asp Lys Leu Thr
 130 135 140
 Asp Leu Cys Arg Asn Lys Pro Lys Pro Ala Val Gly Val Tyr His Ile
 145 150 155 160
 Val Glu Cys His Cys Ile Tyr Thr Val Lys Trp Lys Cys Tyr His Tyr
 165 170 175
 Pro Thr Asp Glu Thr Gln Ser
 180

<210> 87
 <211> 179
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 87
 Met Ile Thr Leu Asp Val Ile Lys Ser Asp Gly Ser Ser Lys Thr Cys
 1 5 10 15
 Thr His Leu Lys Lys Ile Ile Lys Asp His Ser Gly Lys Val Leu Ile
 20 25 30
 Ala Leu Lys Leu Ile Leu Ala Leu Leu Thr Phe Phe Thr Ile Thr Ile
 35 40 45
 Thr Ile Asn Tyr Ile Lys Val Glu Asn Asn Leu Gln Ile Cys Gln Ser
 50 55 60

Lys Thr Glu Ser Asp Lys Glu Asp Ser Pro Ser Asn Thr Thr Ser Val
65 70 75 80
Thr Thr Lys Thr Thr Leu Asp His Asp Ile Thr Gln Tyr Phe Lys Arg
85 90 95
Leu Ile Gln Arg Tyr Thr Asp Ser Val Ile Asn Lys Asp Thr Cys Trp
100 105 110
Lys Ile Ser Arg Asn Gln Cys Thr Asn Ile Thr Thr Tyr Lys Phe Leu
115 120 125

Cys Phe Lys Pro Glu Asp Ser Lys Ile Asn Ser Cys Asp Arg Leu Thr
130 135 140
Asp Leu Cys Arg Asn Lys Ser Lys Ser Ala Ala Glu Ala Tyr His Thr
145 150 155 160
Val Glu Cys His Cys Ile Tyr Thr Ile Glu Trp Lys Cys Tyr His His
165 170 175
Pro Ile Asp

<210> 88
<211> 177
<212> PRT
<213> human Metapneumo virus

<400> 88
Met Lys Thr Leu Asp Val Ile Lys Ser Asp Gly Ser Ser Glu Thr Cys
1 5 10 15
Asn Gln Leu Lys Lys Ile Ile Lys Lys His Ser Gly Lys Val Leu Ile
20 25 30
Ala Leu Lys Leu Ile Leu Ala Leu Leu Thr Phe Phe Thr Ala Thr Ile
35 40 45
Thr Val Asn Tyr Ile Lys Val Glu Asn Asn Leu Gln Ala Cys Gln Pro
50 55 60

Lys Asn Glu Ser Asp Lys Lys Val Thr Lys Pro Asn Thr Thr Ser Thr
65 70 75 80
Thr Ile Arg Pro Thr Pro Asp Pro Thr Val Val His His Leu Lys Arg
85 90 95
Leu Ile Gln Arg His Thr Asn Ser Val Thr Lys Asp Ser Asp Thr Cys
100 105 110
Trp Arg Ile His Lys Asn Gln Arg Thr Asn Ile Lys Ile Tyr Lys Phe
115 120 125

Leu Cys Ser Gly Phe Thr Asn Ser Lys Gly Thr Asp Cys Glu Glu Pro
130 135 140
Thr Ala Leu Cys Asp Lys Lys Leu Lys Thr Ile Val Glu Lys His Arg
145 150 155 160
Lys Ala Glu Cys His Cys Leu His Thr Thr Glu Trp Gly Cys Leu His
165 170 175
Pro

<210> 89

<211> 177
 <212> PRT
 <213> human Metapneumo virus

<400> 89
 Met Lys Thr Leu Asp Val Ile Lys Ser Asp Gly Ser Ser Glu Thr Cys
 1 5 10 15
 Asn Gln Leu Lys Lys Ile Ile Lys Lys His Ser Gly Lys Leu Leu Ile
 20 25 30
 Ala Leu Lys Leu Ile Leu Ala Leu Leu Thr Phe Phe Thr Val Thr Ile
 35 40 45
 Thr Val Asn Tyr Ile Lys Val Glu Asn Asn Leu Gln Ala Cys Gln Leu
 50 55 60
 Lys Asn Glu Ser Asp Lys Lys Asp Thr Lys Leu Asn Thr Thr Ser Thr
 65 70 75 80
 Thr Ile Arg Pro Ile Pro Asp Leu Asn Ala Val Gln Tyr Leu Lys Arg
 85 90 95
 Leu Ile Gln Lys His Thr Asn Phe Val Ile Lys Asp Arg Asp Thr Cys
 100 105 110
 Trp Arg Ile His Thr Asn Gln Cys Thr Asn Ile Lys Ile Tyr Lys Phe
 115 120 125
 Leu Cys Phe Gly Phe Met Asn Ser Thr Asn Thr Asp Cys Glu Glu Leu
 130 135 140
 Thr Val Leu Cys Asp Lys Lys Ser Lys Thr Met Thr Glu Lys His Arg
 145 150 155 160
 Lys Ala Glu Cys His Cys Leu His Thr Thr Glu Trp Trp Cys Tyr Tyr
 165 170 175
 Leu

<210> 90
 <211> 552
 <212> DNA
 <213> human Metapneumo virus

<400> 90
 atgataacat tagatgtcat taaaagtgat gggtcttcaa aaacatgtac tcacctcaaa 60
 aaaataatta aagaccactc tggtaaagtg cttattgtac ttaagttaat attagcttta 120
 ctaacatttc tcacagtaac aatcaccatc aattatataa aagtggaaaa caatctgcaa 180
 atatgccagt caaaaactga atcagacaaa aaggactcat catcaaatac cacatcagtc 240
 acaaccaaga ctactctaaa tcatgatatc acacagtatt ttaaaagttt gattcaaagg 300
 tatacaaact ctgcaataaa cagtgcacac tgctggaaaa taaacagaaa tcaatgcaca 360
 aatataacaa catacaaatt tttatgtttt aaatctgaag acacaaaaac caacaattgt 420
 gataaactga cagatttatg cagaacaaaa caaaaccag cagttggagt gtatcacata 480
 gtagaatgcc attgtatata cacagttaaa tggaagtgtc atcattaccc aaccgatgaa 540
 acccaatcct aa 552

<210> 91
 <211> 540

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 91

atgataacat tagatgtcat taaaagtgat gggctcttcaa aaacatgtac tcacctcaaa 60
 aaaataatca aagaccattc tggtaaagtg cttattgcac ttaagttaat attagcttta 120
 ctaacatttt tcacaataac aatcactata aattacataa aagtagaaaa caatctacaa 180
 atatgccagt caaaaactga atcagacaaa gaagactcac catcaaatac cacatccgtc 240
 acaaccaaga ctactctaga ccatgatata acacagtatt ttaaaagatt aattcaaagg 300
 tatacagatt ctgtgataaa caaggacaca tgcctggaaaa taagcagaaa tcaatgcaca 360
 aatataacaa catataaatt tttatgcttt aaacctgagg actcaaaaat caacagtgtg 420

gatagactga cagatctatg cagaaacaaa tcaaaatcag cagctgaagc atatcataca 480
 gtagaatgcc attgcatata cacaattgag tggaagtgtc atcaccaccc aatagattaa 540

<210> 92

<211> 534

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 92

atgaaaacat tagatgtcat aaaaagtgat ggatcctcag aaacgtgtaa tcaactcaaa 60
 aaaataataa aaaaacactc aggtaaagtg cttattgcac taaaactgat attggcctta 120
 ctgacatttt tcacagcaac aatcactgtc aactatataa aagtagaaaa caatttgcag 180
 gcatgtcaac caaaaaatga atcagacaaa aagggtcaca agccaaatac cacatcaaca 240
 acaatcagac ccacaccga tccaactgtg gtacatcatt tgaaaaggct gattcagaga 300
 cacaccaact ctgtcacaaa agacagcgat acttgttggg gaatacaca gaatacaact 360
 acaaatataa aaatatacaa gttcttatgc tctgggttca caaattcaaa aggtacagat 420

tgtgaggaac caacagccct atgcgacaaa aagttaaaaa ccatagtaga aaaacataga 480
 aaagcagaat gtcactgtct acatacaacc gagtgggggt gccttcatcc ctaa 534

<210> 93

<211> 534

<212> DNA

<213> human Metapneumo virus

<400> 93

atgaaaacat tagatgtcat aaaaagtgat ggatcctcag aaacatgtaa tcaactcaaa 60
 aaaataataa aaaaacactc aggtaaattg cttattgcac taaaactgat attggcctta 120
 ttgacgtttt tcacagtaac aattactgtt aactatataa aagtagaaaa caatttgcag 180
 gcatgtcaat taaaaaatga atcagacaaa aaggacacaa agctaatac cacatcaaca 240
 acaatcagac ccattctcga tctaaatgca gtacagtact tgaaaaggct gattcagaaa 300
 cacaccaact ttgtcataaa agacagagat acctgttggg gaatacacac gaatacaatg 360
 acaaatataa aaatataataa gttcttatgt ttcgggttta tgaattcaac aaatacagac 420

tgtgaagaac taacagtttt atgtgataaa aagtcaaaaa ccatgacaga aaaacatagg 480
 aaagcagagt gtcactgtct acatacaacc gagtgggtgtt gttattatct ttaa 534

<210> 94
 <211> 13294
 <212> DNA
 <213> human metapneumo virus

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (0)...(0)
 <223> human MPV protein

<400> 94
 acgcgaaaaa aacgcgtata aattaaattc caaacaaaac gggacaaata aaaatgtctc 60
 ttcaagggat tcacctaagt gatctatcat ataaacatgc tatattaaaa gagtctcaat 120
 acacaataaa aagagatgta ggcaccacaa ctgcagtgc accttcatca ttacaacaag 180
 aaataacact ttgtgtggg gaaatacttt acactaaaca cactgattac aaatatgctg 240
 ctgagatagg aatacaatat atttgcacag ctctaggatc agaaagagta caacagattt 300
 tgagaaactc aggtagttaa gttcagggtg ttctaacca aacatactcc ttagggaaag 360
 gcaaaaacag taaaggggaa gagctgcaga tgtagatat acatggagtg gaaaagagtt 420

 ggatagaaga aatagacaaa gaggcaagaa agacaatggt aactttgctt aaggaatcat 480
 caggtaacat cccacaaaac cagagacctt cagcaccaga cacaccaata attttattat 540
 gtgtagggtc cctaataatt actaaactag catcaacaat agaagttgga ttagagacta 600
 cagttagaag agctaataga gtgctaagt atgcactcaa aagatacca aggatagata 660
 tacciaagat tgctagatct ttttatgaac tatttgaaca aaaagtgtac tacagaagtt 720
 tattcattga gtacgaaaa gctttaggct catcttcaac aggaagcaaa gcagaaagtt 780
 tgtttgtaaa tatatttatg caagcttatg gagctggcca aacactgcta aggtgggggtg 840
 tcattgccag atcatccaac aacataatgc tagggcatgt atctgtgcaa tctgaattga 900

 agcaagttac agaggtttat gacttgggtga gagaaatggg tcctgaatct gggcttttac 960
 atctaagaca aagtccaaag gcagggtgtg tatcattggc caattgcccc aattttgcta 1020
 gtgttgttct tggcaatgct tcaggtctag gcataatcgg aatgtacaga gggagagtac 1080
 caaacacaga gctattttct gcagcagaaa gttatgccag aagcttaaaa gaaagcaata 1140
 aaatcaactt ctcttcgtta gggcttacag atgaagaaaa agaagctgca gaacacttct 1200
 taaacatgag tggtagacaat caagatgatt atgagtaatt aaaaaactgg gacaagtcaa 1260
 aatgtcattc cctgaaggaa aggatattct gttcatgggt aatgaagcag caaaaatagc 1320
 cgaagctttc cagaaatcac tgaaaaaatc aggtcacaaag agaactcaat ctattgtagg 1380

 ggaaaaagtt aacactatat cagaaactct agaactacct accatcagca aacctgcacg 1440
 atcatctaca ctgctggaac caaaattggc atgggcagac aacagcggaa tcaccaaaat 1500
 cacagaaaaa ccagcaacca aaacaacaga tcctgttgaa gaagaggaat tcaatgaaaa 1560
 gaaagtgtta ccttccagt atgggaagac tcctgcagag aaaaaatcaa agttttcaac 1620
 cagtgtaaaa aagaaagttt cctttacatc aaatgaacca gggaaataca ccaaactaga 1680
 gaaagatgcc ctagatttgc tctcagacaa tgaggaagaa gacgcagaat cctcaatcct 1740
 aacttttgag gagaaagata catcatcact aagcattgaa gctagactag aatctataga 1800
 agagaagttg agcatgatat taggactgct tcgtacactt aacattgcaa cagcaggacc 1860

 aacagctgca cgagatggaa ttagggatgc aatgattggt ataagagaag agctaatagc 1920
 agagataaatt aaggaagcca agggaaaagc agctgaaatg atggaagaag agatgaatca 1980
 aagatcaaaa ataggaaatg gcagtgtaaa actaaccgag aaggcaaaag agctcaacaa 2040
 aattgttgaa gacgagagca caagcgggtga atcagaagaa gaagaagaac caaaagaaac 2100
 tcaggataac aatcaaggag aagatattta tcagttaatc atgtagttaa ataaaaataa 2160
 acaatgggac aagtcaagat ggagtcctat ctagtagaca cttatcaagg cattccatat 2220
 acagctgctg ttcaagtga cctggtagaa aaagatttac tgccagcaag ttgacaata 2280

tggtttcctt tatttcaggc caacacacca ccagcagttc tgcttgatca gctaaaaacc 2340
 ctgacaataa ccactctgta tgctgcatca cagaatggtc caatactcaa ggtaaatgca 2400
 tctgcccag gtgctgcat gtctgtactt cccaaaaat tcgaggtaaa tgcaactgta 2460
 gcacttgatg aatacagtaa acttgatttt gacaagctga cggctcgcga tgttaaaaca 2520
 gtttatttga caactatgaa accgtacggg atgggtgcaa aatttgtgag ttcagccaaa 2580
 tcagttggca aaaagacaca tgatctaatt gcactatgtg acttcattgga cctagagaaa 2640
 aatatacctg tgacaatacc agcattcata aagttagttt caatcaaaga gagtgaatca 2700
 gccactgttg aagctgcaat aagcagcgaa gccgaccaag ccttgacaca agccaagatt 2760
 gcgcctatg caggactaat tatgatcatg accatgaaca atccaaaagg tatattcaag 2820
 aaactagggg ctggaacaca agtgatagta gagctggggg cataatgttca ggctgagagc 2880
 atcagtagga tctgcaagag ctggagtcac caaggaacaa gatacgtact aaaatccaga 2940
 taaaaataac tgtcttaatc aataattgct tatataactc tagagattaa taagcttatt 3000
 attatagtta tataaaaaa aattagaatt agaagggcac caatagaaag cgggacaaa 3060
 aaaaatgtct tggaaagtga tgatcatcat ttcgttactc ataacacccc agcacgggct 3120
 aaaggagagt tatttggag aatcatgtag tactataact gagggatacc tcagtgtttt 3180
 aagaacagcg tggtacacta atgtcttcac attagaagtt ggtgatgttg aaaatcttac 3240
 atgtactgat ggacctagct taatcaaac agaacttgat ctaacaaaaa gtgctttaag 3300
 ggaactcaaa acagtctctg ctgatcagtt ggcgagagag gagcaaattg aaaatcccag 3360
 acaatcaaga ttgtcttag gtgcgtagc tctcgagtt gctacagcag cagcagtcac 3420
 agcaggcatt gcaatagcca aaaccataag gcttgagagt gaggtgaatg caattaaagg 3480
 tgcctcaaaa caaactaatg aagcagatc cacattaggg aatgggtgtc gggtcctagc 3540
 cactgcagtg agagagctaa aagaatttgi gagcaaaaac ctgactagtg caatcaacag 3600
 gaacaaatgt gacattgctg atctgaagat ggctgtcagc ttcagtcaat tcaacagaag 3660
 atttctaatt gttgtcggc agttttcaga caatgcaggg ataacaccag caatatcatt 3720
 ggacctgatg actgatgctg agttggccag agctgtatca tacatgcaa catctgcagg 3780
 gcagataaaa ctgatgttg agaaccgcgc aatggtaagg agaaaaggat ttggaatcct 3840
 gataggggtc tacggaagct ctgtgattta catggttcaa ttgccgatct ttggtgtcat 3900
 agatacacct tgttgatca tcaaggcagc tcctcttgc tcagaaaaaa acgggaatta 3960
 tgcttgctc ctaagagagg atcaagggtg gtattgtaaa aatgcaggat ctactgttta 4020
 ctacccaat gaaaaagact gcgaacaac aggtgatcat gtttttttg acacagcagc 4080
 agggatcaat gttgctgagc aatcaagaga atgcaacatc aacatatcta ctaccaacta 4140
 cccatgcaaa gtcagcacag gaagacacc tataagcatg gttgcactat cacctctcgg 4200
 tgctttggtg gcttgctata aaggggtaag ctgctcgatt ggagcaatt gggttggat 4260
 catcaaaaaa ttacccaaag gctgctcata cataaccaac caggatgcag aactgtaac 4320
 aattgacaat accgtgtatc aactaagcaa agttgaagg gaacagcatg taataaaagg 4380
 gagaccagtt tcaagcagtt ttgatccaat caagtctcct gaggatcagt tcaatgttc 4440
 gcttgatcaa gtcttcgaaa gcattgagaa cagtcaggca ctagtggacc agtcaacaa 4500
 aattctaacc agtcagaaa aaggaaacac tggtttcatt atcgtagtta ttttggttc 4560
 tgttcttgg ctaacctga tttcagttag catcatcatc ataataaga aaacaaggaa 4620
 gccacagga gcacctccag agctgaatgg tgtaccaac ggcggtttca taccatag 4680
 ttagttaatt aaaaaatggg acaaatcatc atgtctcgta aggtccatg caaatatgaa 4740
 gtgcggggca aatgcaacag agggagtgtg tgcaaatca atcacaatta ctggagtgg 4800
 cctgatagat atttattgtt aagatcaaat tatctcttaa atcagctttt aagaaacaca 4860
 gataaggctg atggtttgtc aataatatca ggagcaggta gagaagatag aactcaagac 4920
 tttgttcttg gttctactaa tgtggttcaa gggtagattg atgacaacca aggaataacc 4980
 aaggctgcag ctgtctatag tctacacaac ataatacagc aactacaaga aacagaagta 5040
 agacaggcta gagacaacaa gctttctgat agcaaacatg tggcgtcca caacttgata 5100
 ttatctata tggagatgag caaaactcct gcatctctaa tcaacaacct aaagaaacta 5160
 ccaagggaaa aactgaagaa attagcaaga ttaataattg attatcagc aggaactgac 5220
 aatgactctt catatgcctt gcaagacagt gaaagcacta atcaagtga gtaaacatgg 5280

tcccaaatc attaccatag aggcagatga tatgatatgg actcacaaag aattaaaaga 5340
aacactgtct gatgggatag taaaatcaca caccaatatt tatagtgtt acttagaaaa 5400
tatagaaata atatatgta aaacttactt aagttagtaa aaaataaaaa tagaatggga 5460
taaatgacaa tgaaaacatt agatgtcata aaaagtgatg gatcctcaga aacgtgtaat 5520
caactcaaaa aaataataaa aaaacactca ggtaaagtgc ttattgcact aaaactgata 5580
ttggccttac tgacattttt cacagcaaca atcactgtca actatataaa agtagaaaac 5640
aatttgcagg catgtcaacc aaaaaatgaa tcagacaaaa aggtcacaaa gccaaatacc 5700

acatcaacaa caatcagacc cacacccgat ccaactgtag tacatcattt gaaaaggctg 5760
attcagagac acaccaactc tgtcacaaaa gacagcgata cttgttggag aatacacaag 5820
aatcaacgta caaatataaa aatatacaag ttcttatgct ctgggttcac aaattcaaaa 5880
ggtacagatt gtgaggaacc aacagcccta tgcgacaaaa agttaaaaac catagtagaa 5940
aaacatagaa aagcagaatg tcaactgtcta catacaaccg agtgggggtg ccttcacccc 6000
taaaataaca cggctttcaa cattaaaatc agaacaacct ccaccaggt ctatcaatac 6060
agtggtttag ccatttaaaa accgaatatt atctaggctg cagcagactt tgcaataata 6120
tgcaatagtc aatagttaaa ccactgtctg aaactcatcc ataataaat cactgagtaa 6180

tacaaaaatca agaaaatggg acaagtggct atggaagtaa gagtggagaa cattcgagcg 6240
atagacatgt tcaagcaaa gataaaaaac cgtataagaa gcagcaggtg ctatagaaat 6300
gctacactga tctttattgg actaacagcg ttaagcatgg cacttaatat tttctgac 6360
atcgatcatg caacattaag aaacatgatc aaaacagaaa actgtgctaa catgccgtcg 6420
gcagaaccaa gcaaaaagac cccaatgacc tccacagcag gcccaaacac caaacccaat 6480
ccacagcaag caacacagtg gaccacagag aactcaacat cccagtagc aacccagag 6540
ggccatccat acacaggga aactcaaaaa tcagacacaa cagctccca gcaaacacaa 6600
gacaaacaca cagcaccgct aaaatcaacc aatgaacaga tcaccagac aaccacagag 6660

aaaaagacaa tcagagcaac aacccaaaaa agggaaaaag gaaaagaaaa cacaaccaa 6720
accacaagca cagctgcaac ccaacaacc aacaccacca accaatcag aatgcaagt 6780
gagacaatca caacatccga cagaccaga actgacacca caacccaaag cagcgaacag 6840
acaacccggg caacagacc aagctccca ccacacatg catagagagg tgcaaaactc 6900
aatgagcac aacacacaaa catcccatcc aagtgttaa caaaaaacca caaaataacc 6960
ttgaaaacca aaaaacaaa acataaacc agaccagaa aaacatagac accatatgga 7020
aggttctagc atatgcacca atgagatggc atctgttcat gtatcaatag caccaccatc 7080
attcaaggaa taagaaggag cgaaaaatta agggataaat gacaatggat cccttttgtg 7140

aatctactgt taatgtttat ctccctgatt catatctcaa aggagtaata tcttttagtg 7200
aaaccaatgc aattggatca tgtcttttga aaagacccta tctaaaaat gacaacactg 7260
ccaaagtgc ttagaaaaac cctgtgttg aacatgtgag gcttagaaat gcagtcata 7320
ccaaatgaa gatatcagat tataaagtgg ttgaaccagt taatatgcag catgaaataa 7380
tgaaaaatat acatagttgt gagcttacat tattaaaaca attcttaacg agaagcaaaa 7440
acattagctc tctaaaatta aatatgatat gtgattggtt acagttaaaa tccacttcag 7500
ataacacatc aattctcaat tttatagatg tggagtcat acccgtttg gtaagcaatt 7560
ggttcagtaa ctggtataat ctcaataaat taatcttaga gtttagaaga gaagaagtaa 7620

taagaactgg ttcaatttta ttagatcac taggcaagtt agtttttatt gtatcatctt 7680
atggatgtgt agtaaaaagc aacaaaagta aaagagttag ctttttacc tataaccaac 7740
tgttaacatg gaaagatgtg atgttaagta gattcaatgc aaactttgt atatgggtaa 7800
gtaacaacct gaacaaaaat caagaaggac taggacttag aagcaatctg caaggtatgt 7860
taaccaataa attatatgaa actgttgatt acatgctaag cctatgctgc aatgaaggat 7920
tctctctggt gaaagagttt gaaggattta ttatgagtga aattctaaaa attactgagc 7980
atgctcagtt cagtactagg ttttaggaata ctttattgaa tgggttaact gaacaattat 8040
cagtgttgaa agctaagaac agatctagag ttcttggaa tatattagaa aacaacaatt 8100

accctatgta cgaagtagta cttaaatat taggggacac cttgaaaagc ataaagtat 8160
taattaacaa gaatttagaa aatgtctgag aattatatta tatattcaga attttggac 8220
accctatggt agatgagagg gaagcaatgg atgctgttaa attaaacaat gagattacaa 8280
aaattcttaa attagagagt ttaacagaac taagaggagc atttatacta agaattataa 8340

aagggtttgt agacaataat aaaagatggc ctaaaattaa gaatttaaaa gtgctcagca 8400
aaagatgggc tatgtatttc aaagctaaaa gttaccctag ccaacttgag ctaagtgtac 8460
aagatttttt agaacttgct gcagtacaat ttgagcagga attctctgta cctgaaaaaa 8520
ccaaccttga gatggtatta aatgataaag caatatacacc tccaaaaaag ctaatatggt 8580

ctgtatatcc aaaaaactac ctgcctgaaa ctataaaaaa tcaatattta gaagaggctt 8640
tcaatgcaag tgacagccaa agaacaagga gactcttaga attttactta aaagattgta 8700
aatttgatca aaaagaactt aaacgttatg taattaaaca agagtatctg aatgacaaag 8760
accacattgt ctcgtttaact gggaaggaaa gagaattaaag tgtaggtagg atgtttgcaa 8820
tgcaaccagg aaaacaaaga cagatacaga tattagctga gaaacttcta gctgataata 8880
ttgtaccttt tttcccagaa actttaacaa agtatggtga cttagatctc caaagaatta 8940
tggaataaaa atcagaactt tcttcatta aaactagaaa gaatgatagc tacaacaatt 9000
atattgcaag ggctctata gtaacagact taagtaagtt caatcaggcc tttagatatg 9060

aaaccacagc tatatgtgca gatgtagctg atgagttaca tgggacacaa agcttattct 9120
gttggttaca tcttattgtt cccatgacta caatgatatg tgcatacaga catgcaccac 9180
cagaaacaaa aggggaatat gatatagaca aaatacaaga gcaaagcgga ttatacagat 9240
atcatatggg agggattgaa ggggtggtgcc agaagtatg gacaatggaa gcaatattct 9300
tgttagatgt agtatctgtg aagactcgct gtcagatgac ctctctatta aacggagaca 9360
atcagtcaat agatgttagt aaaccagtaa aattgtctga aggtatagat gaagtaaaag 9420
cagactatag cttagcaatt agaatgctta aagaaataag agatgcttat aaaaacattg 9480
gtcataaact caaagaaggt gaaacatata tatcaaggga tctccaattt ataagtaagg 9540

tgattcaatc tgaaggagtc atgcatccta ccctataaaa aaagatatta agagtaggtc 9600
cttggataaa tacaatacta gatgatatta aaaccagtg cagaatcaata ggaagtctat 9660
gtcaagaact agaattcaga ggggagagta tactagttag cttgatatta aggaatttct 9720
ggctgtataa ctgtacatg tatgagtcaa aacagcacc attagctggg aagcaactgt 9780
tcaagcaatt gaacaaaaca ttaacatctg tgcagagatt ttttgaactg aagaaagaaa 9840
atgatgtggt tgacctatgg atgaatatac caatgcagtt tggaggggga gatccagtag 9900
ttttttacag atctttttac agaaggactc ccgatttct aactgaagca atcagccatg 9960
tggatttact gttaaaagtg tcaacaata tcaaatgatga gactaagata cgatttttca 10020

aagccttatt atctatagaa aagaatgaac gtgctacatt aacaacacta atgagagacc 10080
ctcaggcagt aggatcagaa cgacaagcta aggtacaag tgatataaat agaacagcag 10140
ttaccagcat actgagtcta tctccgaatc agctcttctg tgatagtgtc atacattata 10200
gtagaaatga ggaagaagtt gggatcattg cagacaacat aacacctgtc tatcctcatg 10260
ggctgagagt gctctatgaa tcaactacct ttcataaggc tgaagaggtt gtcaatatga 10320
tatcaggcac aaagtctata actaatctat tacagagaac atctgctatc aatggtgaag 10380
atattgatag agcagtgctc atgatgttag agaacttagg gttgttatct agaatatgt 10440

cagtaataat taatagtata gaaataccaa tcaagtccaa tggcagattg atatgctgtc 10500
aaatttccaa gaccttgaga gaaaaatcat ggaacaatat ggaaatagta ggagtacat 10560
ctcctagtat tgtgacatgt atggatgttg tgtatgcaac tagttctcat ttaaaaggaa 10620
taattattga aaaattcagt actgacaaga ccacaagagg tcagagggga ccaaaaagcc 10680
cctgggtagg atcaagcact caagagaaaa aattggttcc tgtttataat agacaaattc 10740
tttcaaaaca acaaaaagag caactggaag caatagggaa aatgaggtgg gtgtacaaag 10800
gaactccagg gctaagaaga ttgtcaaca agatttgcat aggaagctta ggtattagct 10860

ataaatgtgt gaaaccttta ttaccaagat tcatgagtgt aaacttctta cataggttat 10920
ctgttagtag tagaccatg gaattcccag cttctgttcc agcttacagg acaacaaatt 10980
accattttga cactagtcca atcaaccaag cattaagtga gaggttcggg aacgaagaca 11040
ttaatttagt gtccaaaaa gcaatcagct gcggaattag tataatgagt gttgtagaac 11100
agttaactgg tagaagccca aaacaattag tctaataccc tcaattagaa gagatagata 11160
ttatgcctcc tctgtattt caaggaaaa tcaattataa actagttagt aagataacct 11220
ccgatcaaca catcttcagt cctgacaaaa tagacatatt aacactaggg aagatgctta 11280

tgcctaccat aaaaggtcaa aaaactgac agttcttaaa taagagagaa aactattttc 11340

atggaaataa ttttaattgaa tctttatctg cagcacttgc atgccactgg tgtgggatat 11400
 taacagaaca gtgcatagaa aacaatatct ttaggaaaga ttgggggtgat gggttcatct 11460
 cagatcatgc cttcatggat ttcaaggat tttatgtgt atttaaaacc aaacttttat 11520
 gtagttgggg atctcaagga aagaatgtaa aagatgaaga tataatagat gaatccattg 11580
 acaaatattt aagaattgac aacacctttt ggagaatgtt cagcaaagtc atgtttgaat 11640
 caaaagtcaa aaaaagaata atgttatatg atgtgaaatt cctatcatta gtaggttata 11700

taggatttaa aaactggttt atagaacagt taagagtggg agaattgcat gaggtacctt 11760
 ggattgtcaa tgcgaagga gagttagtgt aaattaaatc aatcaaaatt tatctgcagt 11820
 taatagaaca agtctatct ttgagaataa ctgtattgaa ttatacagac atggcacatg 11880
 ctcttacacg attaattagg aaaaaattga tgtgtgataa tgcactcttt aatccaagtt 11940
 catcaccaat gttaaatcta actcaggtta ttgatccac aacacaacta gactattttc 12000
 ctaggataat atttgaggagg ttaaaaagtt atgataccag ttcagactac aacaaaggga 12060
 agttaacaag gaattacatg acattattac catggcaaca cgtaaacagg tacaattttg 12120

tctttagtgc tacaggttgt aaagtcagtt tgaagacatg catcgggaaa ttgataaagg 12180
 atttaaatcc taaagtcttt tactttattg gagaaggagc aggttaactgg atggcaagaa 12240
 cagcatgtga atatcctgat ataaaatttg tatataggag tttaaaggat gaccttgatc 12300
 accattaccc attagaatat caaagggtta taggtgatct aaatagggtg atagatagtg 12360
 gtgaaggatt atcaatggaa accacagatg caactcaaaa aactcattgg gacttgatac 12420
 acagaataag taaagatgct ttattgataa cattgtgtga tgcagaattc aaaaacagag 12480
 atgatttctt taagatggta atcctttgga gaaaacatgt attatcttgt agaacttgta 12540

cagcttatgg aacagatctt tactttattg caaagtatca tgcgggtggac tgcaatataa 12600
 aattaccatt ttttgaaga tctgtagcta cttttattat gcaaggaagc aaattatcag 12660
 ggtcagaatg ttacatactt ttaacattag gtcacacaa taatctaccc tgtcatggag 12720
 aaatacaaaa ttccaaaatg agaatagcag tgtgtaatga tttctatgcc tcaaagaaac 12780
 tggacaacaa atcaattgaa gcaaaactgca aatctcttct atcaggattg agaataccta 12840
 taaacaaaaa ggagttaaat agacaaaaga aattgttaac actacaaagt aaccattctt 12900
 ctatagcaac agttggcggc agtaagatta tagaatccaa atggttaaag aataaagcaa 12960

gtacaataat tgattgggta gagcatattt tgaattctcc aaaagggtgaa ttaaaactatg 13020
 atttctttga agcattagag aacacatacc ccaatatgat caagcttata gataatttgg 13080
 gaaatgcaga aataaagaaa ctaatcaagg tctactgggta tatgctttgt agtaagaagt 13140
 aataataatg ataattgata accataatct cacacaactg agaaaataat cgtctaacag 13200
 tttagtgtat cattagttat taaaattat aaaatagtaa ctaactgata aaaaatcaga 13260
 aattgaaatt gaatgtatag gggttttttg ccgt 13294

<210> 95

<211> 13350

<212> DNA

<213> human metapneumo virus

<400> 95

gtataaatta gattccaaaa aaatatggga caagtgaata tgtctcttca agggattcac 60
 ctgagtgatt tatcatacaa gcatgctata ttaaaagagt ctgagtacac aataaaaaga 120
 gatgtgggta caacaactgc agtgacaccc tcatcattgc aacaagaaat aacactgttg 180
 tgtggagaaa ttctgtatgc taaacatgct gactacaaat atgctgcaga aataggaata 240
 caatatatta gcacagcttt aggatcagag agagtgcagc agattctgag gaactcaggc 300
 agtgaagtc aagtgtctt aaccagaacg tactctctgg ggaaaattaa aaacaataaa 360
 ggagaagatt tacagatgtt agacatacac ggggtagaga agagctgggt agaagagata 420

gacaaagaag caaggaaaaa aatggcaacc ttgcttaagg aatcatcagg taatatccca 480

caaaatcaga ggccctcagc accagacaca ccataatct tattatgtgt aggtgcctta 540
 atattcacta aactagcatc aaccatagaa gtgggactag agaccacagt cagaagggt 600
 aaccgtgtac taagtgatgc actcaagaga taccctagaa tggacatacc aaagattgcc 660
 agatccttct atgacttatt tgaacaaaaa gtgtatcaca gaagtttgtt cattgagtat 720
 ggcaaagcat taggtctatc atctacaggc agcaaagcag aaagtcattt tgttaataa 780
 ttcattgcaag cttatggggc cgggtcaaca atgctaaggt ggggggtcat tgccagggtca 840
 tccaacaata taatgttagg acatgtatcc gtccaagctg agttaaaca ggtcacagaa 900

 gtctatgact tgggtgcgaga aatgggcctt gaatctggac ttctacattt aaggcaaagc 960
 ccaaaagctg gactgttatt actagccaac tgtcccaact ttgcaagtgt tgttctcgga 1020
 aatgcctcag gcttaggcat aatcggtatg tatcgaggga gagtaccaa cacagaatta 1080
 ttttcagcag ctgaaagtta tgccaaaagt ttgaaagaaa gcaataaaat aaatttctct 1140
 tcattaggac ttacagatga agagaagag gctgcagaac atttcttaaa tgtgagtac 1200
 gacagtcaaa atgattatga gtaattaaaa aagtgggaca agtcaaaatg tcattccctg 1260
 aaggaaaaga ttttctttt atgggtaatg aagcagcaaa attagcagaa gctttccaga 1320
 aatcattaag aaaaccaggt cataaaagat ctcaatctat tataggagaa aaagtgaata 1380

 ctgtatcaga aacattggaa ttacctacta tcagtagacc tgcaaaacca accataccgt 1440
 cagaacaaaa gttagcatgg acagataaag gtggggcaac caaaactgaa ataaagcaag 1500
 caatcaaagt catggatccc attgaagaag aagagtctac cgagaagaag gtgtaccct 1560
 ccagtgatgg gaaaacccct gcagaaaaga aactgaaacc atcaactaac accaaaaaga 1620
 aggtttcatt tacaccaaat gaaccaggga aatatacaaa gttggaaaaa gatgctctag 1680
 atttgcctc agataatgaa gaagaagatg cagaatcttc aatcttaacc ttgaaagaaa 1740
 gagatacttc atcattaagc attgaggcca gattggaatc aatagaggag aaattaagca 1800
 tgatattagg gctattaaga acactcaaca ttgctacagc aggaccaca gcagcaagag 1860

 atgggatcag agatgcaatg attggcgtaa gagaggaatt aatagcagac ataataaagg 1920
 aagctaaagg gaaagcagca gaaatgatgg aagaggaaat gagtcaacga tcaaaaatag 1980
 gaaatggtag tgtaaaatta acagaaaaag caaaagagct caacaaaatt gtgaaagatg 2040
 aaagcacaag tggagaatcc gaagaagaag aagaaccaa agacacacaa gacaatagtc 2100
 aagaagatga catttaccag ttaattatgt agtttaataa aaataaaca tgggacaagt 2160
 aaaaatggag tctacctag tagacaccta tcaaggcatt ccttacacag cagctgttca 2220
 agttgatcta atagaaaagg acctgttacc tgcaagccta acaatatggt tccctttgtt 2280
 tcaggccaac acaccaccag cagtgtgtct cgatcagcta aaaaccctga caataaccac 2340

 tctgtatgct gcatcacaaa atgggtccat actcaaagt aatgcatcag cccaagggtc 2400
 agcaatgtct gtacttccca aaaaatttga agtcaatgag actgtagcac tcgatgaata 2460
 tagcaaaactg gaatttgaca aactcacagt ctgtgaagta aaaacagttt acttaacaac 2520
 catgaaacca tacgggatgg tatcaaaatt tgtgagctca gccaaatcag ttggcaaaaa 2580
 aacacatgat ctaatcgac tatgtgattt tatggatcta gaaaagaaca cacctgttac 2640
 aataccagca ttcatcaaat cagtttcaat caaagagagt gagtacgcta ctgttgaagc 2700
 tgctataagc agtgaagcag accaagctct aacacaggcc aaaattgcac cttatcgagg 2760
 attaatatg atcatgacta tgaacaatcc caaaggcata ttcaaaaagc ttggagctgg 2820

 gactcaagtc atagtagaac taggagcata tgtccaggct gaaagcataa gcaaaatatg 2880
 caagacttgg agccatcaag ggacaagata tgtcttgaag tccagataac aaccaagcac 2940
 cttggccaag agctactaac cctatctcat agatcataaa gtcaccattc tagttatata 3000
 aaaatcaagt tagaacaaga attaaatcaa tcaagaacgg gacaataaaa aatgtcttgg 3060
 aaagtggtag tcatttttct attgttaata acacctcaac acggtcttaa agagagctac 3120
 ttagaagagt catgtagcac tataactgaa ggatatctca gtgttctgag gacaggttgg 3180
 tacaccaatg tttttact ggaggtaggc gatgtagaga accttacctg tgccgatgga 3240
 cccagcttaa taaaacaga attagacctg accaaaagtg cactaagaga gctcagaaca 3300

 gtttctgctg atcaactggc aagagaggag caaattgaaa atcccagaca atctagattc 3360
 gttctaggag caatagcact cgggtttgca actgcagctg cagttacagc aggtgttgca 3420
 attgccaaaa ccatcggctt gaaagtga gtaacagcaa ttaagaatgc cttcaaaaag 3480
 accaatgaag cagtatctac attggggaat ggagttcgtg tgttggcaac tgcagtgaga 3540

gagctgaaag attttgtgag caagaatcta acacgtgcaa tcaacaaaaa caagtgcgac 3600
attgtcgacc tgaaaatggc cgtagcttc agtcaattca acagaagggt cctaaatgtt 3660
gtgcggcaat tttcagacaa cgctggaata acaccagcaa tatctttgga cttaatgaca 3720
gatgctgaac tagccagagc tgtttccaac atgccaacat ctgcaggaca aataaaactg 3780

atgttggaga accgtgcaat ggtaagaaga aaagggttcg gattcctgat aggagtttac 3840
ggaagctccg taatttacat ggtgcaactg ccaatctttg gggttataga cagccttgc 3900
tggatagtaa aagcagcccc ttcttgttca ggaaaaaagg gaaactatgc ttgcctctta 3960
agagaagacc aaggatggta ttgtcaaaat gcagggtcaa ctgtttacta cccaaatgaa 4020
aaagactgtg aaacaagagg agaccatgtc ttttgcgaca cagcagcagg aatcaatgtt 4080
gctgagcagt caaaggagtg caacataaac atatctacta ctaattaccc atgcaaaagt 4140
agcacaggaa gacatcctat cagtatggtt gcactatctc ctcttggggc tttggttgc 4200
tgctacaagg gagtgcgctg ttccattggc agcaacagag tagggatcat caagcaactg 4260

aacaaaggct gctcttatat aaccaaccaa gacgcagaca cagtgacaat agacaacact 4320
gtataccagc taagcaaatg tgaaggcgaa cagcatgtta taaaaggaag gccagtgtca 4380
agcagctttg acccagtcaa gtttctgaa gatcaattca atgttgcact tgaccaagt 4440
ttcgagagca ttgagaacag tcaggccttg gtggatcaat caaacagaat cctaagcagt 4500
gcagagaaag gaaacactgg ctccatcatt gtaataattc taattgctgt ccttggctct 4560
accatgatcc tagtgagtgt ttttatcata ataaagaaaa caaagaaacc cacaggagca 4620
cctccagagc tgagtgggtg cacaacaat ggcttcatac cacataatta gtttaattaa 4680
aataaagtaa attaaaataa attaaaatta aaaataaaaa tttgggacaa atcataatgt 4740

ctcgcaaggc tccgtgcaaa tatgaagtgc ggggcaaatg caatagagga agtgagtgc 4800
agtttaacca caattactgg agttggccag atagatactt attaataaga tcaaatatt 4860
tattaaatca acttttaagg aacactgata gagctgatgg cttatcaata atatcaggag 4920
caggcagaga agataggaca caagattttg tcctaggttc caccaatgtg gtccaaggtt 4980
atattgatga taaccaaagc ataacaaaag ctgcagcctg ttacagtcta cataatataa 5040
tcaacaact acaagaagt gaagttaggc aggctagaga taacaaacta tctgacagca 5100
aacatgtagc acttcacaac ttatgcctat ctatatgga gatgagcaaa actcctgcat 5160
ctttaatcaa caatctcaag agactgccga gagagaaact gaaaaaatta gcaaagctca 5220

taattgactt atcagcaggt gctgaaaatg actcttcata tgccttgcaa gacagtga 5280
gcactaatca agtgacgtg gcatggcca gttttcatta ctatagaggt tgatgacatg 5340
atatggactc acaaggactt aaaagaagct ttatctgatg ggatagtga gtctcact 5400
aacatttaca attgttattt agaaaacata gaaattatat atgtcaaggc ttacttaagt 5460
tagtaaaaac acatcagagt gggataaatg acaatgataa cattagatgt cattaaaagt 5520
gatgggtctt caaaaacatg tactcacctc aaaaaataa ttaaagacca ctctggtaaa 5580
gtgcttattg tacttaagtt aatattagct ttactaacat ttctcacagt aacaatcacc 5640
atcaattata taaaagtga aaacaatctg caaatatgcc agtcaaaaac tgaatcagac 5700

aaaaaggact catcatcaaa taccacatca gtcacaacca agactactct aaatcatgat 5760
atcacacagt attttaaaag ttgtattcaa aggtatatac actctgcaat aaacagtgc 5820
acatgctgga aaataaacag aaatcaatgc acaaatataa caacatacaa atttttatgt 5880
tttaaatctg aagacacaaa aaccaacaat tgtgataaac tgacagattt atgcagaaac 5940
aaacaaaac cagcagttgg agtgtatcac atagtagaat gccattgtat atacacagtt 6000
aatgggaagt gctatcatta cccaaccgat gaaaccaat cctaaatgtt aacaccagat 6060
taggatccat ccaagtctgt tagttcaaca atttagttat ttaaaaatat ttgaaaaca 6120
agtaagtttc tatgatactt cataataata agtaataatt aattgcttaa tcatcatcac 6180

aacattattc gaaaccataa ctattcaatt taaaaagtaa aaaacaataa catgggacaa 6240
gtagttatgg aggtgaaagt ggagaacatt cgaacaatag atatgctcaa agcaagagta 6300
aaaaatcgtg tggcacgcag caaatgcttt aaaaatgcct ctttggctct cataggaata 6360
actacattga gtattgcctt caatatctat ctgatcataa actataaaat gcaaaaaaac 6420
acatctgaat cagaacatca caccagctca tccccatgg aatccagcag agaaactcca 6480
acggtcccca cagacaactc agacaccaac tcaagccac agcatccaac tcaacagtcc 6540
acagaaggct ccacactcta ctttcagacc tcagcaagct caccagagac agaaccaaca 6600

tcaacaccag atacaacaaa ccgcccgcgc ttcgtcgaca cacacacaac accaccaagc 6660

gcaagcagaa caaagacaag tccggcagtc cacacaaaaa acaacccaag gacaagctct 6720
 agaacacatt ctccaccag ggcaacgaca aggacggcac gcagaaccac cactctccgc 6780
 acaagcagca caagaaagag accgtccaca gcatcagtc aacctgacat cagcgcaaca 6840
 acccacaaaa acgaagaagc aagtcacgag agcccacaaa catctgcaag cacaacaaga 6900
 atacaagga aaagcgtgga ggccaacaca tcaacaacat acaaccaaac tagttaacaa 6960
 aaaatacaaa ataactctaa gataaacat gcagacacca acaatggaga agccaaaaga 7020
 caattcacia tctcccaaaa aaggcaacaa caccatatta gctctgcca aatctccctg 7080
 gaaaaaacac tcgcccatac accaaaaata ccacaaccac ccaagaaaaa aaactgggca 7140

aaacaacacc caagagacaa ataacaatgg atcctctcaa tgaatccact gttaatgtct 7200
 atcttctga ctcatatctt aaaggagtga ttctcttag tgagactaat gcaattggtt 7260
 catgtctctt aaaaagacct tacctaaaaa atgacaacac tgcaaaagt gccatagaga 7320
 atcctgttat cgagcatgtt agactcaaaa atgcagtc aaatctaatg aaaatatcag 7380
 attacaagat agtagagcca gtaaacatgc aacatgaaat tatgaagaat gtacacagtt 7440
 gtgagctcac attattaaaa cagtttttaa caaggagtaa aaatattagc actctcaaat 7500
 taaatatgat atgtgattgg ctgcagttaa agtctacatc agatgatacc tcaatcctaa 7560
 gttttataga tgtagaattt atacctagct gggttaagcaa ttggtttagt aattggtaca 7620

atctcaacaa gttgattctg gaattcagga aagaagaagt aataagaact ggttcaatct 7680
 tgtgtaggtc attgggtaaa ttagtttttg ttgtatcatc atatggatgt atagtcaaga 7740
 gcaacaaaag caaaagagt agcttcttca catacaatca actgttaaca tggaaagatg 7800
 tgatgttaag tagattcaat gcaaatttt gtatatgggt aagcaacagt ctgaatgaaa 7860
 atcaagaagg gctagggttg agaagtaatc tgcaaggcat attaaactaat aagctatatg 7920
 aaactgtaga ttatatgctt agtttatgtt gcaatgaagg tttctcactt gtgaaagagt 7980
 tcgaaggctt tattatgagt gaaattctta ggattactga acatgctcaa ttcagtacta 8040
 gatttagaaa tactttatta aatggattaa ctgatcaatt aacaaaatta aaaaataaaa 8100

acagactcag agttcatggt accgtgttag aaaataatga ttatccaatg tacgaagtgt 8160
 tacttaagtt attaggagat actttgagat gtattaaatt attaatcaat aaaaacttag 8220
 agaatgctgc tgaattatac tatatattta gaatatcgg tcaccaatg ttagatgaaa 8280
 gagatgcaat ggatgctgc aaattaaaca atgaaatcac aaaaatcctt aggtgggaga 8340
 gcttgacaga actaagaggg gcattcatac taaggattat caaaggattt gtagacaaca 8400
 acaaaagatg gcccaaaatt aaaaacttaa aagtgcctag taagagatgg actatgtact 8460
 tcaaaagcaa aagttacccc agtcaacttg aattaagcga acaagatttt ttagagcttg 8520
 ctgcaatata gttgaacaa gagttttctg tcctgaaaa aaccaacctt gagatggtat 8580

taaatgataa agctatatca cctcctaaaa gattaatatg gtctgtgtat ccaaaaaatt 8640
 acttacctga gaaaataaaa aatcgatac tagaagagac tttcaatgca agtgatagtc 8700
 tcaaaacaag aagagtacta gagtactatt tgaagataa taaattcgac caaaaagaac 8760
 ttaaaagtta tgttgtttaa caagaatatt taaatgataa ggatcatatt gtctcgctaa 8820
 ctggaaaaga aagagaatta agtgtaggta gaatgtttgc tatgcaacca ggaacacgc 8880
 gacaaatata aatattggct gaaaaattgt tagctgataa tattgtacct ttttccag 8940
 aaaccttaac aaagtatggt gatctagatc ttcagagaat aatggaaatc aaatcggaac 9000
 tttcttctat taaaactaga agaatgata gttataataa ttacattgca agagcatcca 9060

tagtaacaga tttaagtaag ttcaaccaag cctttaggta tgaaactaca gcgatctgtg 9120
 cggatgtagc agatgaacta catggaacac aaagcctatt ctgttggtta catcttatcg 9180
 tccctatgac aacaatgata tgtgcctata gacatgcacc accagaaaca aaagtgtaat 9240
 atgatataga taagatagaa gagcaaatg gtttatatag atatcatatg ggtggtattg 9300
 aaggatggtg tcaaaaactc tggacaatgg aagctatata tctattagat gttgtatctg 9360
 taaaaacacg atgtcaaatg acatctttat taaacggtga caaccaatca atagatgtaa 9420
 gtaaacacgt taagtattct gagggtttag atgaagtga agcagattat agcttggtcg 9480
 taaaaatggt aaaagaaata agagatgcat acagaaatat aggcataaa cttaaagaag 9540

gggaaacata tatatcaaga gatcttcagt ttataagtaa ggtgattcaa tctgaaggag 9600

taatgcatcc taccctata aaaaagatct taagagtggg accatggata aacacaatat 9660
 tagatgacat taaaaccagt gcagagtcaa tagggagtct atgtcaggaa ttagaattta 9720
 ggggggaaag cataatagtt agtctgatat taaggaatit ttggctgtat aattttataca 9780
 tgcattgaatc aaagcaaac cccctagcag ggaagcagtt attcaaaca ctaaataaaa 9840
 cattaacatc agtgcagaga ttttttgaat taaaaaagga aaatgaagta gtagatctat 9900
 ggatgaacat accaatgcag tttggaggag gagatccagt agtcttctat agatctttct 9960
 atagaaggac ccctgatttt ttaactgaag caatcagtca tgtggatatt ctgttaagaa 10020

 tatcagccaa cataagaaat gaagcgaaaa taagtttctt caaagcctta ctgtcaatag 10080
 aaaaaaatga acgtgctaca ctgacaacac taatgagaga tcttcaagct gttggctcag 10140
 agcgacaagc aaaaagtaaca agtgcattca atagaacagc agttaccagc atcttaagtc 10200
 tttctccaaa tcaacttttc agcgatagtg ctatacacta cagtagaaat gaagaagagg 10260
 tcggaatcat tgcagacaac ataacacctg tttatcttca tggactgaga gttttgtatg 10320
 aatcattacc ttttcataaa gctgaaaaag ttgtgaatat gatatcagga acgaaatcca 10380
 taaccaactt attacagaga acatctgcta ttaattggtga agatattgac agagctgtat 10440

 ccatgatgct ggagaacctt ggattattat ctagaatatt gtcagttagt gttgatagta 10500
 tagaaattcc aaccaaactt aatggtaggc tgatatgttg tcagatatct agaaccctaa 10560
 gggagacatc atggaataat atggaatag ttggagtaac atcccctagc atcactacat 10620
 gcatggatgt catatatgca actagctctc atttgaagg gataatcatt gaaaagtcca 10680
 gcaatgacag aactacaaga ggtcaaagag gtccaaagag cccttgggta gggctgagca 10740
 ctcaagagaa aaaattagtt cctgtttata acagacaaat tctttcaaaa caacaaagag 10800
 aacagctaga agcaattgga aaaatgagat gggtatataa agggacacca ggtttaagac 10860

 gattactcaa taagatttgt cttggaagtt taggcattag ttacaaatgt gtaaaacctt 10920
 tattacctag gtttatgagt gtaaatctcc tacacagggt atctgtcagt agtagacctt 10980
 tggaaattcc agcatcagtt ccagcttata gaacaacaaa ttaccatttt gacactagtc 11040
 ctattaatca agcactaagt gagagatttg ggaatgaaga tattaatttg gctttccaaa 11100
 atgcaatcag ctgtggaatt agcataatga gtgtagttag acaatttaact ggtaggagtc 11160
 caaaaacagtt agttttaata cctcaattag aagaaataga cattatgcca ccaccagtgt 11220
 ttcaagggaa attcaattat aagctagtag ataagataac ttctgatcaa catatcttca 11280

 gtccagacaa aatagatatg ttaacactgg ggaaaatgct catgcccact ataaaaggct 11340
 agaaaacaga tcagtctctg aacaagagag agaattatit ccatgggaat aatcttattg 11400
 agtctttgtc agcagcgtta gcatgtcatt ggtgtgggat attaacagag caatgtatag 11460
 aaaataatat tttaagaaa gactgggggt acgggttcat atcgatcat gcttttatgg 11520
 acttcaaaat attcctatgt gtctttaaaa ctaaactttt atgtagttag ggggtcccaag 11580
 ggaaaaacat taaagatgaa gatatagtag atgaatcaat agataaactg ttaaggattg 11640
 ataatacttt ttggagaatg ttacgcaagg ttatgtttga atcaaaggtt aagaaaagga 11700

 taatgttata tgatgtaaaa tttctatcat tagtaggtta tatagggttt aagaattggt 11760
 ttatagaaca gttgagatca gctgagttgc atgaggtacc ttgattgtc aatgccgaag 11820
 gtgatctggt tgagatcaag tcaattaaaa tctatttgca actgatagag caaagtittat 11880
 ttttaagaat aactgttttg aactatacag atatggcaca tgctctcaca agattaatca 11940
 gaaagaagtt gatgtgtgat aatgcactat taactccgat tccatcccca atgggttaatt 12000
 taactcaagt tatgatcct acagaacaat tagcttattt ccctaagata acatttgaaa 12060
 ggctaaaaaa ttatgacact agttcaaat atgctaaagg aaagctaaca aggaattaca 12120

 tgatactgtt gccatggcaa catgttaata gatataactt tgtctttagt tctactggat 12180
 gtaaaagttag tctaaaaaca tgcatgggaa aacttatgaa agatctaaac cctaaagttc 12240
 tgtactttat tggagaaggg gcaggaaatt ggatggccag aacagcatgt gaatatcctg 12300
 acatcaaatt tgcatacaga agttttaaaag atgaccttga tcatcattat cctttggaat 12360
 accagagagt tataggagaa ttaagcagga taatagatag cggagaaggg ctttcaatgg 12420
 aaacaacaga tgcaactcaa aaaactcatt gggatttgat acacagagta agcaaatgat 12480
 cttttatatt aactttatgt gatgcagaat ttaaggacag agatgatttt ttaaatgatg 12540

 taattctatg gaggaacat gtattatcat gcagaatttg cactacttat gggacagacc 12600

tctatttatt cgcaaagtat catgctaaag actgcaatgt aaaattacct ttttttgtga 12660
gatcagtagc caccttttatt atgcaaggta gtaaaactgtc aggctcagaa tgctacatac 12720
tcttaacact aggccaccac aacaattttac cctgccatgg agaaatacaa aattctaaga 12780
tgaaaatagc agtgtgtaat gattttttatg ctgcaaaaaa acttgacaat aaatctattg 12840
aagccaactg taaatcactt ttatcagggc taagaatacc gataaataag aaagaattaa 12900
atagacagag aaggttatta acactacaaa gcaaccattc ttctgtagca acagttggag 12960

gtagcaaggt catagagtct aaatgggttaa caaacaaggc aaacacaata attgattggg 13020
tagaacatat tttaaattct ccaaaagggtg aattaaatta tgattttttt gaagcattag 13080

aaaatactta ccctaatatg attaaactaa tagataatct aggggaatgca gagataaaaa 13140
aactgatcaa agtaactgga tatatgcttg taagtaaaaa atgaaaaatg ataaaaatga 13200
taaaatagggt gacaacttca tactattcca aagtaatcat ttgattatgc aattatgtaa 13260
tagttaatta aaaactaaaa atcaaaagtt agaaactaac aactgtcatt aagtttatta 13320
aaaataagaa attataattg gatgtatcac 13350

<210> 96

<211> 13215

<212> DNA

<213> human metapneumo virus

<400> 96

acgcgaaaaa aacgcgtata aattaagtta caaaaaacca tgggacaagt gaaaatgtct 60
cttcaaggga ttacactgag tgatctatca tacaagcatg ctatattaaa agagtctcag 120
tatacaataa agagagatgt aggcacaaca accgcagtga caccctcatc attgcaacaa 180
gaaataacac tattgtgtgg agaaattcta tatgctaagc atgctgatta caaatatgct 240
gcagaaatag gaatacaata tattagcaca gctctaggat cagagagagt acagcagatt 300
ctaagaaact caggtagtga agtccaagtg gttttaacca gaacgtactc cttggggaaa 360
gttaaaaaca acaaaggaga agatttacag atgttagaca tacacggagt agagaaaagc 420

tgggtggaag agatagacaa agaagcaaga aaaacaatgg caactttgct taaagaatca 480
tcaggcaata ttccacaaaa tcagaggcct tcagcaccag acacacccat aatcttatta 540
tgtgtagggt ccttaatat taccaaacta gcatcaacta tagaagtggg attagagacc 600
acagtcagaa gagctaaccg tgtactaagt gatgcactca aaagataacc taggatggac 660
ataccaaaaa tcgctagatc ttctatgac ttatttgaac aaaaagtgtg ttacagaagt 720
ttgttcattg agtatggcaa agcattaggc tcatcctcta caggcagcaa agcagaaagt 780
ttattcgtaa atatattcat gcaagcttac ggtgctggc aaacaatgct gaggtgggga 840
gtcattgcca ggtcatctaa caatataatg ttaggacatg tatctgttca agctgagtta 900

aaacaagtca cagaagtcta tgacctggtg cgagaaatgg gccctgaatc tgggctccta 960
catttaaggc aaagcccaaa agctggactg ttatcactag ccaattgtcc caactttgct 1020
agtgttggtc tcggcaatgc ctcaggctta ggcataatag gtatgtatcg cgggagagtg 1080
ccaaacacag aactattttc agcagcagaa agctatgcc aagatttgaa agaaagcaat 1140
aaaattaact ttcttctatt aggactcaca gatgaagaaa aagaggctgc agaacacttc 1200
ctaaatgtga gtgacgacag tcaaaatgat tatgagtaat taaaaaatg ggacaagtca 1260
aatgtcatt cctgaagga aaagatatc ttttcatggg taatgaagca gcaaaattgg 1320
cagaagcttt tcaaaaatca ttaagaaaac ctaatcataa aagatctcaa tctattatag 1380

gagaaaaagt gaacactgta tctgaacat tggaattacc tactatcagt agacctacca 1440
aacggacct attgtcagag ccgaagttag catggacaga caaagggtgg gcaatcaaaa 1500
ctgaagcaaa gcaacaatc aaagttatgg atcctattga agaagaagag ttactgaga 1560
aaagggtgct gccctccagt gatgggaaaa ctctgcaga aaagaagttg aaacctcaa 1620

ccaacactaa aaagaaggtc tcatttacac caaatgaacc aggaaaatac acaaagttag 1680
 agaaagatgc tctagacttg ctttcagaca atgaagaaga agatgcagaa tcctcaatct 1740
 taaccttcga agaaagagat acttcatcat taagcattga agccagacta gaatcgattg 1800
 aggagaaatt aagcatgata ttagggctat taagaacact caacattgct acagcaggac 1860

ccacagcagc aagagatggg atcagagatg caatgattgg cataaggagg gaactaatag 1920
 cagacataat aaaagaagcc aagggaagag cagcagaaat gatggaagaa gaaatgaacc 1980
 agcggacaaa aataggaaac ggtagtgtaa aatlaactga aaaggcaaag gagctcaaca 2040
 aaattgttga agacgaaagc acaagtgggtg aatccgaaga agaagaagaa ccaaaagaca 2100
 cacaggaaaa taatcaagaa gatgacattt accagttaat tatgtagtgt aataaaaata 2160
 aaaatgggac aagtgaatat ggagtcctat ctggtagaca cttatcaagg catcccttac 2220
 acagcagctg ttcaagttag tctagtagaa aaggacctgt tacctgcaag cctaacaata 2280
 tggttccctt tgtttcagc caatacacca ccagcagttc tgcttgatca gctaaagact 2340

ctgactataa ctactctgta tgctgcatca caaagtgggtc caatactaaa agtgaatgca 2400
 tcagcccagg gtgcagcaat gtctgtactt cccaaaaagt ttgaagtcaa tgcgactgta 2460
 gcacttgacg aatatagcaa attagaattt gacaaactta cagtctgtga agtaaaaaca 2520
 gtttacttaa caacctgaa accatatggg atggtatcaa agtttgtgag ctgggcaaaa 2580
 tcagtggca aaaaaacaca tgatctaata gcattatgtg attttatgga tctagaaaag 2640
 aacacaccag ttacaatacc agcatttata aatcagttt ctatcaagga gagtgaatca 2700
 gccactgttg aagctgcaat aagcagtgaa gcagaccaag ctctaacaca agccaaaatt 2760
 gcaccttatg cgggactgat catgattatg accatgaaca atcccaaagg catattcaag 2820

aagcttggag ctgggaccca agttatagta gaactaggag cataatgtcca ggctgaaagc 2880
 ataagtaaaa tatgcaagac ttggagccat caaggaacaa gatatgtgct gaagtccagt 2940
 taacagccaa gcaacctggc caagaactac caactctatt ctatagacta aaaagtcgcc 3000
 attttagtta tataaaaatc aagttagaat aagaattaaa tcaatcaaga acgggacaaa 3060
 taaaaatgtc ttggaaagtg gtgatcattt ttcatgtgct aataacacct caacacgggtc 3120
 ttaaagagag ctacctagaa gaatcatgta gcaactataac tgagggatat cttagtgttc 3180
 tgaggacagg ttggtatacc aacgttttta cattagaggt ggggtgatga gaaaacctta 3240
 catgttctga tggacctagc ctaataaaaa cagaattaga tctgaccaa agtgcactaa 3300

gagagctcaa aacagtctct gctgaccaat tggcaagaga ggaacaaatt gagaatccca 3360
 gacaatctag gtttgttcta ggagcaatag cactcgggtg tgcaacagca gctgcagtca 3420
 cagcaggtgt tgcaattgcc aaaaccatcc ggcttgagag tgaagtcaca gcaattaaga 3480
 atgcctcaa aacgaccaat gaagcagtat ctacattggg gaatggagtt cgagtgttgg 3540
 caactgcagt gagagagcta aaagactttg tgagcaagaa tttlaactcg gcaatcaaca 3600
 aaaacaagtg cgacattgat gacctaaaaa tggctgttag cttcagtcaa ttcaacagaa 3660
 gggtttctaa tgttgtgcgg caattttcag acaatgctgg aataacacca gcaatatctt 3720
 tggacttaat gacagatgct gaactagcca gggccgtttc taacatgccg acatctcgag 3780

gacaaataaa attgatgttg gagaaccgtg cgatgggtgc aagaaagggg ttcggaatcc 3840
 tgataggggt ctacgggagc tccgtaatit acacgggtgca gctgccaatc tttggcgtaa 3900
 tagacagcc ttgctggata gtaaaagcag ccccttcttg ttcgaaaaa aagggaact 3960
 atgcttgctt cttagagaa gaccaagggt ggtattgtca gaatgcaggg tcaactgttt 4020
 actacccaaa tgagaaagac tgtgaacaa gaggagacca tgtcttttc gacacagcag 4080
 caggaaattaa tgttgctgag caatcaaagg agtgcaacat caacatatcc actacaaatt 4140
 acctatgcaa agtcagcaca ggaagacatc ctatcagtat gggtgcaactg tctcctcttg 4200
 gggctctggt tgcctgttac aaaggagtaa gctgttccat tggcagcaac agagttagga 4260

tcataagca gctgaacaaa ggttgctcct atataacca ccaagatgca gacacagtga 4320
 caatagacaa cactgtatat cagctaagca aagttgaggg tgaacagcat gttataaaag 4380
 gcagaccagt gtcaagcagc ttgatccaa tcaagtttcc tgaagatcaa ttcaatgttg 4440
 cacttgacca agtttttgag aacattgaaa acagccaggc cttagtagat caatcaacaa 4500
 gaatcctaag cagtgcagag aaagggaata ctggctttat cattgtaata attctaattg 4560
 ctgtccttgg ctctagcatg atcctagtga gcatcttcat tataatcaag aaaacaaaga 4620

aaccaacggg agcacctcca gagctgagtg gtgtcacaaa caatggcttc ataccacaca 4680
gttagttaat taaaaataaa ataaaatttg ggacaaatca taatgtctcg caaggtcca 4740

tgcaaatatg aagtgcgggg caaatgcaac agaggaagtg agtgaagtt taaccacaat 4800
tactggagtt ggccagatag atacttatta ataagatcaa actatctatt aaatcagctt 4860
ttaaggaaca ctgatagagc tgatggccta tcaataatat caggcgcagg cagagaagac 4920
agaacgcaag attttgttct aggttccacc aatgtggttc aaggttatat tgatgataac 4980
caaagcataa caaagctgc agcctgctac agtctacaca acataatcaa gcaactacaa 5040
gaagttgaag ttaggcagcg tagagatagc aaactatctg acagcaagca tgtggcactc 5100
cataacttaa tcttatctta catggagatg agcaaaactc ccgcatcttt aatcaacaat 5160
cttaaaagac tgccgagaga aaaactgaaa aaattagcaa agctgataat tgacttatca 5220

gcaggcgctg acaatgactc ttcatatgcc ctgcaagaca gtgaaagcac taatcaagt 5280
cagtggagcat ggtcctgttt tcttactat agaggttgat gaaatgatat ggactcaaaa 5340
agaattaaaa gaagctttgt ccgatgggat agtgaagtct cacaccaaca ttacaattg 5400
ttatttagaa aacatagaaa ttatatatgt caaggcttac ttaagttagt aaaaacacac 5460
atcagagtgg gataagtgc aatgataaca ttagatgtca ttaaaagtga tgggtcttca 5520
aaaacatgta ctcacctcaa aaaaataatc aaagaccatt ctggtaaagt gcttattgca 5580
cttaagttaa tattagcttt actaacattt ttcaataaa caatcactat aaattacata 5640
aaagttagaaa acaatctaca aatatgccag tcaaaaactg aatcagacaa agaagactca 5700

ccatcaataa ccacatccgt cacaaccaag actactctag accatgatat aacacagtat 5760
tttaaaagat taattcaagg gtatacagat tctgtgataa acaaggacac atgctggaaa 5820
ataagcagaa atcaatgcac aaatataaca acatataaat ttttatgctt taaacctgag 5880
gactcaaaaa tcaacagttg tgatagactg acagatctat gcagaaacaa atcaaaatca 5940
gcagctgaag catatcatac agtagaatgc cattgcatat acacaattga gtggaagtgc 6000
tataccacc caatagatta aaccaattt tgaatgttaa aactagacta ggatccgtct 6060
aagactatca gttcaatagt ttagttattt aaaaatat t gagaacaggt aagtttctat 6120
ggcacttcat agcaataggt aataattaac agcttaatta taattaaaac attattttaa 6180

accgtaacta ttaattttac aaagtaaaaa caaaaatatg ggacaagtag ttatggaggt 6240
gaaagtagag aacattcgag caatagacat gctcaaagca agagtgaata atcgtgtggc 6300
acgtagcaaa tgctttaaaa atgcttcttt aatctcata ggaataacta cactgagtat 6360
agctctcaat atctatctga tcataaacta cacaatacaa aaaaccacat ccgaatcaga 6420
acaccacacc agctcaccac ccacagaacc caacaaggaa gcttcaacaa tctccacaga 6480
caaccagac atcaatccaa gctcacagca tccaactcaa cagtccacag aaaacccac 6540
actcaacccc gcagcatcag cgagcccatc agaaacagaa ccagcatcaa caccagacac 6600
aacaacccgc ctgtctccg tagacaggtc cacagcacia ccaagtgaat gcagaacaaa 6660

gacaaaaccg acagtcacaa caatcaacaa cccaaacaca gcttccagta cacaatcccc 6720
accacggaca acaacgaagg caatccgcag agccaccact ttcgcatga gcagcacagg 6780
aaaaagacca accacaacat tagtccagtc cgacagcagc accacaaccc aaaatcatga 6840
agaaacaggt tcagcgaacc cacagcgctc tgcaagcaca atgcaaaact agcacaccaa 6900
taataataaa ccaaattagt taacaaaaaa tgcgagatag ctctaaagca aaacatgtag 6960
gtaccaacaa tcaagaaacc aaaagacaac tcacaatctc cctaaaacag caacgacacc 7020
atgtcagctt tgcacaaatc tctctgggag aaacttctac ccacatacta acaacatcac 7080
aaccatctca agaaaagaaa ctgggcaaaa cagcatccaa gagacaaata gcaatggatc 7140

ctcttaatga atccactgtt aatgtctatc tccctgatc gtaccttaaa ggagtaattt 7200
cttttagtga aactaatgca attgggttcat gtctcttaaa aagaccttac ttaaaaaatg 7260
acaacactgc aaaaattgcc atagagaatc ctgttattga gcatgtgaga ctcaaaaatg 7320
cagtcaattc taaaatgaaa atatcagatt acaaggtagt agagccagta aacatgcaac 7380
atgaaataat gaagaatgta cacagttgtg agctcacact attgaaacag tttttaacaa 7440
ggagtaaaaa cattagcact ctcaatttaa atatgatatg tgattggctg caattaaagt 7500
ctacatcaga tgataacctc atcctaagtt tcatagatgt agaatttata cctagtggg 7560

taagcaactg gtttagtaat tgggtacaatc tcaataagtt aattttggaa ttcagaagag 7620

aggaagtaat aagaaccggt tcaatcttat gcaggtcatt gggtaaatta gtttttattg 7680
tatcatcata cggatgtatc gtcaagagca acaaaagcaa aagagtgagc ttcttcacat 7740
acaatcaact gttaacatgg aaagatgtga tgttaagtag atttaatgcg aatttttgta 7800
tatgggtaag caatagtctg aatgaaaatc aggaagggtc agggttaaga agtaatctac 7860
aaggatgttt aactaataaa ctatatgaaa ctgtagatta tatgctaagt ttatgttgca 7920
atgaaggttt ctcaattgta aaagagttcg aaggttttat tatgagtga atccttagga 7980
ttactgaaca tgcctaatc agtactagat ttagaaatac tttattaaat ggattaacag 8040
atcaattaac aaaaataaaa aataaaaaca gactcagagt tcatggtacc gtattagaaa 8100

ataatgatta tccaatgtat gaagttgtac ttaaattatt aggagatact ttgagatgta 8160
tcaaattatt aatcaataaa aacttagaga atgctgcaga attatactat atattcagaa 8220
tttttggtca tccaatggta gatgaaagag atgcaatgga tgctgtcaaa ttaacaatg 8280
aaatcacaaa aatcctaagg ttggagagct tgacagaact aagaggagca ttcattataa 8340
ggattatcaa aggattttgtg gacaacaaca aaaggtggcc caaaataaaa aatttaatatg 8400
tgcttagcaa aagatggact atgtacttca aagctaaaaa ttatcccagt caactcgaat 8460
taagtgaaca agactttcta gagcttctg caatacaatt tgaacaagag ttttctgttc 8520
ctgaaaaaac caatcttgag atgggtattaa atgacaaagc catatcacct cctaaaagat 8580

taatatggtc tgtgtatcca aagaattact tacctgagac gataaaaaat cgatatattag 8640
aagaaacttt caatgaggt gatagtctca aaacaagaag agtactagag tactatttaa 8700
aagacaataa attgatcaa aggaactta aaagttagt agttagacaa gaatattaa 8760
atgataagga gcacattgtc tcattaaactg gaaaagaaag agaattaagt gtaggtagaa 8820
tgttttctat gcaaccagga aaacagcgac aaatacaaat attggcagaa aaattgttag 8880
ctgataacat tgtaccttc tcccggaaa ccttaacaaa gtatggtgat ctagatcttc 8940
agagaataat ggaatcaaa tcagaacttt ctctatcaa aaccagaaga aatgacagtt 9000
ataataatta cattgcaaga gcatccatag taacagattt gagcaagttc aaccaagcct 9060

ttagatatga aactacagcg atctgtgcgg atgtagcaga cgaattacat ggaacacaaa 9120
gcttattctg ttggttacat ctatcgcttc ctatgactac aatgatagt gcctatagac 9180
atgcaccacc agaacaacaaa ggtgaatatg atatagataa gatagaagag caaagtggtc 9240
tatatagata tcacatgggc ggtattgaag gatggtgtca aaaactctgg acaatggaag 9300
ctatatcttt attggatgtt gtatctgtaa agacacgggtg tcaaatgaca tctttattaa 9360
acggtgataa ccaatcaata gatgtaagta aaccagtcga gttatctgaa ggttttagatg 9420
aagtgaaggc agattatcg ttagcaataa aaatgctaaa agaaataaga gatgcataca 9480
gaaatatagg ccataaactt aaagaagggg aaacatatat atcaagggat cttcaattta 9540

taagcaaggt gattcaatct gaaggagtga tgcacctac ccctataaaa aaggctttga 9600
gagtaggacc atggataaac acaatattag atgacattaa aactagtgtc gagtcaatag 9660
ggagtctatg tcaagaatta gaatttaggg gagaaagcat aatagttagt ctgatattaa 9720
gaaacttctg gctgtataac ttatcatgac atgaatcaaa gcaacatcct ttggcaggga 9780
aacagttatt caaacaacta aataaaacat taacatcagt gcagagattt ttgaaatta 9840
aaaaggaaaa tgaggtagta gatctatgga tgaacatacc aatgcaattt ggaggaggag 9900
atccagtagt ctctataga tctttctata gaaggacccc tgatttttta actgaggcaa 9960
tcagccatgt agatattctg ttaaaaatat cagctaacat aaaaaatgaa acgaaagtaa 10020

gtttcttcaa agccttacta tcaatagaaa aaaatgaacg tgctacactg acaacgctaa 10080
tgagagatcc tcaagctgtt ggatcagaac gacaagcaaa agtaacaagt gacatcaata 10140
gaacagcagt taccagtatc ttaagtcttt ccccaaatca acttttcagt gatagtgtca 10200
tacactatag caggaatgaa gaagaagtgg gaatcatgtc agaaaacata acacctgttt 10260
atcctcatgg gctgagagta ttatatgaat cattgccctt tcacaaagct gaaaaagttg 10320
taaacatgat atcagggaca aaatctataa ccaacttatt acagagaaca tccgctatta 10380
atggtgaaga tattgacagg gctgtatcta tgatgttgga gaatctagga ttattatcta 10440

gaatatgtgc agtagttgtt gatagtatag aaattccaat caaatctaata ggtaggctga 10500

tatgtttgtca aatctctagg actttaagag agacatcatg gaataaatatg gaaatagtgtg 10560
gagtaacatc tcttagcatc actacatgta tggatgtcat atatgcaact agttctcatt 10620
tgaaggggat aattatagaa aagttcagca ctgacagaac tacaaggggt caaagaggtc 10680
caaaaagccc ttgggtaggg tcgagtactc aagagaaaaa attagtacct gtttataaca 10740
gacaaattct ttcaaaaaca caaagagaac agctagaagc aattggaaaa atgagatggg 10800
tgtataaagg gacaccagcg ttgcgacgat tactcaacaa gatctgtctt gggagttag 10860

gcattagtta caaatgtgta aaacctttat tacctagggt tatgagtgtg aatttcttac 10920
ataggttatc tgtcagtagt agacctatgg aattcccagc atcagttcca gcttatagaa 10980
caacaaatta ccatttcgac actagtctta ttaatcaagc actaagttag agatttggga 11040
atgaagatat taacttggtc ttccaaaatg cgatcagctg tggaaatagc ataatgagt 11100
tagtagaaca attaacaggt agaagcccaa aacagttagt tttaatacc caattagaag 11160
aatagacat tatgccacca ccagtgtttc aagggaatt caattataaa ttagtagata 11220
agataacttc tgatcaacat atcttcagtc cggacaaaat agatatgtta acactaggga 11280

aaatgtcat gcctactata aaaggtcaga aaacagatca gttcttaaat aagagagaga 11340
attatttcca tgggaacaat cttattgagt cttatcagc agcattagca tgtcattggt 11400
gtgggatatt aacagaacaa tgcataagaa ataataattt caagaaggac tggggtgacg 11460
ggtttatatc agatcatgct tttatggact tcaaaatatt cctatgtgtc tttaaaacta 11520
aacttttatg tagttgggga tccaaggga aaaacattaa agatgaagat atagtagatg 11580
aatcaataga taaattgtta aggattgaca atacttttg gagaatgttc agcaaagtta 11640
tgtttgaacc aaaagttaag aaaaggataa tgttatatga tgtaaaattc ctatcactag 11700

taggctacat agggtttaag aactggttta tagagcagtt gagatcagct gaattgcatg 11760
aaataccttg gattgtcaat gccgaagggtg atttggttga gatcaagtca attaaaatct 11820
atttgcaact gatagaacaa agcttatttt taagaataac tgttttgaac tatacagata 11880
tggcacatgc tctcacagca ttaatcagaa agaagttaat gtgtgataat gcactgttaa 11940
ccccaatte atccccaatg gttaacttaa ctcaagttat tgatcccaca acacaattag 12000
attacttccc caagataaca ttcgaaaggc taaaaaatta tgacacaagt tcaaattatg 12060
ctaaaggaaa gctaacaaga aattacatga tactattgcc atggcagcat gttaatagat 12120

ataactttgt ctttagttct actggatgta aagttagtct gaaaacatgt attggaaaac 12180
ttatgaaaga cttaatcct aaagttttgc actttattgg agaaggagca ggaaattgga 12240
tggccagaac agcatgtgaa tatctgata ttaaatgtgt atatagaagt ctgaaagatg 12300
accttgatca tcattatcct ctggaatacc agagagtgt aggtgaatta agcagaatca 12360
tagatagtgg tgaaggactt tcaattgaaa caacagacgc aactcaaaaa actcatggg 12420
atttgataga cagggttaagc aaagatgctt tattaataac tttatgtgat gcagaattta 12480
aggacagaga tgattttttt aagatggtaa ttctatggag aaaacatgta ttatcatgca 12540

gaatttgcac tacttatggg acggacctct atttattcgc aaagtatcat gctaaagact 12600
gcaatgtaaa attacctttt tttgtgagat cagttgctac tttcattatg cagggttagta 12660
agctgtcagg ttcagaatgc tacatactct taacactagg ccaccacaac agtttacctt 12720
gccatggaga aatacaaaat tctaagatga aaatagcagt gtgtaatgat tttatgctg 12780
caaaaaaact cgacaataaa tcaattgaag ctaattgtta atcacttttg tcagggctaa 12840
gaatacctat aaataagaag gaactagata gacagagaag attattaaca ctacaaagca 12900
atcattcttc tgtggcaaca gttggcggta gcaagatcat agagtctaaa tggtaacaa 12960

acaaagcaag tacaataatt gattgggttag aacatatattt aaattctcca aaggcgcaat 13020
taaattatga tttttttgaa gcattggaga acacttacc taatatgatt aaactaatag 13080
ataacttagg gaatgcagag attaaaaaac ttatcaagt aacaggatag atgcttgtaa 13140
gtaaaaaatg aaaaatgatg aagatgacaa aatagatgac aacttcatac tattctaaat 13200
taattatttg attat 13215

<211> 13135
 <212> DNA
 <213> human metapneumo virus

<400> 97

```

acgcgaaaaa aacgcgtata aattaaattc caaacaaaac gggacaaata aaaatgtctc 60
ttcaagggat tcacctaagt gatctgtcat ataaacatgc tatattaaaa gagtctcaat 120
acacaataaa aagagatgta ggcaccacaa ctgcagtgac accttcacatca ttgcagcaag 180
agataaacact tttgtgtgga gagattcttt acactaaaca tactgattac aaatatgctg 240
cagagatagg gatacaatat atttgacacag ctctaggatc agaaaagagta caacagattt 300
taagaaattc aggtagttag gttcaggtgg ttctaaccaa gacatactct ttagggaaag 360
gtaaaaatag taaaggggaa gaggttgcaa tgttagatat acatggagtg gaaaagagtt 420

gggtagaaga aatagacaaa gaggcaagaa aaacaatggg gactttgcta aaggaatcat 480
caggcaacat cccacaaaac cagaggcctt cagcaccaga cacaccaata attttattgt 540
gtgtagggtg tttaatattc actaaactag catcaacaat agaagttgga ctagagacta 600
cagttagaag ggctaacaga gtgttaagtg atgcgctcaa aagataccct agggtagata 660
taccaaagat tgctagatct ttttatgaac tatttgagca gaaagtgtat tacaggagtc 720
tattcattga gtatgggaaa gctttaggct catcttcaac aggaagcaaa gcagaaagtt 780
tgtttgtaaa tatatttatg caagcttatg gagccggtca gacaatgcta aggtgggggtg 840
tcattgccag atcatctaac aacataatgc tagggcatgt atctgtgcaa gctgaattga 900

aacaagttac agaggtttat gatttggtaa gaaaaatggg tectgaatct gggcttttac 960
atctaagaca aagtccaaag gcaggactgt tatcgttggc taattgcccc aattttgcta 1020
gtgtgtttct tggtaatgct tcaggtctag gtataatcgg aatgtacagg ggaagagtgc 1080
caaacacaga gctattttct gcagcagaaa gttatgccag aagcttaaaa gaaagcaaca 1140
aatcaactt ctctcatta gggctcacag acgaagaaaa agaagctgca gaacacttct 1200
taaacatgag tgatgacaat caagatgatt atgagttaatt aaaaaactgg gacaagtcaa 1260
aatgtcattc cctgaaggaa aagatatact gttcatgggt aatgaagcag caaaaatagc 1320
agaagctttc cagaaatcac taaaaagatc aggtcacaaa agaaccagct ctattgtagg 1380

ggaaaaagta aacactatat cagaaactct agagctacct accatcagca aacctgcacg 1440
atcatctaca ctgctagagc caaaattggc atgggcagac agcagcggag ccacaaaaac 1500
cacagaaaaa caaacaacca aaacaacaga tctgttgtaa gaagaggaac tcaatgaaaa 1560
gaaggatatca ccttcagtg atgggaagac tctgcagag aaaaaatcaa aatctccaac 1620

caatgtaaaa aagaaagttt ctttcacatc aaatgaacca gggaaatata ctaaactaga 1680
aaaagatgcc ctgatttgc tctcagacaa tgaggaagaa gacgcagagt cctcaatcct 1740
aacctttgaa gagagagaca catcatcact aagcattgag gctagactag aatcaataga 1800
agagaagcta agcatgatat taggactgct tcgtacactt aacattgcaa cagcaggacc 1860
aacggctgca agggatggaa tcagagatgc aatgattggg ataagagaag aactaatagc 1920
agaaataata aaagaagcaa agggaaaagc agccgaaatg atggaagagg aaatgaatca 1980
aaggtcaaaa ataggtaatg gcagtgtaaa actaaccgag aaggcaaaag aacttaataa 2040
aattgttgaa gacgagagca caagtgggtga atcagaagaa gaagaagaac caaaagaaac 2100

tcaggataac aatcaaggag aagatatcta ccagttaatc atgtagtta ataaaaataa 2160
acaatgggac aagtcaagat ggagtcctat ctagtggaca cttatcaagg cattccctac 2220
acagctgctg ttcaagtiga tctggtagaa aaagacttac taccagcaag ttgacaata 2280
tggtttctc tattccaagc caacacacca ccagcggttt tgctcgatca gctaaaaacc 2340
ttgactataa caactctgta tgctgcatca cagaatggtc caatactcaa agtaaatgca 2400
tcagctcagg gtgctgctat gtctgtactt cccaaaaaat tcgaagtaaa tgcaactgtg 2460
gcacttgatg aatacagcaa acttgacttt gacaagttaa cggtttgca tgtaaaaaca 2520
gtttatttga caacatgaa gccatatggg atgggtgtcaa aatttgtgag ttcagccaaa 2580

tcagttggca aaaagacaca tgatctaatt gcactgtgtg acttcatgga ctagagaaa 2640
    
```

aatatacctg tgacaatacc agcattcata aagtcagttt caatcaaaga gagtgagtc 2700
gccactgttg aagctgcaat aagcagtgag gccgaccaag cattaacaca agccaaaatt 2760
gcacctatg caggactaat catgatcatg accatgaaca atccaaaagg tatattcaag 2820
aaactaggag ctggaacaca agtgatagta gagctagggg catagtttca agccgagagc 2880
atcagcagga tctgcaagag ctggagtcac caaggaacaa gatagtact aaaatccaga 2940
taaaaataac tgcctaate aataattgct tatataatcc taaagatcaa tgagcttatt 3000
attatagtta tataaaaata atttagaact agaaaggtat taatagaaag cgggacaagt 3060

aaaaatgtct tggaaagtga tgattatcat ttcgttactc ataacacctc agcacggact 3120
aaaagaaagt tatttagaag aatcatgtag tactataact gaaggatac tcagtgtttt 3180
aagaacaggt tggtaacca atgtctttac attagaagtt ggtgatgttg aaaatcttac 3240
atgtactgat ggacctagct taatcaaac agaacttgac ctaacaaaa gtgctctgag 3300
agaactcaaa acagtttctg ctgatcagtt agcgagagaa gaacaaattg aaaatcccag 3360
acaatcaagg tttgtctag gtgcaatagc tcttgagtt gccacagcag cagcagtcac 3420
agcaggcatt gcaatagcca aaaccataag acttgagagt gaagtgaatg caatcaaagg 3480
tgctctcaaa acaaccaacg aggcagtatc cactagga aatggagtgc gagtcttagc 3540

cactgcagta agagagctga aagaatttgt gagcaaaaac ctgactagtg cgatcaacaa 3600
gaacaaatgt gacattgctg atctgaagat ggctgtcagc ttcagtcaat tcaacagaag 3660
attcctaagt gttgtgcggc agttttcaga caatgcaggg ataacaccag caatatcatt 3720
ggacctaatg actgatgctg agctggccag agctgtatca tacatgcaa catctgcagg 3780
acagataaaa ctaatgttag agaaccgtgc aatggtgagg agaaaaggat ttggaatctt 3840
gataggggtc tacggaagct ctgtgattta catggtccag ctgccgatct ttggtgtcat 3900
agatacacct tgttggataa tcaaggcagc tccctcttgt tcagaaaaag atggaaatta 3960
tgcttgcctc ctaagagagg atcaagggtg gtattgcaaa aatgcaggat ccactgttta 4020

ctacccaaat gaaaaagact gcgaaacaag aggtgatcat gttttttgtg acacagcagc 4080
agggatcaat gttgctgagc aatcaagaga atgcaacatc aacatatcta ccaccaacta 4140
cccatgcaaa gtcagcacag gaagacaccc tatcagcatg gttgcactat cacctctcgg 4200
tgctttggtg gcttgcatac aggggggttag ctgctcgatt ggtagtaac gggttggat 4260
aatcaaaaaa ctacctaaag gctgtctata cataactaac caggacgcag aactgtaac 4320
aattgacaac actgtgtatc aactaagcaa agttgagggt gaacagcatg taataaaagg 4380
gagaccagtt tcaagcagtt ttgatccaat cagggttctt gaggatcagt tcaatgttg 4440
gcttgatcaa gtctttgaaa gcattgaaaa cagtcaagca ctagtggacc agtcaacaa 4500

aattctgaac agtgcagaaa aaggaaacac tggtttcatt attgtaataa ttttgattgc 4560
tgttcttggg ttaacctga tttcagtgag catcatcatc ataatacaaa aaacaaggaa 4620
gcccacaggg gcacctcag agctgaatgg tgttaccac ggcggtttta taccgcatag 4680
ttagttaatt aaaaaatgg acaaatcatc atgtctcgca aagctccatg caaatatgaa 4740
gtacggggca agtgcacag gggaagttag tgcaaatca accacaatta ctggagctgg 4800
cctgataggt attattgtt aagatcaaat tatctcttga atcagctttt aagaaacact 4860
gataaggctg atggtttgtc aataatatca ggagcaggta gagaagatag gactcaagac 4920
tttgttcttg gtttactaa tgtgtttcaa gggtacattg ataacaatca aggaataaca 4980

aaggctgcag cttgctatag tctacataac ataataaaac agctacaaga aatagaagta 5040
agacaggcta gagataataa gctttctgac agcaaacatg tggcatttca caacttgata 5100
ttatctata tggagatgag caaaactcct gcatcctga ttaataacct aaagaaacta 5160
ccaagagaaa aactgaagaa attagcgaaa ttaataattg atttatcagc aggaactgat 5220
aatgactctt catatgcctt gcaagacagt gaaagcacta atcaagtga gtaagcatgg 5280
tcccaaatc attaccatag aggcagatga tatgataggg acacacaaag aattaaagga 5340
gacactgtct gatgggatag taaaatcaca caccaatatt tacagttgtt atttagaaaa 5400
tatagaaata atatatgtta aagcttactt aagttagtaa aaaataaata gaatgggata 5460

aatgacaatg aaaacattag atgtcataaa aagtgatgga tctcagaaa catgtaatca 5520
actcaaaaaa ataataaaaa aacactcagg taaattgctt attgcattaa aactgatatt 5580

ggccttattg acgtttttca cagtaacaat tactgttaac tatataaaag tagaaaaaca 5640
 tttgcaggca tgtcaattaa aaaatgaatc agacaaaaag gacacaaagc taaataccac 5700
 atcaacaaca atcagaccca ttctgatctt aaatgcagta cagtacttga aaaggctgat 5760
 tcagaaacac accaactttg tcataaaaga cagagatacc tgttgagaa tacacacgaa 5820
 tcaatgcaca aatataaaaa tatataagtt cttatgtttc gggtttatga attcaacaaa 5880
 tacagactgt gaagaactaa cagttttatg tgataaaaag tcaaaaacca tgacagaaaa 5940

 acatagggaa gcagagtgtc actgtctaca tacaaccgag tgggtggtgtt attatcttta 6000
 agagaaaaact cggcttttcaa cattaaaatc agaacaatc ctatccagat ctattaatat 6060
 aatagtttag tcattcaaaa actctaaata ttgtctagac ttcaaacac tttgcggtca 6120
 tatgcaataa tcaatgttca aaccactgtt gcaaaactac ccataatata atcactgagt 6180
 aatacaaaac aagaaaatgg gacaagtggc catggaagta agagtggaga acattcgggc 6240
 aatagacatg ttcaaagcaa aaatgaaaaa ccgtataaga agtagcaagt gctatagaaa 6300
 tgctacactg atccttattg gattaacagc attaagtatg gcaactaata ttttttaaat 6360
 cattgattat gcaatgttaa aaaacatgac caaagtggaa cactgtgtta atatgccgcc 6420

 ggtagaacca agcaagaaga cccaatgac ctctgcagta gacttaaca ccaaaccaca 6480
 tccacagcag gcaacacagt tggccgcaga ggattcaaca tctctagcag caacctcaga 6540
 ggaccatcta cacacaggga caactccaac accagatgca acagtctctc agcaaaccac 6600
 agacgagtac acaacattgc tgagatcaac caacagacag accacccaaa caaccacaga 6660
 gaaaaagcca accggagcaa caaccaaaaa agaaccaca actcgaacta caagcacagc 6720
 tgcaacccaa aactcaaca ctaccaacca aactagctat gtgagagagg caaccacaac 6780
 atccgccaga tccagaaaca gtgccacaac tcaaagcagc gaccaaaca cccaggcagc 6840
 agaccaagc tccaaccac accatacaca gaaaagcaca acaacaacat acaacacaga 6900

 cacatcctct ccaagtgtt aacaaaaaaa ctataaaata atcatgaaa ccgaaaaact 6960
 agaaaagtta atttgaactc agaaaagaac acaaacacta tatgaattgt ttgagcgtat 7020
 atactaatga aatagcatct gtttgtgcat caataatacc atcattatct aagaaataag 7080
 aagaagctaa aattcaaggg acaataaaca atggatccat tttgtgaatc cactgtcaat 7140
 gtttatcttc ctgactcata tctcaaagga gtaatatctt tcagtgaac caatgcaatt 7200
 ggctcatgcc ttttgaagag accctatcta aaaaaagata aactgctaa agttgctgta 7260
 gaaaaccctg ttgttgaaca tgtcaggctt agaaatgcag tcatgaccaa aatgaagata 7320
 tcagattata aagtgttga accaattaat atgcagcatg aaataatgaa aaatatcac 7380

 agttgtgagc tcacattatt aaaacaattc ttaacaagaa gtaaaacat tagctctcta 7440
 aaattaagta tgatattgta ttggttacag ttaaaatcca cctcagataa cacatcaatt 7500
 cttaatttta tagatgtgga gtttataact gtttgggtga gcaattggtt tagtaactgg 7560
 tataatctca ataaattaat cttagagttt agaagagagg aagtaataag aactggttca 7620
 attttatgta gatcactagg caagttagtt ttcatgtat catcttatgg gtgtgtagta 7680
 aaaagcaaca aaagtaaaag agtaagtttt ttcatatata accaactgtt aacatggaaa 7740
 gatgtgatgt taagtaggtt caatgcaaac ttttgtatat gggttaagta caacctgaac 7800
 aaaaatcaag aaggactagg atttagaagt aatctgcaag gtatgttaac caataaatta 7860

 tatgaaactg ttgattatat gttaagtcta tgtagtaatg aagggttctc actagtgaac 7920
 gagttcgaag gctttattat gagtgaattt cttaaaatta ctgagcatgc tcaattcagt 7980
 actaggttta ggaatacttt attaaatggg ttgactgaac aattatcaat gttgaaagct 8040
 aaaaacagat ctagagtctt tggcactata ttagaaaaca atgattacc catgtatgaa 8100
 gtagtactta aattattagg ggacactttg aaaagtataa aattattaat taacaagaat 8160
 ttagaaaatg ctgcagaatt atattatata ttcagaattt ttggacacc tatggtatag 8220
 gagagggaag caatggatgc tgttaatta aataatgaga ttacaaaaat tcttaactg 8280
 gagagcttaa cagaactaag aggagcatit atactaagaa ttataaaagg gttttagat 8340

 aataataaaa gatggcctaa aattaagaat ttaaaagtgc tcagtaaaag atgggttatg 8400
 ttttcaaag caaaagtta ccctagccaa cttgagctaa gtgtacaaga ttttttagaa 8460
 cttgtcgcag tacaattcga acaggaattt tctgtccctg aaaaaaccaa cttgagatg 8520
 gtattaaatg ataaagcaat atctctcca aaaaagttaa tatggtcggt atatcaaaa 8580
 aattatctac ctgaaattat aaaaaatcaa tattagaag aggtcttcaa tgcaagtgc 8640

agtcaaagaa cgaggagagt cttagaattt tacttaaaag attgcaaatt tgatcaaaaa 8700
 gaccttaaac gttatgtact taaacaagag tatctaaatg acaaagacca cattgtctca 8760
 ttaactggga aggaaagaga attaagtgtg ggcaggatgt ttgcaatgca accaggcaaa 8820

 caaagacaaa tacagatact agctgagaaa ctcttagctg ataatatgt accctttttc 8880
 ccagaaactt taacaaagta tgggtgacttg gatctccaaa gaattatgga aatgaaatca 8940
 gaactttctt ccattaaaac taggaagaat gatagttaca acaattatat tgcaagagcc 9000
 tccatagtaa cagacctaa gtaattcaat caagccttta gatatgaaac cacagctatc 9060
 tgtgcagatg tagcagatga gttacatggt acgcaaagct tattttgttg gttacatctt 9120
 attgttccca tgaccacaat gatagtgtgca tacagacatg caccaccaga aacaaagggg 9180
 gagtatgaca tagacaaaaa agaagagcaa agtgggctat acagatatca tatgggaggg 9240
 attgaagggt ggtgtcagaa gttatggaca atggaagcga tatccttgtt agatgtagta 9300

 tctgttaaga ctctgtgtca gatgacctct ctattaaacg gagacaatca atcaatagat 9360
 gtcagtaaac cagtaaaatt gtctgaaggt atagatgaag taaaagcaga ttatagctta 9420
 gcaattaaaa tgcttaaa gataagagat gcctataaaa acattggcca taaactcaaa 9480
 gaaggtgaaa catatatatc aagagatctc caatttataa gtaaggtgat tcaatctgag 9540
 ggggtcatgc atcctacccc cataaaaaag atattaaggg taggtccctg gataaataca 9600
 atactagatg acattaaaac cagtgcagaa tcaataggga gtctgtgtca agaactagag 9660
 ttcagaggag aaagtatgct agttagcttg atattaagga atttctggct gtataactta 9720
 tacatgcatg agtcaaaaca gcatccgtta gctggaaaac aactgtttta gcaattgaac 9780

 aaaacactaa catctgtgca aagatttttt gagctgaaga aagaaaatga tgtggttgac 9840
 ctatggatga atataccaat gcagtttgga gggggagacc cagtagtttt ttacagatct 9900
 ttttacagaa ggactctga tttctgact gaagcaatca gccatgtgga tttactgtta 9960
 aaagtttcga acaatattaa aaatgagact aagatacgat tctttaaagc cttattatct 10020
 atagaaaaga atgaacgtgc aacattaaca acactaatga gagaccccca ggcggttaga 10080
 tcggaaagac aagctaaggt aacaagtgat ataaatagaa cagcagttac tagcatactg 10140
 agtctatctc cgaatcagct cttttgtgat agtgcctatc actatagcag aaatgaagaa 10200

 gaagtcggga tcattgcaga caacataaca cctgtttatc ctcacggatt gagagtgtc 10260
 tatgaatcac taccttttca taaggctgaa aaggttgtca atatgatac aggtacaaaag 10320
 tctataacta acctattgca gagaacatct gctatcaatg gtgaagatat tgatagagca 10380
 gtgtctatga gttagagaa cttagggttg ttatctagga tattgtcagt aataattaat 10440
 agtatagaaa taccaattaa gtccaatggc agattgatat gctgtcaaat ttctaagact 10500
 ttgagagaaa aatcatggaa caatatggaa atagtaggag tgacatctcc aagtattgta 10560
 acatgtatgg atgttgtgta tgcaactagt tctcatttaa aaggaataat tattgaaaaa 10620

 ttcagtactg acaagaccac aagaggtcag aggggaccaa aaagcccctg ggtaggatca 10680
 agcactcaag agaaaaaatt agttctgtt tataatagac aaattctttc aaaacaacaa 10740
 aaggagcaac tggaagcaat aggaaaaatg aggtgggtgt ataaaggaac tccagggcta 10800
 agaagattgc tcaataagat ttgcatagga agtttaggta ttagctataa atgtgtaaaa 10860
 cctctattac caagattcat gagtgtaaac ttcttacata gggttatctgt tagtagcaga 10920
 cccatggaat tccagcttc tgttccagct tataggacaa caaattacca ctttgacact 10980
 agtccaatca accaagcatt aagttagagg ttcgggaacg aagacattaa tctagtgttc 11040

 caaatgcaa tcagctgcgg aattagtata atgagtgttg tagaacagtt aactggtaga 11100
 agcccaaac aattagctt aatccccc aaatagagaga tagatattat gcctcctcct 11160
 gtatttcaag gaaaattcaa ttataaacta gttgataaaa taacctctga tcaacacatc 11220
 ttcagctctg acaaaataga catattaaca ctagggaaga tgcttatgcc tactataaaa 11280
 ggtcaaaaaa ctgacagtt cttaataaag agagaaaact atttccatgg aaataattta 11340
 attgaatctt tatctgcagc acttgcagc cactgggtgt gaatattaac agaacagtgt 11400
 gtagaaaaca atatctttag gaaagactgg ggtgatgggt tcatatcaga tcatgccttc 11460

 atggatttca agatatttct atgtgtattt aaaaccaaac ttttatgtag ttggggatcc 11520
 caagggaaaa atgtaaaaga tgaagatata atagatgaat ccattgacaa attattaaga 11580

attgacaaca ctttttggag aatgttcagc aaagtcattgt ttgaatcaaa ggtcaaaaaa 11640
agaataatgt tatatgatgt aaaattccta tcatttagtag gttatatagg atttaaaaac 11700
tggtttatag agcagttaag agtagtagaa ttgcatgaag tgccttggat tgtcaatgct 11760
gaaggggagc tagttgaaat taaaccaatc aaaattttatt tgcagttaat agaacaaagt 11820
ctatctttaa gaataactgt ttgtgaattat acagacatgg cacatgctct tacacgatta 11880

attaggaaga aattgatgtg tgataatgca ctcttcaatc caagttcatc accaatgttt 11940
agtctaactc aagttatcga tcctacaaca cagctagact attttcttaa ggtgatattt 12000
gaaaggttaa aaagttatga taccagtcca gactacaaca aagggaagtt aacaagaaat 12060
tacaatgacat tattaccatg gcagcacgta aacaggtata attttgtctt tagttcaaca 12120
ggatgtaaaa tcagcttgaa gacatgcacg gggaatttga taaaggactt aaaccttaag 12180
gttctttact ttattggaga aggagcaggt aactggatgg caagaacacg atgtgagtat 12240
cctgacataa aatttgtata taggagttta aaggatgatc ttgatcatca ttaccatta 12300

gaatatcaaa gggtaatagg tgattttaa atgggtaatag atgggtggtga aggactatca 12360
atggagacca cagatgcaac tcaaaagact cattgggact taatacacag aataagtaaa 12420
gatgctttat tgataacatt gtgtgatgca gaattcaaaa acagagatga tttcttttaa 12480
atggtaattc ttggagaaa acatgtatta tcatgtagaa tctgtacagc ttatggaaca 12540
gatctttact ttttgcaca gtatcatgcg acggactgca atataaaat accatttttt 12600
gtaaggtctg tagctacttt tattatgcaa ggaagcaaat tgtcaggatc agaattgtac 12660
atacttttaa cattaggtca tcacaataat ctgccatgcc atggagaaat acaaaattcc 12720

aaaaatgaga tagcagtgtg taatgatttc catgcctcaa aaaaactaga caacaaatca 12780
attgaagcta actgtaaatc tcttctatca ggattaaaga taccaataaa caaaaaagag 12840
ttaaatagac aaaagaaact gttaacacta caaagcaatc attcttccat agcaacagtt 12900
ggcggcagta agattataga atccaaatgg ttaagaataa aagcaagtac aataattgat 12960
tggtttagagc atatcttgaa ttctccaaaa ggtgaattaa actatgattt ctttgaagca 13020
ttagagaaca cataccacca tatgatcaag cttatagata acctgggaaa tgcagagata 13080
aaaaaactaa tcaaaagtcc tgggtatatg cttgtgagta agaagtaata ataata 13135

<210> 98

<211> 907

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 98

atggaggatga aagtggagaa cattcgaaca atagatatgc tcaaagcaag agtaaaaaat 60
cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcctcttttg tcctcatagg aataactaca 120
ttgagtattg cctcaatat ctatctgac ataaactata aaatgcaaaa aaacacatct 180
gaatcagaac atcacaccag ctcatcacc atggaatcca gcagagaaac tccaacggtc 240
cccacagaca actcagacac caactcaagc ccacagcatc caactcaaca gtccacagaa 300
ggctccacac tctactttgc agcctcagca agctcaccag agacagaacc aacatcaaca 360
ccagatataa caaacggccc gcccttcgtc gacacacaca caacaccacc aagcgcaagc 420

agaacaaaga caagtcgggc agtccacaca aaaaacaacc caaggacaag ctctagaaca 480
cattctccac caggggcaac gacaaggacg gcacgcagaa ccaccactct ccgcacaagc 540
agcacaagaa agagaccgtc cacagcatca gtccaacctg acatcagcgc aacaaccac 600
aaaaacgaag aagcaagtcc agcagagcca caaacatctg caagcacaac aagaatacaa 660
aggaaaagcg tggaggccaa cacatcaaca acatacaacc aaactagtta acaaaaaata 720
caaaaataact ctaagataaa ccatgcagac accaacaatg gagaagccaa aagacaattc 780
acaatctccc caaaaaggca acaacacatc attagctctg cccaaatctc cctggaaaaa 840
acactcgccc atataccaaa aataaccaca ccacccaag aaaaaaactg ggcaaaaaca 900

cacccaa

907

<210> 99
 <211> 908
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 99
 atggaggtga aagtggagaa cattcgaaca atagatatgc tcaaagcaag tgtaaaaaat 60
 cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcctctttgg tcctcatagg aataactaca 120
 ttgagtattg ccttcaatat ctatctgac ataaactata aaatgcaaaa aaacacatct 180
 gaatcagaac atcacaccag ctcatcacc atggaatcca gcagagaaac tccaacggtc 240
 cccacagaca actcagacac caactcaagc ccacagcatc caactcaaca gtccacagaa 300
 ggctccacac tctactttgc agcctcagca agctcaccag agacagaacc aacatcaaca 360
 ccagatataa caaacggccc gcccttcgtc gacacacaca caacaccacc aagcgcaagc 420

 agaacaaaga caagtccggc agtccacaca aaaaacaacc caaggacaag ctctagaaca 480
 cattctccac caggggcaac gacaaggacg gcacgcagga accaccactc tccgcacaag 540
 cagcacaaga aagagaccgt ccacagcatc agtccaacct gacatcagcg caacaaccca 600
 caaaaacgaa gaagcaagtc cagcgagccc acaaacatct gcaagcaca caagaatata 660
 aaggaaaagc gtggaggcca acacatcaac aacatacaac caaactagtt aacaaaaaat 720
 acaaaataac tctaagataa accatgcaga caccaacaat ggagaagcca aaagacaatt 780
 cacaatctcc caaaaaggc aacaacacca tattagctct gcccaaatct ccctggaaaa 840
 aacactcgcc catataccaa aaataccaca accaccccaa gaaaaaaact gggcaaaaaca 900

 acacccaa 908

<210> 100
 <211> 907
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 100
 atggaggtga aagtggagaa cattcgaaca atagatatgc tcaaagcaag agtaaaaaat 60
 cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcctctttgg tcctcatagg aataactaca 120
 ctgagtattg ccttcaatat ctatctgac ataaactata aaatgcaaaa aaacacatct 180
 gaatcagaac atcacaccag ctcatcacc atggaatcca gcagagaaac tccaacggtc 240
 cccacagata attcagacac caactcaagc ccacaacatc caactcaaca gtccacagaa 300
 ggctccacac tctactttgc agcctcagca aactcaccag agacagaacc aacatcaaca 360
 ccagacacaa caaacggccc gcccttcgtc gacacacaca caacaccacc aagcgcaagc 420

 agaacaaaga caagtccggc agtccacaca aaaaacaacc caaggataag ctccagaaca 480
 cactctccac catgggcaac gacaaggacg gcacgcagaa ccaccactct ccgcacaagc 540
 agcacaagaa agagaccgtc cacagcatca gcccaaccg acatcagcgc aacaaccac 600
 aaaaacgaag aagcaagtcc agcagagcca caaacatctg caagcacaac aagaacacaa 660
 aggaaaagcg tggaggcca acatcaaca acatacaacc aaactagtta acaaaaaata 720
 caaaataact ctaagataaa ccatgcagac accaacaatg gagaagtcaa aagacaattc 780
 acaatctccc caaaaaggca acaacacat attagctctg cccaaatctc cctggaaaaa 840
 aactcgccc atataccaa aataccacaa ccacccaag aaaaaaactg ggcaaaaaca 900

 cacccaa 907

<210> 101

<211> 907
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 101
 atggaggtga aagtgagaa cattcgaaca atagatatgc tcaaagcaag agtaaaaaat 60
 cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcctctttgg tcctcatagg aataactaca 120
 ttgagtattg ccttcaatat ctatctgac ataaactata aaatgcaaaa aaacacatct 180
 gaatcagaac atcacaccag ctcatcacc atggaatcca gcagagaaac tccaacggtc 240
 cccacagata attcagacac caactcaagc ccacaacatc caactcaaca gtccacagaa 300
 ggctccacac tctactttgc agcctcagca aactcaccag agacagaacc aacatcaaca 360
 ccagacacaa cagaccgccc gcccttcgtc gacacacaca caacaccacc aagcgcaagc 420

 agaacaaaga caagtccggc agtcacacaca aaaaacaacc caaggataag ctccagaaca 480
 cattctccac catgggcaac gacaaggacg gcacgcagaa ccaccactct ccgcacaagc 540
 agcacaagaa agagaccgtc cacagcatca gtccaaccgc acatcagcgc aacaaccac 600
 aaaaacgaag aagcaagtcc agcgagccca caaacatctg caagcacaac aagaacacaa 660
 aggaaaagcg tggaggccaa cacatcaaca acatacaacc aaactagtta acaaaaaata 720
 caaaataact ctaagataaa ccatgcagac accaacaatg gagaagtcaa aagacaattc 780
 acaatctccc caaaaaggca acaacacat attagctctg cccaaatctc cctggaaaaa 840
 acactcgccc atataccaaa aataccacaa ccaccaag aaaaaaactg ggcaaaacaa 900

 cacccaa 907

<210> 102
 <211> 907
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 102
 atggaggtga aagtgagaa cattcgaaca atagatatgc tcaaagcaag agtaaaaaat 60
 cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcctctttgg tcctcatagg aataactaca 120

 ttgagtattg ccttcaatat ctatctgac ataaactata aaatgcaaaa aaacacatct 180
 gaatcagaac atcacaccag ctcatcacc atggaatcca gcagagaaac tccaacggtc 240
 cccacagata attcagacac caactcaagc ccacaacatc caactcaaca gtccacagaa 300
 ggctccacac tctactttgc agcctcagca agctcaccag agacagaacc aacatcaaca 360
 ccagacacaa cagaccgccc gcccttcgtc gacacacaca caacaccacc aagcgcaagc 420
 agaacaaaga caagtccggc agtcacacaca aaaaacaacc caaggataag ctccagaaca 480
 cattctccac catgggcaac gacaaggacg gcacgcagaa ccaccactct ccgcacaagc 540
 agcacaagaa agagaccgtc cacagcatca gtccaaccgc acatcagcgc aacaaccac 600

 aaaaacgaag aagcaagtcc agcgagccca caaacatctg caagcacaac aagaacacaa 660
 aggaaaagcg tggaggccaa cacatcaaca acatacaacc aaactagtta acaaaaaata 720
 caaaataact ctaagataaa ccatgcagac accaacaatg gagaagtcaa aagacaattc 780
 acaatctccc caaaaaggca acaacacat attagctctg cccaaatctc cctggaaaaa 840
 acactcgccc atataccaaa aataccacaa ccaccaag aaaaaaactg ggcaaaacaa 900
 cacccaa 907

<210> 103
 <211> 907
 <212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 103

atggaggtga aagtgagaa cattcgaaca atagatatgc tcaaagcaag agtgaaaaat 60
cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcctctttga tcctaataagg aataactaca 120
ttgagtatag ccttcaatat ctatctgac ataaactata caatgcaaga aaacacatcc 180
gaatcagaac atcacaccag ctcatcacc atggaatcca gcagggaac tccaacggtc 240
cccatagaca actcagacac caatccaggc tcacagtatc caactcaaca gtccacagaa 300
gactccacac tccactctgc agcttcagca agctcaccag agacagaacc aacatcaaca 360
ccagacacaa caagccgccc gcccttcgtc gacacacaca caacaccacc aagtgaagc 420

aggacaagga caagtcggc agtccacaca aaaaacaatc caagggaag cccagaaca 480
cattccccac catgggcaat gacaaggacg gtccgaggaa ccaccactct ccgcacaagc 540
agcacaagaa aaagactgtc tacagcatca gtccaaccgc acagcagcgc aacaaccac 600
aaacacgaag aaacaagccc agtgagccca caaacatctg caagcacagc aagaccacaa 660
aggaagggca tggaggccag cacatcaaca acatacaacc aaactagtta acaaaaaata 720
caaaataact ctaagataaa ccatgtagac accaacaatt gagaagccaa aaggcaattc 780
acaatctccc aaaaagcaa caacaccata ttagctccgc ttaaatctcc ctgaaaaaaa 840
cactcaccca tataccaact ataccacaac catccaaga aaaaaggctg ggcaaaaaca 900

cacccaa 907

<210> 104

<211> 908

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 104

atggaggtga aagtgagaa cattcgaaca atagatatgc tcaaagcaag agtgaaaaat 60
cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcctctttga tcctaataagg aataactaca 120
ttgagtatag ccttcaatat ctatctgac ataaactata caatgcaaga aaacacatcc 180
gaatcagaac atcacaccag ttcatcacc atggaatcca gcagggaac tccaacggtc 240
cctatggaca actcagacac caatccaggc tcacagtatc caactcaaca gtccacagaa 300
ggctccacac tccactttgc agcttcagca agctcaccag agacagaacc aacatcaaca 360
ccagacacaa caagccgccc gcccttcgtc gacacacaca caacaccatc aagtgaagc 420

agaacaaaga caagtcggc agtccacaca aaaaacaatc taaggataag cccagaaca 480
cattccccac catgggcaat gacaaggacg gtccgtggaa ccaccactct ccgcacaagc 540
agcataagaa aaagaccgtc cacagcatca gtccaacctg acagcagcgc aacaaccac 600
aaacacgaag aagcaagccc agtgagcccg caagcatctg caagcacagc aagaccacaa 660
aggaagggca tggaggccag cacatcaaca acatacaacc aaactagtta acaaaaaata 720
taaaataact ctaagataaa ccatgtagac accaacaatt gagaagccaa aaggcaattc 780
acaatctccc caaaaaggca acaacacat attagctccg cttaaatctc cctggaaaaa 840
acactcgccc atataccaac tataccacaa ccatccaag gaaaaagct gggtaaaaca 900

acacccaa 908

<210> 105

<211> 908

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 105

atggaggtga aagtggagaa cattcgaaca atagatatgc tcaaagcaag agtgaaaaat 60
cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcctctttga tcctaataagg aataactaca 120
ttgagtatag ccttcaatat ctatctgata ataaactata caatgcaaga aaacacatcc 180
gaatcagaac atcacaccag ctcatcacc atggaatcca gcagagaaac tccaacgggc 240
cctatggaca actcagacac caatccaggc tcacagtatc caactcaaca gtccacagaa 300
ggctccacac tccactttgc agcctcagca agctcaccag agacagaacc aacatcaaca 360
ccagacacaa caagccgccc gcccttcgtc gacacacaca caacaccatc aagtgaagc 420

agaataagga caagtccggc agtccacaca aaaaacaatc taaggataag ccccagaaca 480
cattccccac catgggcaat gacaaggacg gtccgtggaa ccaccactct cgcacaaagc 540
agcataagaa aaagaccgtc cacagcatca gtccaacctg acagcagcgc aacaaccac 600
aaacacgaag aagcaagccc agtgagcccg caagcatctg caagcacagc aagaccacaa 660
aggaagggca tggaggccag cacatcaaca acatacaacc aaactagtta aaaaaaata 720
tacaataact ctaagataaa ccatgtagac accaacaatt gagaagccaa aaggcaattc 780
acaatctccc caaaaaggca acaacacat attagctccg cttaagtctc cctggaaaaa 840
acactcgccc atataccaac tataccacaa ccatccaaag aaaaaaagct gggcaaaaca 900

acacccaa 908

<210> 106

<211> 888

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 106

atggaggtga aagtagagaa cattcgagca atagacatgc tcaaagcaag agtgaaaaat 60
cgtgtggcac gtagcaaatg ctttaaaaat gcttctttaa tctcatagg aataactaca 120
ctgagtatag ctctcaatat ctatctgata ataaactaca caatacaaaa aaccacatcc 180
gaatcagaac accacaccag ctccaccacc acagaacca acaaggaagc ttcaacaatc 240
tccacagaca acccagacat caatccaagc tcacagcacc caactcaaca gtccacagaa 300
aacccacac tcaaccccg agcatcagcg agcccatcag aaacagaacc agcatcaaca 360
ccagacacaa caaacgcct gtctccgta gacaggtcca cagcacaacc aagtgaagc 420

agaacaaaga caaaaccgac agtccacaca atcaacaacc caaacacagc ttccagtaca 480
caatccccac caccgacaac aacgaaggca atccgcagag ccaccacttt ccgcatgagc 540
agcacaggaa aaagaccaac cacaacatta gtccagtcgg acagcagcac cacaacccaa 600
aatcatgaag aaacagggtc agcgaacca caggcgtctg caagcacaat gcaaaactag 660
cacaccaata atataaaacc aaattagtta acaaaaaatg cgagatagct ctaaagcaaa 720
acatgtagg accaacaatc aagaacacaa aagacaactc acaatctccc taaaacagca 780
acgacacat gttagctttg ctcaaatctc tctgggagaa acttctacc acatactaac 840
aacatcaca ccatctcaag aaaagaaact gggcaaaaca gcatccaa 888

<210> 107

<211> 888

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 107

atggaggtga aagtagagaa cattcgagca atagacatgc tcaaagcaag agtgaaaaat 60
cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcttctttaa tctcatagg aataactaca 120
ctgagtatag ccttcaatat ctatctgata ataaactaca caatacaaaa aaccacatct 180
gaatcagaac accacactag ctccaccacc acagaatcca acaagaaac ttcaacaatc 240

cccatagaca acccagacat caatccaaac tcacagcadc caaccaaca gtccacagaa 300
agccccacac tcaacccgcg agcctcgggtg agcccatcag aaacagaacc agcatcaaca 360
ccagacacaa caaacgcctt gtcctccgta gacagatcca caacacaacc aagtgaagc 420

agaacaaaga caaaaccaac agtccacaca aaaaacaatc caagtacagt ttccagaaca 480
caatccccac tacgggcaac aacgaaggcg gtccctcagag ccaccgcttt ccgcacgagc 540
agcacaaaga aaagaccaac cacaacatca gtccagtcctg acagcagcac cacaacccaa 600
aatcatgaag aaacaagttc agcgaacca caggcatctg caagcacaat gcaaagccag 660
cacaccaaca acataaaacc aaattagtta acaaaaaata cgagatagct ctaaagtaaa 720
acatgtagggt accaacaatc aaggaatcaa aagacaactc acaatctccc taaaacagca 780
acaacatcat gtcagttttg ctcaaatctc cctgggagaa actttcgccc acatactaac 840
aacatcacia ccatctcaag aaaagaaact gggcaaaaca gcacccaa 888

<210> 108

<211> 888

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 108

atggagggtga aagtagagaa catccgagca gtagacatgc tcaaagcaag agtcaaaaat 60
cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gctctcttaa tctctgtagg aataactaca 120
ctgagcatag cctcaatat ctatctgac gttaactaca caatacaaaa aaccacatcc 180
gaatcagaac accacaccag ctcatcacc acagaatcca acaaaggaac ttcaacaatc 240
cccacagaca acccagacat caatccaaat tcacaacatc caactcaaca gtccacagaa 300
agccccacac tcaacaccgc agcctcgggtg agcccatcag aaacagaacc agcatcaaca 360
ccagacacaa caaacgcctt gtcctccgca gacagatcca caacacaacc aagtgaagc 420

agaacaaaga caaagctgac agtccacaca aaaaacaacc taagtacagc ctccagaaca 480
caatcaccac cacgggcaac aacgaaggcg gtccctcagag acaccgctt ccacacgagc 540
agcacaggaa aaagaccaac cacaacatca gtccagtcctg gcagcagcac cacaactcaa 600
aatcatgaag aaacaagttc atcgaacca caggcatctg caagcacaat gcaagaccag 660
gacaccaaca atacaaaaca aaattagtta acaaaaaata caagatagct ctaaagtaaa 720
acatgtagggt accaacagta aagaaatcaa aagacaactc acaatctccc caaacagca 780
acaacatcat gtcagtttcg ctcaaatctc cctgggagaa actctcgccc acatactaac 840
aacatcacia ctatctcaag aaaagaaact gggcaaaaaa acactcaa 888

<210> 109

<211> 887

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 109

atggagggtga aagtagagaa catccgagca gtagacatgc tcaaagcaag agttaaaaat 60
cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gctctcttaa tctctgtagg aataactaca 120
ctgagtatag cctcaatat ctatctgac gttaactaca caatacaaaa aaccacatcc 180
gaatcagaac accacactag ctcatcacc acagaatcca acaaaggaac ttcaacaatc 240
ccacagacaa cccagacatc aatecaaat cacaacatcc aactcaacag tccacagaaa 300
gccccacact caacaccgca gcctcgggtga gccatcaga aacagaacca gcatcaaac 360
cagacacaa aaaccgcctg tctccgcag acagatccac aacacaacca agtgaaagca 420

gaacaaagac aaagctgaca gtccacacaa aaaacaacct aagtacagcc tccagaacac 480

aatcaccacc acgggcaaca acgaaggcgg tcctcagaga caccgccttc cacacgagca 540
gcacagga aaagaccaacc acaacatcag tcagctctgg cagcagcacc acaactcaaa 600
atcatgaaga aacaagtcca tcgaacccac aggcattctgc aagcacaatg caagaccagg 660
acaccaacaa taaaaaaca aattagttaa caaaaaatac aagatagctc taaagtataa 720
catgtaggta ccaacagtaa agaaatcaaa agacaactca taatctcccc aaaacagcaa 780
caacatcatg tcagcttcgc tcaaatctcc ctgggagaaa ctctcgccca cataactaaca 840
acatcacaac tatctcaaga aaagaaactg ggcaaaaaaa cactcaa 887

<210> 110

<211> 888

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 110

atggaggtga aagtagagaa cattcgagca atagacatgc tcaaagcaag aatgaaaaat 60
cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcttctttaa tcctcatagg aataactact 120
ctgagtatag ccttcaatat ctatctgac ataaactaca caatacaaaa aaccacatct 180
gaatcagaac accacactag ctaccacccc acagaatcca acaaagaaac ttcaacaatc 240
cctatagaca acccagacat caatccaaac tcacagcatc caactcaaca gtccacagaa 300
agcctcacac tcaaccccg agcctcggtg agcccatcag aaacagaacc agcatcaaca 360
ccagacacaa caaacccgct gtcttcgta gacagatcca caacacaacc aagtgaagc 420

agaacaaaga caaaactgac agtcacacaa aaaaacatcc caagtacagt ctctagaaca 480
caatcctcaa tacgggcaac aacgaaggcg gtctcagag ccaccgcctt tcgcacgagc 540
agcacaggag aaagaccaac tacaacatca gtccagctcg acagcagcac cacaacccaa 600
aatcatgaag aaacaggttc agcgaaccca caggcatctg caagcacaat gcaaaactag 660
cacaccaaca ttgtaaaacc aaattagtta acaaaaaata tgaaatagct ctaaagtataa 720
acatgtagggt gctaaacaatc aagaaatcaa aagacatctc ataactctc caaacagca 780
acaacatcat gtcaactttg ctcaaatctc cctgggagaa actttcgccc ccatactgac 840
aacatcaca tcatctcaag aaaagaaact ggcaaaaaca gcacaaa 888

<210> 111

<211> 888

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 111

atggaggtga aagtagagaa cattcgagca atagacatgc tcaaagcaag agtgaataat 60
cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcttctttaa tcctcatagg aataactact 120
ctgagtatag ccttcaatat ctatctgac ataaactaca caatacaaaa aaccacatct 180
gaatcagaac accacactag ctaccacccc acagaatcta acaaagaaac ttcaacaatc 240
tctatagaca acccagacat caatccaaac tcacagcatc caactcaaca gtccacagaa 300
agcctcacac tcagccccc agcctcggtg agcccatcag aaacagaacc agcatcaaca 360
tcagacacaa caagccgct gtcttcgta gacagatcca caacacaacc aagtgaagc 420

agagcaagga caaaaccgac agtcacacaa aaaaacatcc caagtacagt ttctagaaca 480
caatccccac tacgggcaac aacgaaggcg gtctcagag ccaccgcctt tcgcacgagc 540
agcacaggag agggaccaac cacaacatcg gtccagctcg acagcagcac cacaacccaa 600
aatcatgaag aaacaggttc agcgaaccca caggcatctg caagcacaat gcaaaactag 660
cacaccaaca ttgtaaaacc aaattagtta acaaaaaata tgaaatagtt ctaaagtataa 720
acatgtagggt gctaaacaatc aagaaatcaa aagacaactc ataactctc taaaacagca 780
acaacatcat gtcaactttg ctcaaatctc cctgggagaa actttcgccc ccatactgac 840

aacatcaciaa tcattctcaag aaaagaaact gggcaaaaaca gcaccaaa 888

<210> 112

<211> 888

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 112

atggaggtga aagtagagaa cattcgagca atagacatgc tcaaagcaag agtgaaaaat 60
cgtgtggcac gtagcaaatg ctttaaaaat gcttctttaa tcctcatagg aataactaca 120
ctgagtatag ctctcaatat ctatctgac ataaactaca caatacaaaa aaccacatct 180
gaatcagaac accacaccag ctcaccaccc acagaatcca acaaggaagc ttcaacaatc 240
tccacagaca atccagacat caatccaaac tcacagcatc caactcaaca gtccacagaa 300
aaccacacac taaccccgct agcatcggtg agtcatcag aaacagaacc agcatcaaca 360
ccagacacaa caaacccgct gtcttcgta gacaggtcca cagcacaacc aagtgaagc 420

agaacaaaga caaacccgac agtccacaca agaacaacc caagcacagc ttccagcaca 480
caatccccac caccggtaac aacgaaggca atctcagag ccaccgtctt ccgcatgagc 540
agcacaggaa aaagaccagc cacaacatta gtccagtcg acagcagcac cacaacccaa 600
aatcatgaag aaacaggttc agcaaaactca caggcatctg caagcacaat gcaaaactag 660
cactccaaca atataaaacc aaattagtta acaaaaaata cgagatagct ctaaaagtaa 720
acatgtaggc accaacaatc aggaatttaa aagacaactc acaacctccc taaaacagca 780
acgacaccat gtcaactttg ctcaaatctc tctgggagaa acttttgccc acatactaac 840
aacatcaciaa tcattctcaag aaaagaaact gggcaaaaaca gcatccaa 888

<210> 113

<211> 888

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 113

atggaggtga aagtagagaa cattcgagca atagacatgc tcaaagcaag agtgaaaaat 60
cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcttctttaa tcctcatagg aataactact 120
ctgagtatag cctcaacat ctatctgac ataaactaca caatacaaaa aaccacatct 180
gaatcagaac accacactag ctcaccaccc acagaatcta acaagaaac ttcaacaatc 240
tctatagaca actcagacat caatccaaac tcacagcatc caactcaaca gtccacagaa 300
agcctcacac tcagccccac agcctcggtg agcccatcag aaacagaacc agcatcaaca 360
tcagacacaa caaacccgct gtcttcgta gacagatcca caacacaacc aagtgaagc 420

agagcaagaa caaacccgac agtccacaag aaaaacatcc caagtacagt ttctagaaca 480
caatccccac tacgggcaac aacgaaggcg gtctcagag ccaccgctt tcgcatgagc 540
agcacaggag agggaccaac cacaacatcg gtccagtcg acagcagcac cacaacccaa 600
aatcatgaag aaacaggttc agcgaacca caggcatctg caagcacaat gcaaaaccag 660
cacaccaaca ttgcaaaacc aaattagtta acaaaaaata tgaaatagtt ctaaaagtaa 720
acatgtaggc gccaacaatc aagaaatcaa aagacaactc acaatctccc taaaacagca 780
acaacatcat gccaactttg ctcaaatctc cctgggagaa accctcgccc ccatactgac 840
aacatcaciaa tcattctcaag aaaagaaact gggcaaaaaca gcaccaaa 888

<210> 114

<211> 888

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 114

atggaggtga aagtagagaa cattcgagca atagacatgc tcaaagcaag agtgaaaaat 60
cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcttctttaa tctcatagg aataactact 120
ctgagtatag ccttcaatat ctatctgac ataaactaca caatacaaaa aaccacatct 180
gaatcagaac accacactag ctcaccaccc acagaatcta acaaggaaac ttcaacaatc 240
cctatagaca acccagacat caatccaaac tcacagcatc caactcaaca gtccacagaa 300
agcctcacac tctacccac atcctcgggtg agctcatcag aaacagaacc agcatcaaca 360
ccaggcataa caaaccacct gtcttttga gacagatcca caacacaacc aagtgaagc 420

agaacaaaga caaacccggac agtcacacaa aaaaacatct caagtacagt ttctagaaca 480
cagtccccac cacggacaac agcgaaggcg gtccccagag ccaccgcct tcgcacgagc 540
agcacaggag aaagaccaac cacaacacca gtccagcccg atagcagcac cacaacacaa 600
aatcatgaag aaacaggctc agcgaaccca caggcatccg caagcacaat gcaaaaccag 660
cacaccaaca ttgcaagacc aaattagtta acaaaaaata tgaaatagct ctaaagtaaa 720
acatgtagggt gccacaacatc aagaaatcaa aagataactc ataattcttc taaaacatca 780
acaacatcat gttaactttg ctcaaatctc tctgggagaa accttcgccc ccatactggc 840
aacatcacia tcatctcaag aaaagaaact gggcaaaaca acacacaa 888

<210> 115

<211> 888

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 115

atggaggtga aagtagagaa cattcgagca atagacatgc tcaaagcaag agtgaaaaat 60
cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcttctttaa tctcatagg aataactact 120

ctgagtatag ccttcaatat ctatctgac ataaactaca caatacaaaa aaccacatct 180
gaatcagaac accacactag ctcaccaccc acagaatcta acaaggaaac ttcaacaatc 240
cctatagaca acccagacat caatccaaac tcacagcatc caactcaaca gtccgcagaa 300
agcctcacac tctacccac atcctcgggtg agctcatcag aaacagaacc agcatcaaca 360
ccaggcataa caaaccacct gtcttttga gacagatcca caacacaacc aagtgaagc 420
agaacaaaga caaacccggac agtcacacaa aaaaacatct caagtacagt ttctagaaca 480
cagtccccac cacggacaac agcgaaggcg gtccccagag ccaccgcct tcgcacgagc 540
agcacaggag aaagaccaac cacaacacca gtccagcccg atagcagcac cacaacacaa 600

aatcatgaag aaacaggctc agcgaaccca caggcatccg caagcacaat gcaaaaccag 660
cacaccaaca ttgcaagacc aaattagtta acaaaaaata tgaaatagct ctaaagtaaa 720
acatgtagggt gccacaacatc aagaaatcaa aagataactc ataattcttc taaaacatca 780
acaacatcat gttaactttg ctcaaatctc tctgggagaa accttcgccc ccatactggc 840
aacatcacia tcatctcaag aaaagaaact gggcaaaaca acacacaa 888

<210> 116

<211> 888

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 116

atggaggtga aagtagagaa tattcgagca atagacatgc tcaaagcaag agtgaaaaat 60
cgtgtggcac gcagcaaatg ctttaaaaat gcttctttaa tcctcatagg aataactact 120
ctgagtatag cctcaatat ctatctgac ataaactaca caatacaaaa aaccacatct 180
gaatcagaac accacactag ctccaccacc acagaatcta acaaggaaac ttcaacaatc 240
cctatagaca acccagacat caatccaaac tcacagcatc caactcaaca gtccacagaa 300
agcctcacac tctacccac atcctcggtg agctcatcag aaacagaacc agcatcaaca 360
ccaggcataa caaacacct gtcctttgta gacagatcca caacacaacc aagtgaagc 420

agaacaaaga caaacgggac agtccacaaa aaaaacatct caagtacagt ttctagaaca 480
cagtcccccac caccgacaac agcgaaggcg gtcccagag ccaccgcct tcgcacgagc 540
agcacaggag aaagaccaac cacaacacca gtccagcccg atagcagcac cacaacacaa 600
aatcatgaag aaacaggctc agcgaacca caggcatccg caagcacaat gcaaaaccag 660
cacaccaaca ttgcaagacc aaattagtta acaaaaaata tgaaatagct ctaaagtaaa 720
acatgtagggt gccacaatc aagaaatcaa aagataactc ataactctc taaaacatca 780
acaacatcat gtaactttg ctcaaatctc tctgggagaa accttcgccc ccatactggc 840
aacatcaca tcatctcaag aaaagaaact gggcaaaaca acacccaa 888

<210> 117

<211> 888

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 117

atggaggtga aagtagagaa cattcgagca atagacatgc tcaaagcaag agtgaaaaat 60
cgtgtggcac gtagcaaatg ctttaaaaat gcttctttaa tcctcatagg aataactaca 120
ctgagcatag cctcaatat ctatctgac ataaactaca caatacaaca aaccacatct 180
gaatcagaac accacaccag ctccaccacc acagaatcca acaagggaagc ttcaacaatc 240
tccacagaca acccagacat caatccaaac tcacagcatc caactcaaca gtccacagaa 300
aacccccac tcaaccagc agcatcagcg agcccatcag aaacagaatc agcatcaaca 360
ccagatacaa caaacgcct gtcctccgta gacaggcca cggtaacaacc aagtgaagc 420

agaacaaaga caaaactgac agtccacaca agaaacaacc taagcacagc ctccagtaca 480
caatccccac caccgggcaac aacgaaggca atccgcagag ccaccaccct ccgcatgagc 540
agcacaggaa gaagaccaac cacaacacta gtccagtcg acagcagcac cacaacccaa 600
aatcatgaag aaacaggctc agcgaacca caggcatctg caagcacaat gcaaaaccag 660
cacaccaaca atataaaacc aaattagtta acaaaaaata cgagatagct ctaaagtaaa 720
acatgtaggc accaacaatc aagaaaccaa aagataactc acaatcccc caaaacagca 780
acgacacat gtcagcttg ctcaaatctc tctgggagaa actttgccc acatactaac 840
aacatcaca ccatctcaag aaaagaaact gggcaaaaca gcattcaa 888

<210> 118

<211> 888

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 118

atggaggtga aagtagagaa cattcgagca atagacatgc tcaaagcaag agtgaaaaat 60
cgtgtggcac gtagcaaatg ctttaaaaat gcttctttaa tcctcatagg aataactaca 120
ctgagcatag cctcaatat ctatctgac ataaactaca caatacaaaa aaccacatct 180
gaatcagaac accacaccag ctccaccacc acagaatcca acaagggaagc ttcaacaatc 240
tccacagaca acccagacat caatccaaac tcacagcatc caactcaaca gtccacagaa 300
aacccccac tcaaccagc agcatcagcg agcccatcag aaacagaatc agcatcaaca 360
ccagatacaa caaacgcct gtcctccgta gacaggcca cggtaacaacc aagtgaagc 420

agaacaaaga caaaactgac agtccacaca agaaacaacc taagcacagc ctccagtaca 480
 caatccccac cacgggcaac aacgaaggca atccgcagag ccaccaccct ccgcatgagc 540
 agcacaggaa gaagaccaac cacaacacta gtccagtccg acagcagcac cacaacccaa 600
 aatcatgaag aaacaggctc agcgaacceca caggcatctg caagcacaat gcaaaaccag 660
 cacaccaaca atataaaacc aaattagtta acaaaaaata cgagatagct ctaaagttaa 720
 acatgtaggc accaacaatc aagaaaccaa aagataactc acaatcccc caaaacagca 780
 acgacaccat gtgagctttg ctcaaatctc tctgggagaa acttttgccc acataactaac 840
 aacatcacia ccatctcaag aaaagaaact gggcaaaaca gcatccaa 888

<210> 119

<211> 901

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 119

atggaagtaa gagtggagaa cattcgagcg atagacatgt tcaaagcaaa gataaaaaac 60
 cgtataagaa gcagcaggtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg actaacagcg 120
 ttaagcatgg cacttaatat tttcctgac atcgatcatg caacattaag aaacatgac 180
 aaaacagaaa actgtgctaa catgccgtcg gcagaaccaa gcaaaaagac cccaatgacc 240
 tccacagcag gcccaaacac caaacccaat ccacagcaag caacacagtg gaccacagag 300
 aactcaacat ccccgatagc aacccagag ggccatccat acacaggagc aactcaaaca 360
 tcagacacia cagctcccca gcaaacaca gacaaacaca cagcacgctg aaaatcaacc 420

aatgaacaga tcaccagac aaccacagag aaaaagacaa tcagagcaac aacccaaaaa 480
 agggaaaaag gaaaagaaaa cacaaccaa accacaagca cagctgcaac ccaaacaacc 540
 aacaccacca accaaatcag aaatgcaagt gagacaatca caacatccga cagaccaga 600
 actgacacca caacccaaag cagcgaacag acaaccggg caacagacc aagctcccca 660
 ccacaccatg catagagagg tgcaaaactc aaatgagcac aacacacaaa catcccatcc 720
 aagtagttaa caaaaaacca caaaataacc ttgaaaacca aaaaaccaa acataaacc 780
 agaccagaa aaacatagac accatatgga aggttctagc atatgcacca atgagatggc 840
 atctgttcat gtatcaatag caccaccatc attcaaggaa taagaagagg cgaatatta 900

a

901

<210> 120

<211> 901

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 120

atggaagtaa gagtggagaa cattcgagcg atagacatgt tcaaagcaaa gataaagaac 60
 cgtataagaa gcagcaggtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg actaacagcg 120
 ttaagcatgg cacttaatat tttcctgac attgatcatg caacattaag aaacatgac 180
 aaaacagaaa actgtgctaa catgccatcg gcagaaccaa gcaaaaagac cccaatgacc 240
 tccacagcag gcccaagcac cgaacccaat ccacagcaag caacacaatg gaccacagag 300
 aactcaacat ccccgagcag aaccctagag agccatccat acacaggagc aacccaaaca 360
 ccagacataa cagctcccca acaaaccaca gacaaacaca cagcactgcc aaaatcaacc 420

aatgaacaga tcaccagac aaccacagag aaaaagacaa ccagagcaac aacccaaaaa 480
 agggaaaaag aaaaagaaaa cacaaccaa accacaagca cagctgcaac ccaaacaacc 540
 aacaccacca accaaaccag aaatgcaagt gagacaatca caacatccga cagaccaga 600
 attgacacca caacccaaag cagcgatcag acaaccggg caacagacc aagctcccca 660
 ccacaccatg cacagagtgg tgcaaaacc aaatgaacac aacacacaaa catctcatcc 720

aagtagttaa caaaaaacca caaaataacc ttgaaaacca aaaaaccaa ccacaaactt 780
agaccagaa aaacatagac actatatgga aggtttgagc atatgcacca atgaaatggt 840
atctgttcat gtatcaatag cgccaccatt atttaaggaa taagaagagg caaaaattca 900

a 901

<210> 121

<211> 860

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 121

atggaagtaa gaggaggagaa cattcgagcg atagacatgt tcaaagcaaa gataaaaaac 60
cgtataagaa gcagcagggtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg actaacagcg 120
ttaagcatgg cacttaatat tttcttgatc atcgatcatg caacattaag aaacatgac 180
aaaacagaaa attgtgctaa catgccgccg gcagaaccaa gcaaaaagac cccaatgacc 240
tctacagcag gcccaaacac caaacccaat ccacagcaag caacacagtg gaccacggag 300
aactcaacat tcccagcagc aacctcagag ggccatctac acacaggagc aactcaaaca 360
ccagacacaa cagctcctca gcaaacacac gacaaacaca cagcactgcc aaaatcaacc 420

aatgaacaaa tccccagac aaccacagag aaaaagacaa ccagagcaac aacccaaaga 480
agggaaaaag ggaagaaaa cacaaccaa accacaagca cagctgctac ccaaacacac 540
aacaccacca accaaatcag aaatgcaagc gagacaatca caacatccga cagaccaga 600
actgactcca caacccaaag cagcgaacag acaaccagg caacagaccc aagctcccca 660
ccacatcatg cacagggaag tgcaaaaccc aaatgaacac aacacacaaa catcccatcc 720
aagtagttaa caaaaaatca gaccagaaa aacatagaca ctatatggaa ggtccgagca 780
tatgcaccga tgaatggca tttgttcatg tatcaatagc gccaccatta ttttaaggaa 840
aagaagaggc aaaaattcaa 860

<210> 122

<211> 861

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 122

atggaagtaa gaggaggagaa cattcgagcg atagacatgt tcaaagcaaa gataaaaaac 60
cgtataagaa gcagcagggtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg actaacagcg 120
ttaagcatgg cacttaatat tttcttgatc atcgatcatg caacattaag aaacatgac 180
aaaacagaaa attgtgctaa catgccgccg gcagaaccaa gcagaaagac cccaatgacc 240
tccacagcag gcccaaacac caaacccaat ccacagcaag caacacagtg gaccacggag 300
aactcaacat ccccagcagc aacccagag ggccatctac acacaggagc aactcaaaca 360

ccagacacaa cagctcctca gcaaacacac gacaaacaca cagcactgcc aaaatcaacc 420
aatgaacaga tccccaggc aaccacagag aaaaagacaa ccagagaaac aacccaaaga 480
agggaaaaag gaaagaaaa cacaaccaa accacaagca cagctgcaac ccaaacacac 540
aacaccacca accaaatcag aaatgcaagc gagacaatca caacatccga cagaccaga 600

actgactcca caacccaaag cagcgaacag acaaccagg caacagaccc aagctcccca 660
gcacaccatg cacagggaag tgcaaaaccc aaatgaacac aacacacaaa catcccatcc 720
aagtagttaa caaaaaatc agaccagaa aaacacagac actatatgga aggtccgagc 780
atatgcaccg atgaaatggc atctgttcat gtatcaatag caccaccatt atttaaggaa 840

taagaagagg caaaaattca a 861

<210> 123

<211> 860

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 123

atggaagtaa gagtggagaa cattcgagcg atagacatgt tcaaagcaaa gataaaaaac 60
cgtataagaa gcagcaggtg ctatagaaat gctacattga tccttattgg actaacagcg 120
ttaagcatgg cacttaatat ttctctgac atcgatcatg caacattaag aaacatgac 180
aaaacagaaa attgtgctaa catgccaccg gcagaaccaa gcaaaaagac cccaatgacc 240
tccacagcag gcctaaacac taaacccaat ccacagcaag caacacagtg gaccacggag 300
aactcaacat ccccgagcgc aaccccgag ggccatctac acacagggac aactcaaaca 360
ccagacacaa cagctcctca gcaaaccaca gacaagcaca cagcactgcc aaaatcaacc 420

aatgaacaga tcacccagac aaccacagag aaaaagacaa ccagagcaac aacccaaaga 480
agggaagaa gaaaagaaaa cacaaccaa accacaagca cagctgcaac ccaaacaacc 540
aacaccacca accaaatcag aaatgcaagc gagacaatca caacatccga cagaccaga 600
actgactcca caacccaaag cagcgaacag acaacccggg caacagaccc aagctccca 660
ccacaccatg cacagggag tgcaaaaccc aaatgaacac aacacacaaa catcccatcc 720
aagtagttaa caaaaaatca gaccagaaa aacatagaca ctatatggaa ggtccgagca 780
tatgcaccga tgaatggca tctgttcac tatcaatagc gccaccatta ttaaggaat 840
aagaagaggc aaaaattcaa 860

<210> 124

<211> 860

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 124

atggaagtaa gagtggagaa cattcgagcg atagacatgt tcaaagcaaa gataaaaaac 60
cgtataagaa gcagcaggtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg actaacagcg 120
ttaagcatgg cacttaatat ttctctgac atcgatcatg caacattaag aaacatgac 180
aaaacagaaa attgtgctaa catgccgccc gcagaaccaa gcaaaaagac cccaatgacc 240
tccacagcag gcccaaacac caaacccaat ccacagcaag caacacagtg gaccacggag 300
aactcaacat ccccgagcgc aaccccgag ggccatctac acacagggac aactcaaaca 360
ccagacacaa cagctcctca gcaaaccaca gacaaacaca cagcactgcc aaaatcaacc 420

aatgaacaga tcacccagac aaccacagag aaaaagacaa ccagagcaac aacccaaaga 480
agggaagaa gaaaagaaaa cacaaccaa accacaagca cagctgcaac ccaaacaacc 540
aacaccacca accaaatcag aaatgcaatt gagacaatca caacatccga cagaccaga 600
actgactcca caacccaaag cagcgaacag acaacccggg caacagaccc aagctccca 660
ccacaccatg cacagggag tgcaaaaccc aaatgaacac aacacacaaa catcccatcc 720
aagtagttaa caaaaaatca gaccagaaa aacatagaca ctatatggaa ggtccgagca 780
tatgcaccga tgaatggca tctgttcac tatcaatagc gccaccatta ttaaggaat 840
aagaagaggc aagaattcaa 860

<210> 125

<211> 886

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 125

atggaagtaa gagtggagaa cattcgggca atagacatgt tcaaagcaaa aatgaaaaac 60
cgtataagaa gtagcaagtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg attaacagca 120
ttaagtatgg cacttaatat ttttttaatc attgattatg caatgttaaa aaacatgacc 180
aaagtggaa actgtgttaa tatgccgccg gtagaaccaa gcaagaagac cccaatgacc 240
tctgcagtag acttaaacac caaacccaat ccacagcagg caacacagtt ggccgcagag 300
gattcaacat ctctagcagc aacctcagag gaccatctac acacagggac aactccaaca 360
ccagatgcaa cagtctctca gcaaaccaca gacgagtaca caacattgct gagatcaacc 420

aacagacaga ccacccaaac aaccacagag aaaaagccaa ccggagcaac aacccaaaaa 480
gaaaccacaa ctcgaaactac aagcacagct gcaacccaaa cactcaacac taccaacca 540
actagctatg tgagagaggc aaccacaaca tccgccagat ccagaaacag tgccacaact 600
caaagcagcg accaaacaac ccaggcagca gacccaagct cccaaccaca ccatacacag 660
aaaagcacia caacaacata caacacagac acatcctctc caagtagtta aaaaaaaac 720
tataaaataa tcatgaaac cgaaaaacta gaaaagttaa tttgaactca gaaaagaaca 780
caaacactat atgaattgtt tgagcgata tactaatgaa atagcatctg tttgtgcatc 840
aataatacca tcattattta agaaataaga agaagctaaa attcaa 886

<210> 126

<211> 889

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 126

atggaagtaa gagtggagaa cattcggaca atagacatgt tcaaagcaaa gatgaaaaac 60
cgtataagaa gcagcaagtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg actgacagca 120
ttaagtatgg cacttaatat tttcttgatc atcgattatg caacatttaa aaacatgacc 180
aaagtggaa actgtgctaa tatgccgccg gtagaaccca gtaagaagac cccaatgacc 240
tctacagtag actcaagcac cggacccaat ccacagcaga caacacagtg gaccacagag 300
gattcaacat ctctagcagc aacctcagag gaccatctac acacagggac aactccaaca 360
ctagatgcaa cagttttctca gcaaaccaca gacaagcaca caacaccgct gagatcaacc 420

aatggacaga ccacccagac aaccacagag aaaaagccaa ccagagcaat agccaaaaaa 480
gaaaccacaa accaaaccac aagcacagct gcaacccaaa cattcaacac caccaatcaa 540
accagaaatg gaagagagac aaccataaca tctgccagat ccagaaacga cgccacaact 600
caaagcagcg aacaaacaaa ccagacaaca gacccaagct cccaaccaca tcatgcatag 660
ataagcacia taacaatatg aacacaacac agacacatct tctccaagta gttaacaaaa 720
aactataaaa taacatgaa aacccaaaaa ctagaaaagt aaatttgaac tcagaaaaga 780
acacaacac taaatgaatt gtttgagcat atatactaat gaaatagcat ctgttcatgc 840
atcaataata ccatcattac ttaagaaata agaagaagca aaaattcaa 889

<210> 127

<211> 885

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 127

atggaagtaa gagtggagaa cattcgggca atagacatgt tcaaagcaaa gatgaaaaac 60
cgtataagaa gtagcaagtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg attaacagca 120
ttaagtatgg cacttaatat ttttttaatc attgattatg caatgttaaa aaacatgacc 180

aaagtggaac actgtgttaa tatgccgccg gtagaaccaa gcaagaagac cccaatgacc 240
tctgcagtag acttaaacac caaactcaat ccacagcagg caacacagtt gaccacagag 300
gattcaacat ctctagcagc aacctcggag gatcatttac tcacaggac aactccaaca 360
ccagatgcaa cagtctctca gcaaaccaca gacgagcaca caacactgct gagatcaacc 420

aacagacaga ccacccaaac aaccacagag aaaaagccaa ccggagcaac aacccaaaaa 480
gaaaccacaa ctgaaccac aagcacagct gcaacccaaa cactcaacac caccaaccaa 540
actagcaatg gaagagagcg aaccacaaca tccaccagat ccagaaacgg tgccacaact 600
caaaacacgc atcaacaac ctagacagca gaccaagct cccaaccaca ccatacacag 660
aaaagcacia caacaacata caacacagac acatcttctc caagtagtta aaaaaaaact 720
ataaaataac catgaaaact aaaaaactag aaaagttaat ttgaactcag aaaagaacac 780
aaacactata tgaattgttt gagcgtatat actaatgaaa tagcatctgt ttgtgcatca 840
ataatacat cattatttaa gaaataagaa gaagctaaaa ttcaa 885

<210> 128

<211> 885

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 128

atggaagtaa gaggaggagaa cattcgggca atagacatgt tcaaagcaaa gatgaaaaac 60
cgcataagaa gtagcaagtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg attaacagca 120
ttaagtatgg cacttaatat ttttttaatc attgattatg caacattaaa aaacatgacc 180
aaagtggaac actgtgttaa tatgccgccg gtagaaccaa gcaagaagac cccaatgacc 240
tctgcagtag acttaaacac caaactcaat ccacagcagg caacacagtt gaccacagag 300
gattcaacat ctctagcagc aacctcagag ggccatccac acacaggaac aactccaaca 360
ccagacgcaa cagtctctca gcaaaccaca gacgagcaca caacactgct gagatcaacc 420

aacagacaga ccacccaaac agccacagag aaaaagccaa ctggagcaac aacccaaaaa 480
gaaaccacaa cccgaactac aagtacagct gcaacccaaa caccacacac caccaaccaa 540
accagcaatg gaagagagcg aaccacaaca tccgccaggt ccagaaacgg tgccacaact 600
caaaacacgc atcaaataac ccaggcagca gactcaagct cccaaccaca ccatacacag 660
aaaagcacia caacagcata caacacagac acatcttttc caagtagtta aaaaaaaact 720
ataaaataac catgaaaacc aaaaaactag aaaagttaat ttgaactcag aaaagaacac 780
aaacactata tgaattgttt gagcgtatat actaatgaaa tagcatctgt ttgtgcatca 840
ataatacat cattatttaa gaaataagaa gaagctaaaa ttcaa 885

<210> 129

<211> 886

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 129

atggaagtaa gaggaggagaa cattcgggca atagacatgt tcaaagcaaa gatgaaaaac 60
cgtataagaa gtagcaagtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg attaacagca 120
ctaagtatgg cacttaatat ttttttaatc attgattatg caacattaaa aaacatgacc 180
aaagtggaac actgtgttaa tatgccgccg gtagaaccaa gcaagaagac cccaatgacc 240
tctgcagtag actcaaacac caaacccaat ccacagcagg caacacagtt gaccacagag 300
gattctacat ctttagcagc aaccttagag gaccatccac acacaggac aactccaaca 360
ccagatgcaa cagtctctca gcaaaccaca gacgagcaca caacactgct gagatcaacc 420

aacagacaga ccacccaaac aactgcagag aaaaagccaa ccagggaac aacccaaaaa 480
gaaaccacaa ctgaaccac aagcacagct gcaacccaaa cactcaacac caccaaccaa 540
actagcaatg gaagagagcg aaccacaaca tctgccagat ccagaaacaa tgccacaact 600

```

caaagcagcg atcaacaac ccaggcagca gaaccaagct cccaatcaca acatacacag 660
aaaagcacia caacaacata caacacagac acatcttctc taagtagtta acaaaaaaac 720
tataaaataa ccatgaaaac caaaaaacta gaaaagttaa tttgaactca gaaaagaaca 780
caaacactat atgaattatt tgagcgtata tactaatgaa atagcatctg tttgtgcatc 840
aataatacca tcattattta agaaataaga agaagctaaa attcaa 886

```

<210> 130

<211> 887

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 130

```

atggaagtaa gagtggagaa cattcgggca atagacatgt tcaaagcaaa gatgaaaaac 60
cgtataagaa gtagcaagtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg attatcagca 120
ctaagtatgg cacttaatat ttttttaatc attgattatg caaaatcaaa aaacatgacc 180
agagtggaa actgtgtcaa tatgccgccc gtagaaccaa gcaagaagac cccaatgacc 240
tctgcagtag acttaaacac caaacccaat ccacagcggg caacacagtt gaccacagag 300
gattcaacat ctctagcagc aaccttagag ggccatctac acacagggac aactccaaca 360
ccagatgtaa cagtctctca gcaaacca caacactgct gagatcaacc 420

```

```

aacagacaga ccacccaaac agccgcagag aaaaagccaa ccagagtaac aactaacaaa 480
gaaaccataa ctgcaaccac aagcacagcc gcaacccaaa cactcaacac caccaaccaa 540
accaacaatg gaagagaggg aaccacaaca tctgccagat ccagaacaaa tgccacaact 600
caaagcagcg accaaacaac ccaggcagca gaccaagct cccaatcaca acatacacag 660
aaaagcacia caacaacata caacacagac acatcttctc caagtagtta acaaaaaaac 720
tataaaataa ccatgaaaac caaaaaact agaaaagtta atttgaactc agaaaagaac 780
acaaacacta tatgaattgt ttgagcgtat atactaatga aatagcatct gtttgtgcat 840
caataatacc atcattattt aagaattaag aagaagctaa aattcaa 887

```

<210> 131

<211> 887

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 131

```

atggaagtaa gagtggagaa cattcgggca atagacatgt tcaaagcaaa gatgaaaaac 60
cgtataagaa gtagcaagtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg attatcagca 120
ctaagtatgg cacttaatat ttttttaatc attgattatg caaaatcaaa aacctgacc 180
agagtggaa actgtgttaa tatgccgccc gtagaaccaa gcaagaagac cccaatgacc 240
tctgcagtag acttaaacac caaacccaat ccacagcagg caacacagtt gaccacagag 300
gattcaacat ctccagcagc aaccttagag ggccatctac acacagggac aactccaaca 360
ccagatgcaa cagtctctca gcaaacca caacactgct gagatcaacc 420

```

```

aacagacaga ccacccaaac aaccgcagag aaaaagccaa ccagagcaac aacccaaaaa 480
gaaaccataa ctgcaaccac aagcacagct gcaacccaaa cactcaacac caccaaccaa 540
accagcaatg gaagagaggg aaccacaaca tctgccagat ccagaacaaa tgccacaact 600
caaagcagcg accaaacaac ccaggcagca gaccaagct cccaatcaca acatacaaa 660
aaaagcacia caacaacata caacacagac acatcttctc caagtagtta acaaaaaaac 720
tataaaataa ccatgaaaac caaaaaact agaaaagtta atttgaactc agaaaagaac 780
acaaacacta tatgaattgt ttgagcgtat atactaatga aatagcatct gtttgtgcat 840
caataatacc atcattattt aagaattaag aagaagctaa aattcaa 887

```

<210> 132
 <211> 886
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 132
 atggaagtaa gagtggagaa cattcgggca atagacatgt tcaaagcaaa gatgaaaaac 60
 cgtataagaa gtagcaagtg ctatagaaat gctacactga tccttattgg attaacagca 120
 ctaagtatgg cacttaatat tttttaatc attgattatg caacattaaa aaacatgacc 180
 aaagtggaac actgtgttaa tatgccgccg gtagaaccaa gcaagaagac cccaatgacc 240
 tctgcagtag acttaaacac caaacccaat ccacagcagg caacacagtt gaccacagag 300
 gactctacat ctttagcagc aacctagag gaccatccac acacaggac aactccaaca 360
 ccagatgcaa cagtctctca gcaaacaca gacgagcaca caacactgct gagatcaacc 420

 aacagacaga ccacccaaac aactgcagag aaaaagccaa ccagagcaac aaccaaaaaa 480
 gaaaccacaa ctggaaccac aagcacagct gcaacccaaa cactcaacac caccaacca 540
 actagcaatg gaagagaggc aaccacaaca tctgccagat ccagaacaa tgccacaact 600
 caaagcagcg atcaaacaac ccaagcagca gaaccaaact cccaatcaca acatacacag 660
 aaaagcacia caacaacata caacacagac acatcttctc taagtagtta acaaaaaaac 720
 tataaataa ccatgaaac caaaaaacta gaaaagttaa tttgaactca gaaaggaaca 780
 caaacactat atgaattatt tgagcgata tactaatgaa atagcatctg tttgtgcatc 840
 aataatacca tcattattta agaaataaga agaagctaaa attcaa 886

<210> 133
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 133
 Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Thr Ile Asp Met Leu Lys Ala
 1 5 10 15
 Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
 20 25 30
 Leu Val Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asn Tyr Lys Met Gln Lys Asn Thr Ser Glu Ser Glu His
 50 55 60

 His Thr Ser Ser Ser Pro Met Glu Ser Ser Arg Glu Thr Pro Thr Val
 65 70 75 80
 Pro Thr Asp Asn Ser Asp Thr Asn Ser Ser Pro Gln His Pro Thr Gln
 85 90 95
 Gln Ser Thr Glu Gly Ser Thr Leu Tyr Phe Ala Ala Ser Ala Ser Ser
 100 105 110

 Pro Glu Thr Glu Pro Thr Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asn Arg Pro Pro
 115 120 125
 Phe Val Asp Thr His Thr Thr Pro Pro Ser Ala Ser Arg Thr Lys Thr
 130 135 140
 Ser Pro Ala Val His Thr Lys Asn Asn Pro Arg Thr Ser Ser Arg Thr
 145 150 155 160
 His Ser Pro Pro Arg Ala Thr Thr Arg Thr Ala Arg Arg Thr Thr Thr

165	170	175
Leu Arg Thr Ser Ser Thr Arg Lys Arg Pro Ser Thr Ala Ser Val Gln		
180	185	190
Pro Asp Ile Ser Ala Thr Thr His Lys Asn Glu Glu Ala Ser Pro Ala		
195	200	205
Ser Pro Gln Thr Ser Ala Ser Thr Thr Arg Ile Gln Arg Lys Ser Val		
210	215	220
Glu Ala Asn Thr Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Thr Ser		
225	230	235

<210> 134
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 134

Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Thr Ile Asp Met Leu Lys Ala	
1 5 10 15	
Ser Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser	
20 25 30	
Leu Val Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr	
35 40 45	
Leu Ile Ile Asn Tyr Lys Met Gln Lys Asn Thr Ser Glu Ser Glu His	
50 55 60	

His Thr Ser Ser Ser Pro Met Glu Ser Ser Arg Glu Thr Pro Thr Val	
65 70 75 80	
Pro Thr Asp Asn Ser Asp Thr Asn Ser Ser Pro Gln His Pro Thr Gln	
85 90 95	
Gln Ser Thr Glu Gly Ser Thr Leu Tyr Phe Ala Ala Ser Ala Ser Ser	
100 105 110	
Pro Glu Thr Glu Pro Thr Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asn Arg Pro Pro	

115	120	125
Phe Val Asp Thr His Thr Thr Pro Pro Ser Ala Ser Arg Thr Lys Thr		
130	135	140
Ser Pro Ala Val His Thr Lys Asn Asn Pro Arg Thr Ser Ser Arg Thr		
145	150	155
His Ser Pro Pro Arg Ala Thr Thr Arg Thr Ala Arg Arg Thr Thr Thr		
165	170	175
Leu Arg Thr Ser Ser Thr Arg Lys Arg Pro Ser Thr Ala Ser Val Gln		

180	185	190
Pro Asp Ile Ser Ala Thr Thr His Lys Asn Glu Glu Ala Ser Pro Ala		
195	200	205
Ser Pro Gln Thr Ser Ala Ser Thr Thr Arg Ile Gln Arg Lys Ser Val		
210	215	220
Glu Ala Asn Thr Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Thr Ser		
225	230	235

<210> 135
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 135
 Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Thr Ile Asp Met Leu Lys Ala
 1 5 10 15
 Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
 20 25 30
 Leu Val Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asn Tyr Lys Met Gln Lys Asn Thr Ser Glu Ser Glu His
 50 55 60
 His Thr Ser Ser Ser Pro Met Glu Ser Ser Arg Glu Thr Pro Thr Val
 65 70 75 80
 Pro Thr Asp Asn Ser Asp Thr Asn Ser Ser Pro Gln His Pro Thr Gln
 85 90 95
 Gln Ser Thr Glu Gly Ser Thr Leu Tyr Phe Ala Ala Ser Ala Asn Ser
 100 105 110
 Pro Glu Thr Glu Pro Thr Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asn Arg Pro Pro
 115 120 125
 Phe Val Asp Thr His Thr Thr Pro Pro Ser Ala Ser Arg Thr Lys Thr
 130 135 140
 Ser Pro Ala Val His Thr Lys Asn Asn Pro Arg Ile Ser Ser Arg Thr
 145 150 155 160
 His Ser Pro Pro Trp Ala Thr Thr Arg Thr Ala Arg Arg Thr Thr Thr
 165 170 175
 Leu Arg Thr Ser Ser Thr Arg Lys Arg Pro Ser Thr Ala Ser Ala Gln
 180 185 190
 Pro Asp Ile Ser Ala Thr Thr His Lys Asn Glu Glu Ala Ser Pro Ala
 195 200 205
 Ser Pro Gln Thr Ser Ala Ser Thr Thr Arg Thr Gln Arg Lys Ser Val
 210 215 220
 Glu Ala Asn Thr Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Thr Ser
 225 230 235

<210> 136
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 136
 Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Thr Ile Asp Met Leu Lys Ala
 1 5 10 15
 Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
 20 25 30
 Leu Val Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asn Tyr Lys Met Gln Lys Asn Thr Ser Glu Ser Glu His

50	55	60
His Thr Ser Ser Ser Pro Met Glu Ser Ser Arg Glu Thr Pro Thr Val		
65	70	75
Pro Thr Asp Asn Ser Asp Thr Asn Ser Ser Pro Gln His Pro Thr Gln		
	85	90
Gln Ser Thr Glu Gly Ser Thr Leu Tyr Phe Ala Ala Ser Ala Asn Ser		
	100	105
Pro Glu Thr Glu Pro Thr Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asp Arg Pro Pro		
	115	120
		125
Phe Val Asp Thr His Thr Thr Pro Pro Ser Ala Ser Arg Thr Lys Thr		
	130	135
Ser Pro Ala Val His Thr Lys Asn Asn Pro Arg Ile Ser Ser Arg Thr		
145	150	155
His Ser Pro Pro Trp Ala Thr Thr Arg Thr Ala Arg Arg Thr Thr Thr		
	165	170
		175
Leu Arg Thr Ser Ser Thr Arg Lys Arg Pro Ser Thr Ala Ser Val Gln		
	180	185
		190
Pro Asp Ile Ser Ala Thr Thr His Lys Asn Glu Glu Ala Ser Pro Ala		
	195	200
		205
Ser Pro Gln Thr Ser Ala Ser Thr Thr Arg Thr Gln Arg Lys Ser Val		
	210	215
		220
Glu Ala Asn Thr Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Thr Ser		
225	230	235

<210> 137
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 137

Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Thr Ile Asp Met Leu Lys Ala		
1	5	10
		15
Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser		
	20	25
		30
Leu Val Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr		
	35	40
		45
Leu Ile Ile Asn Tyr Lys Met Gln Lys Asn Thr Ser Glu Ser Glu His		
	50	55
		60

His Thr Ser Ser Ser Pro Met Glu Ser Ser Arg Glu Thr Pro Thr Val		
65	70	75
		80
Pro Thr Asp Asn Ser Asp Thr Asn Ser Ser Pro Gln His Pro Thr Gln		
	85	90
		95
Gln Ser Thr Glu Gly Ser Thr Leu Tyr Phe Ala Ala Ser Ala Ser Ser		
	100	105
		110
Pro Glu Thr Glu Pro Thr Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asp Arg Pro Pro		
	115	120
		125

Phe Val Asp Thr His Thr Thr Pro Pro Ser Ala Ser Arg Thr Lys Thr		
130	135	140
Ser Pro Ala Val His Thr Lys Asn Asn Pro Arg Ile Ser Ser Arg Thr		

145 150 155 160
 His Ser Pro Pro Trp Ala Thr Thr Arg Thr Ala Arg Arg Thr Thr Thr
 165 170 175
 Leu Arg Thr Ser Ser Thr Arg Lys Arg Pro Ser Thr Ala Ser Val Gln
 180 185 190

Pro Asp Ile Ser Ala Thr Thr His Lys Asn Glu Glu Ala Ser Pro Ala
 195 200 205
 Ser Pro Gln Thr Ser Ala Ser Thr Thr Arg Thr Gln Arg Lys Ser Val
 210 215 220
 Glu Ala Asn Thr Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Thr Ser
 225 230 235

<210> 138

<211> 236

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 138

Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Thr Ile Asp Met Leu Lys Ala
 1 5 10 15
 Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
 20 25 30
 Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Met Gln Glu Asn Thr Ser Glu Ser Glu His
 50 55 60

His Thr Ser Ser Ser Pro Met Glu Ser Ser Arg Glu Thr Pro Thr Val
 65 70 75 80
 Pro Ile Asp Asn Ser Asp Thr Asn Pro Gly Ser Gln Tyr Pro Thr Gln
 85 90 95
 Gln Ser Thr Glu Asp Ser Thr Leu His Ser Ala Ala Ser Ala Ser Ser
 100 105 110
 Pro Glu Thr Glu Pro Thr Ser Thr Pro Asp Thr Thr Ser Arg Pro Pro
 115 120 125

Phe Val Asp Thr His Thr Thr Pro Pro Ser Ala Ser Arg Thr Arg Thr
 130 135 140
 Ser Pro Ala Val His Thr Lys Asn Asn Pro Arg Val Ser Pro Arg Thr
 145 150 155 160
 His Ser Pro Pro Trp Ala Met Thr Arg Thr Val Arg Gly Thr Thr Thr
 165 170 175
 Leu Arg Thr Ser Ser Thr Arg Lys Arg Leu Ser Thr Ala Ser Val Gln
 180 185 190

Pro Asp Ser Ser Ala Thr Thr His Lys His Glu Glu Thr Ser Pro Val
 195 200 205
 Ser Pro Gln Thr Ser Ala Ser Thr Ala Arg Pro Gln Arg Lys Gly Met
 210 215 220
 Glu Ala Ser Thr Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Thr Ser
 225 230 235

<210> 139
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 139
 Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Thr Ile Asp Met Leu Lys Ala
 1 5 10 15
 Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
 20 25 30
 Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Met Gln Glu Asn Thr Ser Glu Ser Glu His
 50 55 60
 His Thr Ser Ser Ser Pro Met Glu Ser Ser Arg Glu Thr Pro Thr Val
 65 70 75 80
 Pro Met Asp Asn Ser Asp Thr Asn Pro Gly Ser Gln Tyr Pro Thr Gln
 85 90 95
 Gln Ser Thr Glu Gly Ser Thr Leu His Phe Ala Ala Ser Ala Ser Ser
 100 105 110
 Pro Glu Thr Glu Pro Thr Ser Thr Pro Asp Thr Thr Ser Arg Pro Pro
 115 120 125
 Phe Val Asp Thr His Thr Thr Pro Ser Ser Ala Ser Arg Thr Lys Thr
 130 135 140
 Ser Pro Ala Val His Thr Lys Asn Asn Leu Arg Ile Ser Pro Arg Thr
 145 150 155 160
 His Ser Pro Pro Trp Ala Met Thr Arg Thr Val Arg Gly Thr Thr Thr
 165 170 175
 Leu Arg Thr Ser Ile Arg Lys Arg Pro Ser Thr Ala Ser Val Gln
 180 185 190
 Pro Asp Ser Ser Ala Thr Thr His Lys His Glu Glu Ala Ser Pro Val

195 200 205
 Ser Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Ala Arg Pro Gln Arg Lys Gly Met
 210 215 220
 Glu Ala Ser Thr Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Thr Ser
 225 230 235

<210> 140
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 140
 Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Thr Ile Asp Met Leu Lys Ala
 1 5 10 15
 Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser

```

                20                25                30
Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
                35                40                45
Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Met Gln Glu Asn Thr Ser Glu Ser Glu His
                50                55                60

His Thr Ser Ser Ser Pro Met Glu Ser Ser Arg Glu Thr Pro Thr Val
65                70                75                80
Pro Met Asp Asn Ser Asp Thr Asn Pro Gly Ser Gln Tyr Pro Thr Gln
                85                90                95
Gln Ser Thr Glu Gly Ser Thr Leu His Phe Ala Ala Ser Ala Ser Ser
                100                105                110
Pro Glu Thr Glu Pro Thr Ser Thr Pro Asp Thr Thr Ser Arg Pro Pro
                115                120                125

Phe Val Asp Thr His Thr Thr Pro Ser Ser Ala Ser Arg Ile Arg Thr
130                135                140
Ser Pro Ala Val His Thr Lys Asn Asn Leu Arg Ile Ser Pro Arg Thr
145                150                155                160
His Ser Pro Pro Trp Ala Met Thr Arg Thr Val Arg Gly Thr Thr Thr
                165                170                175
Leu Arg Thr Ser Ser Ile Arg Lys Arg Pro Ser Thr Ala Ser Val Gln
                180                185                190

Pro Asp Ser Ser Ala Thr Thr His Lys His Glu Glu Ala Ser Pro Val
195                200                205
Ser Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Ala Arg Pro Gln Arg Lys Gly Met
210                215                220
Glu Ala Ser Thr Ser Thr Thr Tyr Asn Gln Thr Ser
225                230                235

```

<210> 141
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Human metapneumovirus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 220
 <223> Xaa = unknown amino acid or other

<400> 141
 Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Leu Lys Ala
 1 5 10 15
 Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
 20 25 30
 Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Ile Gln Lys Thr Thr Ser Glu Ser Glu His
 50 55 60

 His Thr Ser Ser Pro Pro Thr Glu Pro Asn Lys Glu Ala Ser Thr Ile
 65 70 75 80

Ser Thr Asp Asn Pro Asp Ile Asn Pro Ser Ser Gln His Pro Thr Gln
85 90 95
Gln Ser Thr Glu Asn Pro Thr Leu Asn Pro Ala Ala Ser Ala Ser Pro
100 105 110
Ser Glu Thr Glu Pro Ala Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asn Arg Leu Ser
115 120 125

Ser Val Asp Arg Ser Thr Ala Gln Pro Ser Glu Ser Arg Thr Lys Thr
130 135 140
Lys Pro Thr Val His Thr Ile Asn Asn Pro Asn Thr Ala Ser Ser Thr
145 150 155 160
Gln Ser Pro Pro Arg Thr Thr Thr Lys Ala Ile Arg Arg Ala Thr Thr
165 170 175
Phe Arg Met Ser Ser Thr Gly Lys Arg Pro Thr Thr Thr Leu Val Gln
180 185 190

Ser Asp Ser Ser Thr Thr Thr Gln Asn His Glu Glu Thr Gly Ser Ala
195 200 205
Asn Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Met Gln Asn Xaa His Thr Asn Asn
210 215 220
Ile Lys Pro Asn
225

<210> 142
<211> 228
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 142
Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Leu Lys Ala
1 5 10 15
Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
20 25 30
Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
35 40 45
Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Ile Gln Lys Thr Thr Ser Glu Ser Glu His
50 55 60

His Thr Ser Ser Pro Pro Thr Glu Ser Asn Lys Glu Thr Ser Thr Ile
65 70 75 80
Pro Ile Asp Asn Pro Asp Ile Asn Pro Asn Ser Gln His Pro Thr Gln
85 90 95
Gln Ser Thr Glu Ser Pro Thr Leu Asn Pro Ala Ala Ser Val Ser Pro
100 105 110
Ser Glu Thr Glu Pro Ala Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asn Arg Leu Ser
115 120 125

Ser Val Asp Arg Ser Thr Thr Gln Pro Ser Glu Ser Arg Thr Lys Thr
130 135 140
Lys Pro Thr Val His Thr Lys Asn Asn Pro Ser Thr Val Ser Arg Thr
145 150 155 160
Gln Ser Pro Leu Arg Ala Thr Thr Lys Ala Val Leu Arg Ala Thr Ala
165 170 175
Phe Arg Thr Ser Ser Thr Arg Lys Arg Pro Thr Thr Thr Ser Val Gln

180	185	190
Ser Asp Ser Ser Thr Thr Thr Gln Asn His Glu Glu Thr Ser Ser Ala		
195	200	205
Asn Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Met Gln Ser Gln His Thr Asn Asn		
210	215	220
Ile Lys Pro Asn		
225		

<210> 143
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 143

Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Ala Val Asp Met Leu Lys Ala		
1	5	10
Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser		
20	25	30
Leu Ile Leu Val Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr		
35	40	45
Leu Ile Val Asn Tyr Thr Ile Gln Lys Thr Thr Ser Glu Ser Glu His		
50	55	60
His Thr Ser Ser Ser Pro Thr Glu Ser Asn Lys Gly Thr Ser Thr Ile		
65	70	75
Pro Thr Asp Asn Pro Asp Ile Asn Pro Asn Ser Gln His Pro Thr Gln		
85	90	95
Gln Ser Thr Glu Ser Pro Thr Leu Asn Thr Ala Ala Ser Val Ser Pro		
100	105	110
Ser Glu Thr Glu Pro Ala Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asn Arg Leu Ser		
115	120	125
Ser Ala Asp Arg Ser Thr Thr Gln Pro Ser Glu Ser Arg Thr Lys Thr		
130	135	140
Lys Leu Thr Val His Thr Lys Asn Asn Leu Ser Thr Ala Ser Arg Thr		
145	150	155
Gln Ser Pro Pro Arg Ala Thr Thr Lys Ala Val Leu Arg Asp Thr Ala		
165	170	175
Phe His Thr Ser Ser Thr Gly Lys Arg Pro Thr Thr Thr Ser Val Gln		
180	185	190
Ser Gly Ser Ser Thr Thr Thr Gln Asn His Glu Glu Thr Ser Ser Ser		
195	200	205
Asn Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Met Gln Asp Gln Asp Thr Asn Asn		
210	215	220
Thr Lys Gln Asn		
225		

<210> 144
 <211> 228
 <212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<220>

<221> VARIANT

<222> 81

<223> Xaa = Any Amino Acid

<400> 144

```

Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Ala Val Asp Met Leu Lys Ala
 1           5           10           15
Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
      20           25           30
Leu Ile Leu Val Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
      35           40           45
Leu Ile Val Asn Tyr Thr Ile Gln Lys Thr Thr Ser Glu Ser Glu His
 50           55           60

His Thr Ser Ser Ser Pro Thr Glu Ser Asn Lys Gly Thr Ser Thr Ile
65           70           75           80
Xaa Thr Asp Asn Pro Asp Ile Asn Pro Asn Ser Gln His Pro Thr Gln
      85           90           95
Gln Ser Thr Glu Ser Pro Thr Leu Asn Thr Ala Ala Ser Val Ser Pro
      100           105           110
Ser Glu Thr Glu Pro Ala Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asn Arg Leu Ser
      115           120           125

Ser Ala Asp Arg Ser Thr Thr Gln Pro Ser Glu Ser Arg Thr Lys Thr
      130           135           140
Lys Leu Thr Val His Thr Lys Asn Asn Leu Ser Thr Ala Ser Arg Thr
      145           150           155           160
Gln Ser Pro Pro Arg Ala Thr Thr Lys Ala Val Leu Arg Asp Thr Ala

```

```

      165           170           175
Phe His Thr Ser Ser Thr Gly Lys Arg Pro Thr Thr Thr Ser Val Gln
      180           185           190
Ser Gly Ser Ser Thr Thr Thr Gln Asn His Glu Glu Thr Ser Ser Ser
      195           200           205
Asn Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Met Gln Asp Gln Asp Thr Asn Asn
      210           215           220
Thr Lys Gln Asn
225

```

<210> 145

<211> 228

<212> PRT

<213> Human metapneumovirus

<220>

<221> VARIANT

<222> 220

<223> Xaa = unknown amino acid or other

<400> 145

```

Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Leu Lys Ala
 1           5           10           15
Arg Met Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
 20           25           30
Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
 35           40           45
Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Ile Gln Lys Thr Thr Ser Glu Ser Glu His
 50           55           60

His Thr Ser Ser Pro Pro Thr Glu Ser Asn Lys Glu Thr Ser Thr Ile
65           70           75           80
Pro Ile Asp Asn Pro Asp Ile Asn Pro Asn Ser Gln His Pro Thr Gln
 85           90           95
Gln Ser Thr Glu Ser Leu Thr Leu Asn Pro Ala Ala Ser Val Ser Pro
100           105           110
Ser Glu Thr Glu Pro Ala Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asn Arg Leu Ser
115           120           125

Ser Val Asp Arg Ser Thr Thr Gln Pro Ser Glu Ser Arg Thr Lys Thr
130           135           140
Lys Leu Thr Val His Lys Lys Asn Ile Pro Ser Thr Val Ser Arg Thr
145           150           155           160
Gln Ser Ser Ile Arg Ala Thr Thr Lys Ala Val Leu Arg Ala Thr Ala
165           170           175
Phe Arg Thr Ser Ser Thr Gly Glu Arg Pro Thr Thr Thr Ser Val Gln
180           185           190

Ser Asp Ser Ser Thr Thr Thr Gln Asn His Glu Glu Thr Gly Ser Ala
195           200           205
Asn Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Met Gln Asn Xaa His Thr Asn Ile
210           215           220
Val Lys Pro Asn
225

```

<210> 146

<211> 228

<212> PRT

<213> Human metapneumovirus

<220>

<221> VARIANT

<222> 220

<223> Xaa = unknown amino acid or other

<400> 146

```

Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Leu Lys Ala
 1           5           10           15
Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
 20           25           30

```

Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Ile Gln Lys Thr Thr Ser Glu Ser Glu His
 50 55 60

His Thr Ser Ser Pro Pro Thr Glu Ser Asn Lys Glu Thr Ser Thr Ile
 65 70 75 80
 Ser Ile Asp Asn Pro Asp Ile Asn Pro Asn Ser Gln His Pro Thr Gln
 85 90 95
 Gln Ser Thr Glu Ser Leu Thr Leu Ser Pro Thr Ala Ser Val Ser Pro
 100 105 110
 Ser Glu Thr Glu Pro Ala Ser Thr Ser Asp Thr Thr Ser Arg Leu Ser
 115 120 125

Ser Val Asp Arg Ser Thr Thr Gln Pro Ser Glu Ser Arg Ala Arg Thr
 130 135 140
 Lys Pro Thr Val His Lys Lys Asn Ile Pro Ser Thr Val Ser Arg Thr
 145 150 155 160
 Gln Ser Pro Leu Arg Ala Thr Thr Lys Ala Val Leu Arg Ala Thr Ala
 165 170 175
 Phe Arg Thr Ser Ser Thr Gly Glu Gly Pro Thr Thr Thr Ser Val Gln
 180 185 190

Ser Asp Ser Ser Thr Thr Thr Gln Asn His Glu Glu Thr Gly Ser Ala
 195 200 205
 Asn Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Met Gln Asn Xaa His Thr Asn Ile
 210 215 220
 Val Lys Pro Asn
 225

<210> 147

<211> 228

<212> PRT

<213> Human metapneumovirus

<220>

<221> VARIANT

<222> 220

<223> Xaa = unknown amino acid or other

<400> 147

Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Leu Lys Ala
 1 5 10 15
 Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
 20 25 30
 Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Ile Gln Lys Thr Thr Ser Glu Ser Glu His
 50 55 60

His Thr Ser Ser Pro Pro Thr Glu Ser Asn Lys Glu Ala Ser Thr Ile


```

65              70              75              80
Ser Thr Asp Asn Pro Asp Ile Asn Pro Asn Ser Gln His Pro Thr Gln
              85              90              95
Gln Ser Thr Glu Asn Pro Thr Leu Asn Pro Ala Ala Ser Val Ser Ser
              100             105             110
Ser Glu Thr Glu Pro Ala Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asn Arg Leu Ser
              115             120             125

Ser Val Asp Arg Ser Thr Ala Gln Pro Ser Glu Ser Arg Thr Lys Thr
              130             135             140
Lys Pro Thr Val His Thr Arg Asn Asn Pro Ser Thr Ala Ser Ser Thr
              145             150             155             160
Gln Ser Pro Pro Arg Val Thr Thr Lys Ala Ile Leu Arg Ala Thr Val
              165             170             175
Phe Arg Met Ser Ser Thr Gly Lys Arg Pro Ala Thr Thr Leu Val Gln
              180             185             190

Ser Asp Ser Ser Thr Thr Thr Gln Asn His Glu Glu Thr Gly Ser Ala
              195             200             205
Asn Ser Gln Ala Ser Ala Ser Thr Met Gln Asn Xaa His Ser Asn Asn
              210             215             220
Ile Lys Pro Asn
225

```

<210> 148
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

```

<400> 148
Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Leu Lys Ala
  1              5              10              15
Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
              20              25              30
Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
              35              40              45
Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Ile Gln Lys Thr Thr Ser Glu Ser Glu His
              50              55              60

His Thr Ser Ser Pro Pro Thr Glu Ser Asn Lys Glu Thr Ser Thr Ile
65              70              75              80
Ser Ile Asp Asn Ser Asp Ile Asn Pro Asn Ser Gln His Pro Thr Gln
              85              90              95
Gln Ser Thr Glu Ser Leu Thr Leu Ser Pro Thr Ala Ser Val Ser Pro
              100             105             110
Ser Glu Thr Glu Pro Ala Ser Thr Ser Asp Thr Thr Asn Arg Leu Ser
              115             120             125

Ser Val Asp Arg Ser Thr Thr Gln Pro Ser Glu Ser Arg Ala Arg Thr
              130             135             140
Lys Pro Thr Val His Lys Lys Asn Ile Pro Ser Thr Val Ser Arg Thr
              145             150             155             160
Gln Ser Pro Leu Arg Ala Thr Thr Lys Ala Val Leu Arg Ala Thr Ala
              165             170             175

```

Phe Arg Met Ser Ser Thr Gly Glu Gly Pro Thr Thr Thr Ser Val Gln
180 185 190

Ser Asp Ser Ser Thr Thr Thr Gln Asn His Glu Glu Thr Gly Ser Ala
195 200 205

Asn Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Met Gln Asn Gln His Thr Asn Ile
210 215 220

Ala Lys Pro Asn
225

<210> 149

<211> 228

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 149

Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Leu Lys Ala
1 5 10 15

Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
20 25 30

Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
35 40 45

Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Ile Gln Lys Thr Thr Ser Glu Ser Glu His
50 55 60

His Thr Ser Ser Pro Pro Thr Glu Ser Asn Lys Glu Thr Ser Thr Ile
65 70 75 80

Pro Ile Asp Asn Pro Asp Ile Asn Pro Asn Ser Gln His Pro Thr Gln
85 90 95

Gln Ser Thr Glu Ser Leu Thr Leu Tyr Pro Thr Ser Ser Val Ser Ser

100 105 110
Ser Glu Thr Glu Pro Ala Ser Thr Pro Gly Ile Thr Asn His Leu Ser
115 120 125

Phe Val Asp Arg Ser Thr Thr Gln Pro Ser Glu Ser Arg Thr Lys Thr
130 135 140

Asn Arg Thr Val His Lys Lys Asn Ile Ser Ser Thr Val Ser Arg Thr
145 150 155 160

Gln Ser Pro Pro Arg Thr Thr Ala Lys Ala Val Pro Arg Ala Thr Ala

165 170 175
Leu Arg Thr Ser Ser Thr Gly Glu Arg Pro Thr Thr Thr Pro Val Gln
180 185 190

Pro Asp Ser Ser Thr Thr Thr Gln Asn His Glu Glu Thr Gly Ser Ala
195 200 205

Asn Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Met Gln Asn Gln His Thr Asn Ile
210 215 220

Ala Arg Pro Asn

225

<210> 150

<211> 228
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 150

```

Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Leu Lys Ala
 1           5           10           15
Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
      20           25           30
Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
      35           40           45
Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Ile Gln Lys Thr Thr Ser Glu Ser Glu His
      50           55           60

His Thr Ser Ser Pro Pro Thr Glu Ser Asn Lys Glu Thr Ser Thr Ile
65           70           75           80
Pro Ile Asp Asn Pro Asp Ile Asn Pro Asn Ser Gln His Pro Thr Gln
      85           90           95
Gln Ser Ala Glu Ser Leu Thr Leu Tyr Pro Thr Ser Ser Val Ser Ser
      100          105          110
Ser Glu Thr Glu Pro Ala Ser Thr Pro Gly Ile Thr Asn His Leu Ser
      115          120          125

Phe Val Asp Arg Ser Thr Thr Gln Pro Ser Glu Ser Arg Thr Lys Thr
130           135           140
Asn Arg Thr Val His Lys Lys Asn Ile Ser Ser Thr Val Ser Arg Thr
145           150          155          160
Gln Ser Pro Pro Arg Thr Thr Ala Lys Ala Val Pro Arg Ala Thr Ala
      165          170          175
Leu Arg Thr Ser Ser Thr Gly Glu Arg Pro Thr Thr Thr Pro Val Gln
      180          185          190

Pro Asp Ser Ser Thr Thr Thr Gln Asn His Glu Glu Thr Gly Ser Ala
195           200          205
Asn Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Met Gln Asn Gln His Thr Asn Ile
210          215          220
Ala Arg Pro Asn
225
    
```

<210> 151
 <211> 228
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 151

```

Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Leu Lys Ala
 1           5           10           15
Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
      20           25           30
Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
      35           40           45
Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Ile Gln Lys Thr Thr Ser Glu Ser Glu His
    
```

50				55				60							
His	Thr	Ser	Ser	Pro	Pro	Thr	Glu	Ser	Asn	Lys	Glu	Thr	Ser	Thr	Ile
65				70				75				80			
Pro	Ile	Asp	Asn	Pro	Asp	Ile	Asn	Pro	Asn	Ser	Gln	His	Pro	Thr	Gln
85				90				95							
Gln	Ser	Thr	Glu	Ser	Leu	Thr	Leu	Tyr	Pro	Thr	Ser	Ser	Val	Ser	Ser
100				105				110							
Ser	Glu	Thr	Glu	Pro	Ala	Ser	Thr	Pro	Gly	Ile	Thr	Asn	His	Leu	Ser
115				120				125							
Phe	Val	Asp	Arg	Ser	Thr	Thr	Gln	Pro	Ser	Glu	Ser	Arg	Thr	Lys	Thr
130				135				140							
Asn	Arg	Thr	Val	His	Lys	Lys	Asn	Ile	Ser	Ser	Thr	Val	Ser	Arg	Thr
145				150				155				160			
Gln	Ser	Pro	Pro	Arg	Thr	Thr	Ala	Lys	Ala	Val	Pro	Arg	Ala	Thr	Ala
165				170				175							
Leu	Arg	Thr	Ser	Ser	Thr	Gly	Glu	Arg	Pro	Thr	Thr	Thr	Pro	Val	Gln
180				185				190							
Pro	Asp	Ser	Ser	Thr	Thr	Thr	Gln	Asn	His	Glu	Glu	Thr	Gly	Ser	Ala
195				200				205							
Asn	Pro	Gln	Ala	Ser	Ala	Ser	Thr	Met	Gln	Asn	Gln	His	Thr	Asn	Ile
210				215				220							
Ala	Arg	Pro	Asn												
225															

<210> 152
<211> 228
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 152																	
Met	Glu	Val	Lys	Val	Glu	Asn	Ile	Arg	Ala	Ile	Asp	Met	Leu	Lys	Ala		
1				5					10					15			
Arg	Val	Lys	Asn	Arg	Val	Ala	Arg	Ser	Lys	Cys	Phe	Lys	Asn	Ala	Ser		
			20					25					30				
Leu	Ile	Leu	Ile	Gly	Ile	Thr	Thr	Leu	Ser	Ile	Ala	Leu	Asn	Ile	Tyr		
		35					40					45					
Leu	Ile	Ile	Asn	Tyr	Thr	Ile	Gln	Gln	Thr	Thr	Ser	Glu	Ser	Glu	His		
	50					55					60						
His	Thr	Ser	Ser	Pro	Pro	Thr	Glu	Ser	Asn	Lys	Glu	Ala	Ser	Thr	Ile		
65					70					75					80		
Ser	Thr	Asp	Asn	Pro	Asp	Ile	Asn	Pro	Asn	Ser	Gln	His	Pro	Thr	Gln		
			85						90					95			
Gln	Ser	Thr	Glu	Asn	Pro	Thr	Leu	Asn	Pro	Ala	Ala	Ser	Ala	Ser	Pro		
			100						105				110				
Ser	Glu	Thr	Glu	Ser	Ala	Ser	Thr	Pro	Asp	Thr	Thr	Asn	Arg	Leu	Ser		
		115					120					125					
Ser	Val	Asp	Arg	Ser	Thr	Val	Gln	Pro	Ser	Glu	Asn	Arg	Thr	Lys	Thr		
	130					135					140						
Lys	Leu	Thr	Val	His	Thr	Arg	Asn	Asn	Leu	Ser	Thr	Ala	Ser	Ser	Thr		

145 150 155 160
Gln Ser Pro Pro Arg Ala Thr Thr Lys Ala Ile Arg Arg Ala Thr Thr
 165 170 175
Leu Arg Met Ser Ser Thr Gly Arg Arg Pro Thr Thr Thr Leu Val Gln
 180 185 190

Ser Asp Ser Ser Thr Thr Thr Gln Asn His Glu Glu Thr Gly Ser Ala
 195 200 205
Asn Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Met Gln Asn Gln His Thr Asn Asn
 210 215 220
Ile Lys Pro Asn
225

<210> 153

<211> 228

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 153

Met Glu Val Lys Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Leu Lys Ala
1 5 10 15
Arg Val Lys Asn Arg Val Ala Arg Ser Lys Cys Phe Lys Asn Ala Ser
 20 25 30
Leu Ile Leu Ile Gly Ile Thr Thr Leu Ser Ile Ala Leu Asn Ile Tyr
 35 40 45
Leu Ile Ile Asn Tyr Thr Ile Gln Lys Thr Thr Ser Glu Ser Glu His
50 55 60

His Thr Ser Ser Pro Pro Thr Glu Ser Asn Lys Glu Ala Ser Thr Ile
65 70 75 80
Ser Thr Asp Asn Pro Asp Ile Asn Pro Asn Ser Gln His Pro Thr Gln
 85 90 95
Gln Ser Thr Glu Asn Pro Thr Leu Asn Pro Ala Ala Ser Ala Ser Pro
 100 105 110
Ser Glu Thr Glu Ser Ala Ser Thr Pro Asp Thr Thr Asn Arg Leu Ser
115 120 125

Ser Val Asp Arg Ser Thr Val Gln Pro Ser Glu Asn Arg Thr Lys Thr
130 135 140
Lys Leu Thr Val His Thr Arg Asn Asn Leu Ser Thr Ala Ser Ser Thr
145 150 155 160
Gln Ser Pro Pro Arg Ala Thr Thr Lys Ala Ile Arg Arg Ala Thr Thr
 165 170 175
Leu Arg Met Ser Ser Thr Gly Arg Arg Pro Thr Thr Thr Leu Val Gln
180 185 190

Ser Asp Ser Ser Thr Thr Thr Gln Asn His Glu Glu Thr Gly Ser Ala
 195 200 205
Asn Pro Gln Ala Ser Ala Ser Thr Met Gln Asn Gln His Thr Asn Asn
210 215 220
Ile Lys Pro Asn
225

<210> 154
 <211> 231
 <212> PRT
 <213> Human metapneumovirus

<220>
 <221> VARIANT
 <222> 225

<223> Xaa = unknown amino acid or other

<400> 154
 Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
 1 5 10 15
 Lys Ile Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Arg Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
 20 25 30
 Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asp His Ala Thr Leu Arg Asn Met Ile Lys Thr Glu Asn
 50 55 60
 Cys Ala Asn Met Pro Ser Ala Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
 65 70 75 80
 Ser Thr Ala Gly Pro Asn Thr Lys Pro Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln
 85 90 95
 Trp Thr Thr Glu Asn Ser Thr Ser Pro Val Ala Thr Pro Glu Gly His
 100 105 110
 Pro Tyr Thr Gly Thr Thr Gln Thr Ser Asp Thr Thr Ala Pro Gln Gln
 115 120 125
 Thr Thr Asp Lys His Thr Ala Pro Leu Lys Ser Thr Asn Glu Gln Ile
 130 135 140
 Thr Gln Thr Thr Thr Glu Lys Lys Thr Ile Arg Ala Thr Thr Gln Lys
 145 150 155 160
 Arg Glu Lys Gly Lys Glu Asn Thr Asn Gln Thr Thr Ser Thr Ala Ala
 165 170 175
 Thr Gln Thr Thr Asn Thr Thr Asn Gln Ile Arg Asn Ala Ser Glu Thr
 180 185 190
 Ile Thr Thr Ser Asp Arg Pro Arg Thr Asp Thr Thr Thr Gln Ser Ser
 195 200 205
 Glu Gln Thr Thr Arg Ala Thr Asp Pro Ser Ser Pro Pro His His Ala
 210 215 220
 Xaa Arg Gly Ala Lys Leu Lys
 225 230

<210> 155
 <211> 231
 <212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 155

```

Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
 1           5           10           15
Lys Ile Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Arg Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
      20           25           30
Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
      35           40           45
Leu Ile Ile Asp His Ala Thr Leu Arg Asn Met Ile Lys Thr Glu Asn
      50           55           60

Cys Ala Asn Met Pro Ser Ala Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
65           70           75           80
Ser Thr Ala Gly Pro Ser Thr Glu Pro Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln
      85           90           95
Trp Thr Thr Glu Asn Ser Thr Ser Pro Ala Ala Thr Leu Glu Ser His
      100          105          110
Pro Tyr Thr Gly Thr Thr Gln Thr Pro Asp Ile Thr Ala Pro Gln Gln
      115          120          125

Thr Thr Asp Lys His Thr Ala Leu Pro Lys Ser Thr Asn Glu Gln Ile
      130          135          140
Thr Gln Thr Thr Thr Glu Lys Lys Thr Thr Arg Ala Thr Thr Gln Lys
      145          150          155          160
Arg Glu Lys Glu Lys Glu Asn Thr Asn Gln Thr Thr Ser Thr Ala Ala
      165          170          175
Thr Gln Thr Thr Asn Thr Thr Asn Gln Thr Arg Asn Ala Ser Glu Thr
      180          185          190

Ile Thr Thr Ser Asp Arg Pro Arg Ile Asp Thr Thr Thr Gln Ser Ser
      195          200          205
Asp Gln Thr Thr Arg Ala Thr Asp Pro Ser Ser Pro Pro His His Ala
      210          215          220
Gln Ser Gly Ala Lys Pro Lys
      225          230

```

<210> 156

<211> 231

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 156

```

Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
 1           5           10           15
Lys Ile Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Arg Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
      20           25           30
Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
      35           40           45
Leu Ile Ile Asp His Ala Thr Leu Arg Asn Met Ile Lys Thr Glu Asn
      50           55           60

Cys Ala Asn Met Pro Pro Ala Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr

```

```

65              70              75              80
Ser Thr Ala Gly Pro Asn Thr Lys Pro Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln
              85              90              95
Trp Thr Thr Glu Asn Ser Thr Phe Pro Ala Ala Thr Ser Glu Gly His
              100             105             110
Leu His Thr Gly Thr Thr Gln Thr Pro Asp Thr Thr Ala Pro Gln Gln
              115             120             125

Thr Thr Asp Lys His Thr Ala Leu Pro Lys Ser Thr Asn Glu Gln Ile
130              135              140
Thr Gln Thr Thr Thr Glu Lys Lys Thr Thr Arg Ala Thr Thr Gln Arg
145              150              155              160
Arg Glu Lys Gly Lys Glu Asn Thr Asn Gln Thr Thr Ser Thr Ala Ala
              165              170              175
Thr Gln Thr Thr Asn Thr Thr Asn Gln Ile Arg Asn Ala Ser Glu Thr
              180             185             190

Ile Thr Thr Ser Asp Arg Pro Arg Thr Asp Ser Thr Thr Gln Ser Ser
195              200              205
Glu Gln Thr Thr Arg Ala Thr Asp Pro Ser Ser Pro Pro His His Ala
210              215              220
Gln Gly Ser Ala Lys Pro Lys
225              230

```

<210> 157
 <211> 231
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

```

<400> 157
Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
1      5      10      15
Lys Ile Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Arg Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
20     25     30
Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
35     40     45
Leu Ile Ile Asp His Ala Thr Leu Arg Asn Met Ile Lys Thr Glu Asn
50     55     60

Cys Ala Asn Met Pro Pro Ala Glu Pro Ser Arg Lys Thr Pro Met Thr
65              70              75              80
Ser Thr Ala Gly Pro Asn Thr Lys Pro Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln

              85              90              95
Trp Thr Thr Glu Asn Ser Thr Ser Pro Ala Ala Thr Pro Glu Gly His
100             105             110
Leu His Thr Gly Thr Thr Gln Thr Pro Asp Thr Thr Ala Pro Gln Gln
115             120             125
Thr Thr Asp Lys His Thr Ala Leu Pro Lys Ser Thr Asn Glu Gln Ile
130             135             140
Thr Gln Ala Thr Thr Glu Lys Lys Thr Thr Arg Glu Thr Thr Gln Arg
145             150             155             160

```


Arg Glu Lys Gly Lys Glu Asn Thr Asn Gln Thr Thr Ser Thr Ala Ala
165 170 175
Thr Gln Thr Thr Asn Thr Thr Asn Gln Ile Arg Asn Ala Ser Glu Thr
180 185 190
Ile Thr Thr Ser Asp Arg Pro Arg Thr Asp Ser Thr Thr Gln Ser Ser
195 200 205
Glu Gln Thr Thr Gln Ala Thr Asp Pro Ser Ser Pro Ala His His Ala
210 215 220
Gln Gly Ser Ala Lys Pro Lys
225 230

<210> 158
<211> 231
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 158
Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
1 5 10 15
Lys Ile Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Arg Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
20 25 30
Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
35 40 45
Leu Ile Ile Asp His Ala Thr Leu Arg Asn Met Ile Lys Thr Glu Asn
50 55 60

Cys Ala Asn Met Pro Pro Ala Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
65 70 75 80
Ser Thr Ala Gly Leu Asn Thr Lys Pro Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln
85 90 95
Trp Thr Thr Glu Asn Ser Thr Ser Pro Ala Ala Thr Pro Glu Gly His
100 105 110
Leu His Thr Gly Thr Thr Gln Thr Pro Asp Thr Thr Ala Pro Gln Gln
115 120 125

Thr Thr Asp Lys His Thr Ala Leu Pro Lys Ser Thr Asn Glu Gln Ile
130 135 140
Thr Gln Thr Thr Thr Glu Lys Lys Thr Thr Arg Ala Thr Thr Gln Arg
145 150 155 160
Arg Glu Lys Gly Lys Glu Asn Thr Asn Gln Thr Thr Ser Thr Ala Ala
165 170 175
Thr Gln Thr Thr Asn Thr Thr Asn Gln Ile Arg Asn Ala Ser Glu Thr
180 185 190

Ile Thr Thr Ser Asp Arg Pro Arg Thr Asp Ser Thr Thr Gln Ser Ser
195 200 205
Glu Gln Thr Thr Arg Ala Thr Asp Pro Ser Ser Pro Pro His His Ala
210 215 220
Gln Gly Ser Ala Lys Pro Lys
225 230

<210> 159
 <211> 231
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 159
 Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
 1 5 10 15
 Lys Ile Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Arg Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
 20 25 30
 Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asp His Ala Thr Leu Arg Asn Met Ile Lys Thr Glu Asn
 50 55 60

 Cys Ala Asn Met Pro Pro Ala Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
 65 70 75 80
 Ser Thr Ala Gly Pro Asn Thr Lys Pro Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln
 85 90 95
 Trp Thr Thr Glu Asn Ser Thr Ser Pro Ala Ala Thr Pro Glu Gly His
 100 105 110
 Leu His Thr Gly Thr Thr Gln Thr Pro Asp Thr Thr Ala Pro Gln Gln
 115 120 125

 Thr Thr Asp Lys His Thr Ala Leu Pro Lys Ser Thr Asn Glu Gln Ile
 130 135 140
 Thr Gln Thr Thr Thr Glu Lys Lys Thr Thr Arg Ala Thr Thr Gln Arg
 145 150 155 160
 Arg Glu Lys Gly Lys Glu Asn Thr Asn Gln Thr Thr Ser Thr Ala Ala
 165 170 175
 Thr Gln Thr Thr Asn Thr Thr Asn Gln Ile Arg Asn Ala Ile Glu Thr
 180 185 190

 Ile Thr Thr Ser Asp Arg Pro Arg Thr Asp Ser Thr Thr Gln Ser Ser
 195 200 205
 Glu Gln Thr Thr Arg Ala Thr Asp Pro Ser Ser His Pro His His Ala
 210 215 220
 Gln Gly Ser Ala Lys Pro Lys
 225 230

<210> 160
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 160
 Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
 1 5 10 15
 Lys Met Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Lys Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
 20 25 30
 Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe

```

        35              40              45
Leu Ile Ile Asp Tyr Ala Met Leu Lys Asn Met Thr Lys Val Glu His
   50              55              60

Cys Val Asn Met Pro Pro Val Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
65              70              75              80
Ser Ala Val Asp Leu Asn Thr Lys Pro Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln
      85              90              95
Leu Ala Ala Glu Asp Ser Thr Ser Leu Ala Ala Thr Ser Glu Asp His
      100             105             110
Leu His Thr Gly Thr Thr Pro Thr Pro Asp Ala Thr Val Ser Gln Gln
      115             120             125

Thr Thr Asp Glu Tyr Thr Thr Leu Leu Arg Ser Thr Asn Arg Gln Thr
  130             135             140
Thr Gln Thr Thr Thr Glu Lys Lys Pro Thr Gly Ala Thr Thr Lys Lys
145             150             155             160
Glu Thr Thr Thr Arg Thr Thr Ser Thr Ala Ala Thr Gln Thr Leu Asn
      165             170             175
Thr Thr Asn Gln Thr Ser Tyr Val Arg Glu Ala Thr Thr Thr Ser Ala
      180             185             190

Arg Ser Arg Asn Ser Ala Thr Thr Gln Ser Ser Asp Gln Thr Thr Gln
      195             200             205
Ala Ala Asp Pro Ser Ser Gln Pro His His Thr Gln Lys Ser Thr Thr
      210             215             220
Thr Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Ser Ser Pro Ser Ser
225             230             235

```

<210> 161

<211> 236

<212> PRT

<213> Human metapneumovirus

<220>

<221> VARIANT

<222> 220, 227

<223> Xaa = unknown amino acid or other

<400> 161

```

Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Thr Ile Asp Met Phe Lys Ala
  1              5              10              15
Lys Met Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Lys Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
      20              25              30
Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
      35              40              45
Leu Ile Ile Asp Tyr Ala Thr Phe Lys Asn Met Thr Lys Val Glu His
      50              55              60

Cys Ala Asn Met Pro Pro Val Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
65              70              75              80
Ser Thr Val Asp Ser Ser Thr Gly Pro Asn Pro Gln Gln Thr Thr Gln
      85              90              95

```

Trp Thr Thr Glu Asp Ser Thr Ser Leu Ala Ala Thr Ser Glu Asp His
100 105 110
Leu His Thr Gly Thr Thr Pro Thr Leu Asp Ala Thr Val Ser Gln Gln
115 120 125

Thr Pro Asp Lys His Thr Thr Pro Leu Arg Ser Thr Asn Gly Gln Thr
130 135 140
Thr Gln Thr Thr Thr Glu Lys Lys Pro Thr Arg Ala Ile Ala Lys Lys
145 150 155 160
Glu Thr Thr Asn Gln Thr Thr Ser Thr Ala Ala Thr Gln Thr Phe Asn
165 170 175
Thr Thr Asn Gln Thr Arg Asn Gly Arg Glu Thr Thr Ile Thr Ser Ala
180 185 190

Arg Ser Arg Asn Asp Ala Thr Thr Gln Ser Ser Glu Gln Thr Asn Gln
195 200 205
Thr Thr Asp Pro Ser Ser Gln Pro His His Ala Xaa Ile Ser Thr Ile
210 215 220
Thr Ile Xaa Thr Gln His Arg His Ile Phe Ser Lys
225 230 235

<210> 162
<211> 236
<212> PRT
<213> Human metapneumovirus

<220>
<221> VARIANT
<222> 208
<223> Xaa = unknown amino acid or other

<400> 162
Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
1 5 10 15
Lys Met Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Lys Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
20 25 30
Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
35 40 45
Leu Ile Ile Asp Tyr Ala Met Leu Lys Asn Met Thr Lys Val Glu His
50 55 60

Cys Val Asn Met Pro Pro Val Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
65 70 75 80
Ser Ala Val Asp Leu Asn Thr Lys Leu Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln
85 90 95
Leu Thr Thr Glu Asp Ser Thr Ser Leu Ala Ala Thr Ser Glu Asp His
100 105 110
Leu Leu Thr Gly Thr Thr Pro Thr Pro Asp Ala Thr Val Ser Gln Gln
115 120 125

Thr Thr Asp Glu His Thr Thr Leu Leu Arg Ser Thr Asn Arg Gln Thr
130 135 140
Thr Gln Thr Thr Thr Glu Lys Lys Pro Thr Gly Ala Thr Thr Lys Lys

145 150 155 160
 Glu Thr Thr Thr Arg Thr Thr Ser Thr Ala Ala Thr Gln Thr Leu Asn
 165 170 175
 Thr Thr Asn Gln Thr Ser Asn Gly Arg Glu Ala Thr Thr Thr Ser Thr
 180 185 190

Arg Ser Arg Asn Gly Ala Thr Thr Gln Asn Ser Asp Gln Thr Thr Xaa
 195 200 205
 Thr Ala Asp Pro Ser Ser Gln Pro His His Thr Gln Lys Ser Thr Thr
 210 215 220
 Thr Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Ser Ser Pro Ser Ser
 225 230 235

<210> 163

<211> 236

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 163

Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
 1 5 10 15
 Lys Met Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Lys Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
 20 25 30
 Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asp Tyr Ala Thr Leu Lys Asn Met Thr Lys Val Glu His
 50 55 60

Cys Val Asn Met Pro Pro Val Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
 65 70 75 80
 Ser Ala Val Asp Leu Asn Thr Lys Leu Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln
 85 90 95
 Leu Thr Thr Glu Asp Ser Thr Ser Leu Ala Ala Thr Ser Glu Gly His
 100 105 110
 Pro His Thr Gly Thr Thr Pro Thr Pro Asp Ala Thr Val Ser Gln Gln
 115 120 125

Thr Thr Asp Glu His Thr Thr Leu Leu Arg Ser Thr Asn Arg Gln Thr
 130 135 140
 Thr Gln Thr Ala Thr Glu Lys Lys Pro Thr Gly Ala Thr Thr Lys Lys
 145 150 155 160
 Glu Thr Thr Thr Arg Thr Thr Ser Thr Ala Ala Thr Gln Thr Pro Asn
 165 170 175
 Thr Thr Asn Gln Thr Ser Asn Gly Arg Glu Ala Thr Thr Thr Ser Ala
 180 185 190

Arg Ser Arg Asn Gly Ala Thr Thr Gln Asn Ser Asp Gln Ile Thr Gln
 195 200 205
 Ala Ala Asp Ser Ser Ser Gln Pro His His Thr Gln Lys Ser Thr Thr
 210 215 220
 Thr Ala Tyr Asn Thr Asp Thr Ser Phe Pro Ser Ser
 225 230 235

<210> 164
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 164
 Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
 1 5 10 15
 Lys Met Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Lys Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
 20 25 30
 Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asp Tyr Ala Thr Leu Lys Asn Met Thr Lys Val Glu His
 50 55 60
 Cys Val Asn Met Pro Pro Val Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
 65 70 75 80
 Ser Ala Val Asp Ser Asn Thr Lys Pro Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln
 85 90 95
 Leu Thr Thr Glu Asp Ser Thr Ser Leu Ala Ala Thr Leu Glu Asp His
 100 105 110
 Pro His Thr Gly Thr Thr Pro Thr Pro Asp Ala Thr Val Ser Gln Gln
 115 120 125
 Thr Thr Asp Glu His Thr Thr Leu Leu Arg Ser Thr Asn Arg Gln Thr
 130 135 140
 Thr Gln Thr Thr Ala Glu Lys Lys Pro Thr Arg Ala Thr Thr Lys Lys
 145 150 155 160
 Glu Thr Thr Thr Arg Thr Thr Ser Thr Ala Ala Thr Gln Thr Leu Asn
 165 170 175
 Thr Thr Asn Gln Thr Ser Asn Gly Arg Glu Ala Thr Thr Thr Ser Ala
 180 185 190
 Arg Ser Arg Asn Asn Ala Thr Thr Gln Ser Ser Asp Gln Thr Thr Gln
 195 200 205
 Ala Ala Glu Pro Ser Ser Gln Ser Gln His Thr Gln Lys Ser Thr Thr
 210 215 220
 Thr Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Ser Ser Leu Ser Ser
 225 230 235

<210> 165
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 165
 Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
 1 5 10 15
 Lys Met Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Lys Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
 20 25 30

Leu Ile Leu Ile Gly Leu Ser Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asp Tyr Ala Lys Ser Lys Asn Met Thr Arg Val Glu His
 50 55 60

 Cys Val Asn Met Pro Pro Val Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
 65 70 75 80
 Ser Ala Val Asp Leu Asn Thr Lys Pro Asn Pro Gln Arg Ala Thr Gln
 85 90 95
 Leu Thr Thr Glu Asp Ser Thr Ser Leu Ala Ala Thr Leu Glu Gly His
 100 105 110
 Leu His Thr Gly Thr Thr Pro Thr Pro Asp Val Thr Val Ser Gln Gln
 115 120 125

 Thr Thr Asp Glu His Thr Thr Leu Leu Arg Ser Thr Asn Arg Gln Thr
 130 135 140
 Thr Gln Thr Ala Ala Glu Lys Lys Pro Thr Arg Val Thr Thr Asn Lys
 145 150 155 160
 Glu Thr Ile Thr Arg Thr Thr Ser Thr Ala Ala Thr Gln Thr Leu Asn
 165 170 175
 Thr Thr Asn Gln Thr Asn Asn Gly Arg Glu Ala Thr Thr Thr Ser Ala
 180 185 190

 Arg Ser Arg Asn Asn Ala Thr Thr Gln Ser Ser Asp Gln Thr Thr Gln
 195 200 205
 Ala Ala Asp Pro Ser Ser Gln Ser Gln His Thr Gln Lys Ser Ile Thr
 210 215 220
 Thr Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Ser Ser Pro Ser Ser
 225 230 235

<210> 166

<211> 236

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 166

Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
 1 5 10 15
 Lys Met Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Lys Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
 20 25 30
 Leu Ile Leu Ile Gly Leu Ser Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asp Tyr Ala Lys Ser Lys Thr Met Thr Arg Val Glu His
 50 55 60

 Cys Val Asn Met Pro Pro Val Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
 65 70 75 80
 Ser Ala Val Asp Leu Asn Thr Lys Pro Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln
 85 90 95
 Leu Thr Thr Glu Asp Ser Thr Ser Pro Ala Ala Thr Leu Glu Gly His
 100 105 110
 Leu His Thr Gly Thr Thr Pro Thr Pro Asp Ala Thr Val Ser Gln Gln
 115 120 125

Thr Thr Asp Glu His Thr Thr Leu Leu Arg Ser Thr Asn Arg Gln Thr
 130 135 140
 Thr Gln Thr Thr Ala Glu Lys Lys Pro Thr Arg Ala Thr Thr Lys Lys
 145 150 155 160
 Glu Thr Ile Thr Arg Thr Thr Ser Thr Ala Ala Thr Gln Thr Leu Asn
 165 170 175
 Thr Thr Asn Gln Thr Ser Asn Gly Arg Glu Ala Thr Thr Thr Ser Ala
 180 185 190

Arg Ser Arg Asn Asn Ala Thr Thr Gln Ser Ser Asp Gln Thr Thr Gln
 195 200 205
 Ala Ala Asp Pro Ser Ser Gln Ser Gln His Thr Lys Lys Ser Thr Thr
 210 215 220
 Thr Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Ser Ser Pro Ser Ser
 225 230 235

<210> 167

<211> 236

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 167

Met Glu Val Arg Val Glu Asn Ile Arg Ala Ile Asp Met Phe Lys Ala
 1 5 10 15
 Lys Met Lys Asn Arg Ile Arg Ser Ser Lys Cys Tyr Arg Asn Ala Thr
 20 25 30
 Leu Ile Leu Ile Gly Leu Thr Ala Leu Ser Met Ala Leu Asn Ile Phe
 35 40 45
 Leu Ile Ile Asp Tyr Ala Thr Leu Lys Asn Met Thr Lys Val Glu His
 50 55 60

Cys Val Asn Met Pro Pro Val Glu Pro Ser Lys Lys Thr Pro Met Thr
 65 70 75 80
 Ser Ala Val Asp Leu Asn Thr Lys Pro Asn Pro Gln Gln Ala Thr Gln
 85 90 95
 Leu Thr Thr Glu Asp Ser Thr Ser Leu Ala Ala Thr Leu Glu Asp His
 100 105 110
 Pro His Thr Gly Thr Thr Pro Thr Pro Asp Ala Thr Val Ser Gln Gln

115 120 125
 Thr Thr Asp Glu His Thr Thr Leu Leu Arg Ser Thr Asn Arg Gln Thr
 130 135 140
 Thr Gln Thr Thr Ala Glu Lys Lys Pro Thr Arg Ala Thr Thr Lys Lys
 145 150 155 160
 Glu Thr Thr Thr Arg Thr Thr Ser Thr Ala Ala Thr Gln Thr Leu Asn
 165 170 175
 Thr Thr Asn Gln Thr Ser Asn Gly Arg Glu Ala Thr Thr Thr Ser Ala
 180 185 190
 Arg Ser Arg Asn Asn Ala Thr Thr Gln Ser Ser Asp Gln Thr Thr Gln
 195 200 205
 Ala Ala Glu Pro Asn Ser Gln Ser Gln His Thr Gln Lys Ser Thr Thr
 210 215 220

Thr Thr Tyr Asn Thr Asp Thr Ser Ser Leu Ser Ser
225 230 235

<210> 168
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 168
ataggagttt acggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ctttcttggt caggaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctc taagagaaga ccaaggatgg tattgtcaaa atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacataa acatatctac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcactatc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttccattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 169
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 169
ataggagttt acggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ctttcttgct cagaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctc taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttccattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 170
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 170
ataggagttt acggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ctttcttgct cagaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctc taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagattg cgaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttccattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 171

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 171

ataggagttt acggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ctttcttgct cagaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctc taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 172

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 172

ataggagttt acggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ctttcttgct cagaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctc taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagattg cgaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttcattg gtagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 173

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 173

ataggagttt acggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ctttcttggt cagaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctc taagagaaga ccaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacataa acatatctac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 174
 <211> 449
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 174
 ataggagttt acggaagctc cgtaatttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
 gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ctttcttggt cagaaaaaaa gggaaactat 120
 gcttgccctt taagagaaga ccaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
 tacccaaatg aaaaagactg tgaaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
 ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacataa acatatctac tactaattac 300
 ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcactgtc tcctcttggg 360
 gctttggttg cttgctacaa gggagtgcgc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

 atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 175
 <211> 449
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 175
 ataggagttt acggaagctc cgtaatttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
 gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ctttcttggt cagaaaaaaa gggaaactat 120
 gcttgccctt taagagaaga ccaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
 tacccaaatg aaaaagactg tgaaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
 ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacataa acatatctac tactaattac 300
 ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcactgtc tcctcttggg 360
 gctttggttg cttgctacaa gggagtgcgc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

 atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 176
 <211> 449
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 176
 ataggagttt acggaagctc cgtaatttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
 gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ctttcttgct cagaaaaaaa gggaaactat 120
 gcttgccctt taagagaaga tcaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
 tacccaaatg aaaaagactg tgaaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
 ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
 ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcactgtc tcctcttggg 360
 gctttggttg cttgctacaa gggagtgcgc tgttcattg gcagcaacag agtaggaatc 420

 atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 177
 <211> 449
 <212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 177

```

ataggagttt acggaagctc cgtaatttac atggtgcaac tgccaatctt tggagttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc cttcttgct cagaaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctctt taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagtgagc tgttccattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

```

<210> 178

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 178

```

ataggagttt acggaagctc cgtaatttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
gacacgcctt gttggatagt aaaagcagcc cttcttgct cagaaaaaaaa ggggaactat 120
gcttgctctt taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagtgagc tgttccattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

```

<210> 179

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 179

```

ataggagttt acggaagctc cgtaatttac atggtgcaac tgccaatctt tggagttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcggcc cttcttgct cagaaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctctt taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagtgagc tgttccattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

```

<210> 180

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 180
ataggagttt acggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ctttcttgct cagaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctt taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca atatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttccattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 181
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 181
ataggagttt acggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggagttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcggcc ctttcttgct cgaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctt taagagaaga tcaaatgggt tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttccattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 182
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 182
ataggagttt atggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggagttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcggcc ctttcttgct cagaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctt taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttctattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 183
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 183
ataggagttt atggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggagttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcggcc ctttcttgct cagaaaaaaa gggaaactat 120

gcttgcctct taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
 taccCAAatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
 ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
 ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc tcctcttggg 360
 gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 184

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 184

ataggagttt acggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggagttata 60
 gacacgcctt gctggatagt aaaagcggcc cttctttgct cagaaaaaaa gggaaactat 120
 gcttgcctct taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
 taccCAAatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
 ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac cactaattac 300
 ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc tcctcttggg 360

gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420
 atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 185

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 185

ataggagttt atggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggagttata 60
 gacacgcctt gctggatagt aaaagcggcc cttctttgct cagaaaaaaa gggaaactat 120
 gcttgcctct taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
 taccCAAatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
 ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
 ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc tcctcttggg 360
 gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 186

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 186

ataggagttt atggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggagttata 60
 gacacgcctt gctggatagt aaaagcggcc cttctttgct cagaaaaaaa gggaaactat 120
 gcttgcctct taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
 taccCAAatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240

ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagtgagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 187
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 187
ataggagttt atggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggagttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcggcc ctttcttgct cagaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctctc taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagtgagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 188
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 188
ataggagttt acggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ctttcttggt caggaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctctc taagagaaga ccaaggatgg tattgtcaaa atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacataa acatatctac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcactatc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagtgagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 189
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 189
ataggagttt acggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ctttcttggt caggaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctctc taagagaaga ccaaggatgg tattgtcaaa atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacataa acatatctac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcactatc tcctcttggg 360

gctttggttg cttgctacaa gggagtgagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420
atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 190
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 190
ataggagttt acggaagctc cgtaatttac atggtgcaac tgccaatctt tggagtata 60
gacacgcctt gctgtagt aaaagcggcc cttcttgct cagaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctct taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac cactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagtgagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420
atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 191
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 191
ataggagttt acggaagctc cgtaatttac atggtgcaac tgccaatctt tggggtata 60
gacacgcctt gctgtagt aaaagcagcc cttcttgct cagaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctct taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgactgtc tcctcttggg 360
gctctggttg cttgctacaa gggagtgagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420
atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 192
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 192
ataggagttt acggaagctc cgtaatttac atggtgcaac tgccaatctt tggagtata 60
gacacgcctt gctgtagt aaaagcggcc cttcttgct cagaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctct taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac cactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagtgagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 193

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 193

ataggagttt acggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggagtata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcggcc ctttcttgct cagaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctctt taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac cactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 194

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 194

ataggagttt acggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggggtata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ctttcttggt caggaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctctt taagagaaga ccaaggatgg tattgtcaaa atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacataa acatatctac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgactatc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 195

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 195

ataggagttt atggaagctc cgtaattttac atggtgcaac tgccaatctt tggagtata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcggcc ctttcttgct cagaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctctt taagagaaga tcaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacatca acatatccac tactaattac 300
ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgactgtc tcctcttggg 360
gctttggttg cttgctacaa gggagttagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 196
 <211> 449
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 196
 ataggagttt acggaagctc cgtaatttac atggtgcaac tgccaatctt tggggttata 60
 gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ccttcttggt caggaaaaaa gggaaactat 120
 gcttgccctt taagagaaga ccaaggatgg tattgtcaaa atgcagggtc aactgtttac 180
 tacccaaatg aaaaagactg tgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
 ggaatcaatg ttgctgagca gtcaaaggag tgcaacataa acatatctac tactaattac 300
 ccatgcaaag ttagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactatc tcctcttggg 360
 gctttggttg cttgctacaa gggagtgagc tgttccattg gcagcaacag agtagggatc 420

 atcaagcaac tgaacaaagg ctgctctta 449

<210> 197
 <211> 449
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 197
 atagggtct acgggagctc tgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcggtata 60
 gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ccctcttggt ccgaaaaaa gggaaactat 120
 gcttgccctt taagagaaga ccaagggtgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
 tacccaaatg agaaagactg tgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
 ggaattaatg ttgctgagca atcaaaggag tgcaacatca acatatccac taaaaattac 300
 ccatgcaaag tcagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc ccctcttggg 360
 gctctggttg cttgctacaa aggagtaagc tgttccattg gcagcaatag agtagggatt 420

 atcaagcagc tgaacaaagg ttgctctta 449

<210> 198
 <211> 449
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 198
 atagggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcgtcata 60
 gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ccctcttggt ccgaaaaaa gggaaactat 120
 gcttgccctt taagagaaga tcaagggtgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
 tacccaaatg agaaagactg tgaaacaaga ggagaccatg tcttttgcga cacagcagca 240
 ggaattaatg ttgctgagca atcaaaagag tgcaacatca acatatccac taaaaattac 300
 ccatgcaaag tcagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc ccctcttggg 360
 gctctagtgt cttgctacaa aggagtaagc tgttccattg gcagcaatag agtagggatc 420

 atcaagcagc tgaacaaagg ttgctccta 449

<210> 199
 <211> 449
 <212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 199

ataggggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcgtcata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ccctcttggt ccgaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctt taagagaaga tcaagggtgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg agaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagtagca 240
ggaattaatg ttgctgagca atcaaaagag tgcaacatca acatateccac tacaaattac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc ccctcttggg 360
gctctagttg cttgctacaa aggagtaagc tgttccattg gcagcaatag agtagggatc 420

atcaagcagc tgaacaaagg ttgctccta 449

<210> 200

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 200

ataggggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcgtcata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ccctcttggt ccgaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctt taagagaaga tcaagggtgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg agaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
ggaattaatg ttgctgagca atcaaaagag tgcaacatca acatateccac tacaaattac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc ccctcttggg 360
gctctagttg cttgctacaa aggagtaagc tgttccattg gcagcaatag agtagggatc 420

atcaagcagc tgaacaaagg ttgctccta 449

<210> 201

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 201

ataggggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcgttata 60
gacacgccct gctggatagt aaaagcagcc ccctcttggt ccgaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctc taagagaaga ccaagggtgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180

taccctaatg agaaggactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
ggaattaatg ttgctgagca atcaaggag tgcaacatca acatateccac cacaaattac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aaggcatcct atcagtatgg ttgcaactgtc ccctcttggg 360
gctctggttg cttgttataa aggagtaagc tgttctattg gcagcaatag agtagggatc 420
atcaagcagc tgaacaaagg ttgctctta 449

<210> 202

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 202

ataggggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcggtata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc cctcttgtt ccgaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctc taagagaaga ccaaggggtg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg agaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
ggaattaatg ttgctgagca atcaaaggag tgcaacatca acatatccac tacaaattac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc tcctcttggg 360
gctctagttg cttgctacaa aggagtaagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcagc tgaacaaagg ttgctccta 449

<210> 203

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 203

ataggggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcggtata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc cctcttgtt ccgaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctc taagagaaga ccaaggggtg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg agaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
ggaattaatg ttgctgagca atcaaaggag tgcaacatca acatatccac cacaattac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aaggcatcct atcagtatgg ttgcaactgtc ccctcttggg 360
gctctggttg cttgttataa aggagtaagc tgttctattg gcagcaatag agtagggatc 420

atcaagcagc tgaacaaagg ttgctctta 449

<210> 204

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 204

ataggggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcggtata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc cctcttgtt ccgaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctc taagagaaga ccaaggggtg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg agaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
ggaattaatg ttgctgagca atcaaaggag tgcaacatca acatatccac tacaaattac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcaactgtc tcctcttggg 360
gctctggttg cttgctacaa aggagtaagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcagc tgaacaaagg ttgctccta 449

<210> 205

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 205

ataggggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcggtata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc cttcttgtt ccgaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctctt taagagaaga ccaagggtgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg agaaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
ggaattaatg ttgctgagca atcaaaggag tgcaacatca acatatccac tacaaattac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgactgtc tcctcttggg 360
gctctggttg cttgctacaa aggagtaagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcagc tgaacaaagg ttgctccta 449

<210> 206

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 206

ataggggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcggtata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc cttcttgtt ccgaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctctt taagagaaga ccaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg agaaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
ggaattaatg ttgctgagca atcaaaggag tgcaacatca acatatccac cacaattac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aaggcatcct atcagtatgg ttgactgtc ccctctcggg 360
gctctggttg cctgttacaa aggagtaagt tgttcattg gcagcaatag agtagggatc 420

atcaagcagc tgaacaaagg ttgctctta 449

<210> 207

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 207

ataggggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcggtata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc cttcttgtt ccgaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctctt taagagaaga ccaagggtgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg agaaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
ggaattaatg ttgctgagca atcaaaggag tgcaacatca acatatccac tacaaattac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgactgtc tcctcttggg 360
gctctggttg cttgctacaa aggagtaagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

ataaagcagc tgaacaaagg ttgctccta 449

<210> 208

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 208

ataggggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcggtata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc cttcttgtt ccgaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctct taagagaaga ccaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg agaaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
ggaattaatg ttgctgagca atcaaaggag tgcaacatca acatatccac cacaattac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aaggcatcct atcagtatgg ttgcactgtc ccctctcggg 360
gctctggttg cctgttaca aggagtaagt tgttcattg gcagcaatag agtagggatc 420

atcaagcagc tgaacaaagg ttgctctta 449

<210> 209

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 209

ataggggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcggtata 60
gacacacctt gctggatagt aaaagcagcc cttcttgtt ccgaaaaaaa gggaaattat 120
gcttgctct taagagaaga ccaagggtgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg agaaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
ggaattaatg ttgctgagca atcaaaggaa tgcaacatca acatatccac tacaattac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcactgtc tcctcttggg 360
gctctggttg cttgctaca aggagtaagc tgttcattg gcagcaacag agtagggatc 420

atcaagcagc tgaacaaagg ttgctccta 449

<210> 210

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 210

ataggggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcggtata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc cttcttgtt ccgaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgctct taagagaaga ccaaggatgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg agaaagactg tgaacaaga ggagaccatg tcttttcga cacagcagca 240
ggaattaatg ttgctgagca atcaaaggag tgcaacatca acatatccac cacaattac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aaggcatcct atcagtatgg ttgcactgtc ccctctcggg 360
gctctggttg cctgttaca aggagtaagt tgttcattg gcagcaatag agtagggatc 420

atcaagcagc tgaacaaagg ttgctctta 449

<210> 211

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 211

ataggggtct acgggagctc cgtaatttac atggtgcagc tgccaatctt tggcggtata 60
gacacgcctt gctggatagt aaaagcagcc ccttcttggt ccgaaaaaaa gggaaactat 120
gcttgccctc taagagaaga ccaagggtgg tattgtcaga atgcagggtc aactgtttac 180
taccctaatg agaaagactg tgaaacaaga ggagaccatg tcttttgca cacagcagca 240
ggaattaatg ttgctgagca atcaaaggag tgcaacatca acatatccac tacaattac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacatcct atcagtatgg ttgcactgtc tcctcttggg 360
gctctggttg ctgctataa aggagtaagc tgttccattg gcagcaacag agtagggatc 420

ataaagcagc tgaacaaagg ttgctccta 449

<210> 212

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 212

ataggggtct acggaagctc cgtgatattac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttgct cagaaaaaaa cgggaattat 120
gcttgccctc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggtgatcatg ttttttgtga cacagcagca 240

gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggttg ctgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttggaatc 420
atcaacaat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 213

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 213

ataggggtct acggaagctc tgtgatattac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggatcat caaggcagct ccctcttgct cagaaaaaaa cgggaattat 120
gcttgccctc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc tactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggtgatcatg ttttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggttg ctgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaattg ggttggaatc 420

atcaacaat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 214

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 214

ataggggtct acggaagctc tgtgatattac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggatcat caaggcagct ccctcttgct cagaaaaaaa cgggaattat 120

gcttgcctcc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc tactgtttac 180
 tacccaaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240
 gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
 ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
 gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttggaatc 420

atcaaacaat tacccaaagg ctgctcata 449

<210> 215

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 215

ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
 gatacacctt gttggatcat caaggcagct cctcttgct cagaaaaaaa cggaattat 120
 gcttgcctcc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc tactgtttac 180
 tacccaaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240
 gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
 ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
 gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttggaatc 420

atcaaacaat tacccaaagg ctgctcata 449

<210> 216

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 216

ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
 gatacacctt gttggataat caaggcagct cctcttgct cagaaaaaaa cggaattat 120
 gcttgcctcc taagagagga tcaagggtgg tattgcaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
 tacccaaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240
 gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
 ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
 gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttggaatc 420

atcaaacaat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 217

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 217

ataggggtct acggaagctc cgtgatttac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
 gatacacctt gttggataat caaggcagct cctcttgct cagaaaaaaa cggaattat 120
 gcttgcctcc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
 tacccaaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240

gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacacct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttgaatc 420

atcaaacaat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 218
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 218
ataggggtct acggaagctc tgtaatttac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttgct cagaaaaaaaa cgggaattat 120
gcttgctccc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggtgatcatg ttttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacacct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttgaatc 420

atcaaacaat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 219
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 219
ataggggtct acggaagctc cgtgatattac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttgct cagaaaaaaaa cgggaattat 120
gcttgctccc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggtgatcatg ttttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacactct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttgaatc 420

atcaaacaat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 220
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 220
ataggggtct acggaagctc cgtgatattac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttgct cagaaaaaaaa cgggaattat 120
gcttgctccc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggtgatcatg ttttttgtga cacagcagca 240

gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300

ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggg 360
gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttggaatc 420
atcaaacaat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 221

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 221

ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctctttgct cagaaaaaaa cgggaattat 120
gcttgctccc taagagagga tcaaggggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg tgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggg 360
gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttggaatc 420
atcaaacaat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 222

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 222

ataggggtct acggaagctc cgtgatttac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctctttgct cagaaaaaaa cgggaattat 120
gcttgctccc taagagagga tcaaggggtgg tactgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggg 360
gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttggaatc 420
atcaaacaat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 223

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 223

ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atggttcaat tgccgatctt tggggtcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctctttgct cagaaaaaaa cgggaattat 120
gcttgctccc taagagagga tcaaggggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga tacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggg 360
gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttggaatc 420

atcaaacaat tacccaaagg ctgctcata 449

<210> 224

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 224

ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagcc cctcttctc cagagaaaaa cgggaattat 120
gcttgctctc taagagagga tcaaggggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tgtttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttgaatt 420

atcaaacaat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 225

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 225

ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctcttctc cagagaaaaa cgggaattat 120
gcttgctctc taagagagga tcaaggggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tgtttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttgaatc 420

atcaaacaat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 226

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 226

ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctcttctc cagaaaaaaa cgggaattat 120
gcttgctctc taagagagga tcaaggggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg tgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttgaatc 420

atcaaacaat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 227
 <211> 449
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 227
 ataggggtct acggaagctc cgtgatttac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
 gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttgct cagaaaaaaaa cgggaattat 120
 gcttgccctc taagagagga tcaaggggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
 tacccaaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg ttttttgtga cacagcagca 240
 gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
 ccatgcaaag tcagcacagg aagacacct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
 gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttggaatc 420

 atcaaacat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 228
 <211> 449
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 228
 ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
 gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttgct cagagaaaaa cgggaattat 120
 gcttgccctc taagagagga tcaaggggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
 tacccaaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tgttttgtga cacagcagca 240
 gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
 ccatgcaaag tcagcacagg aagacacct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
 gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttggaatc 420

 atcaaacat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 229
 <211> 449
 <212> DNA
 <213> Human metapneumo virus

<400> 229
 ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
 gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttgct cagaaaaaaaa cgggaattat 120
 gcttgccctc taagagagga tcaaggggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
 tacccaaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg ttttttgtga tacagcagca 240
 gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
 ccatgcaaag tcagcacagg aagacacct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
 gctttggtgg cttgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttggaatc 420

 atcaaacat tacccaaagg ctgctcata 449

<210> 230
 <211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 230

ataggggtct acggaagctc cgtgatttac atggttcaat tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttgct cagaaaaaaa cggaattat 120
gcttgctcc taagagagga tcaagggtgg tactgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacacct ataagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtgg ctgctataa aggggtaagc tgctcgattg gcagcaatcg ggttgaatc 420

atcaacaat tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 231

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 231

ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atggtccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttggt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgctcc taagagagga tcaagggtgg tattgcaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac caccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacacct atcagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtg ctgctacaa gggggttagc tgctcgattg gcagttaatc ggttgaata 420

atcaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 232

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 232

ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atggtccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttggt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgctcc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac caccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacacccc atcagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtg ctgctacaa aggggttagc tgctcgattg gcagttaatc ggttgaata 420

atcaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 233

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 233

ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atgggccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctcttgtt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgccctc taagagagga tcaaggggtg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac caccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacacct atcagcatgg ttgcactatc acctctcgg 360
gctttggtag cttgctacaa aggggttagc tgtcgtattg gcagtaatcg ggttggaata 420

atcaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 234

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 234

ataggggtct acggaagctc cgtgatttac atgggccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctcttgtt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgccctc taagagagga ccaaggggtg tattgtaaaa atgcgggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac aaccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacacct atcagcatgg ttgcactatc acctctcgg 360
gctttggtag cttgctacaa aggggttagc tgttcgattg gcagtaatcg ggttggaata 420

atcaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 235

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 235

ataggggtct acggaagctc cgtgatttac atgggccagc taccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctcttgtt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgccctc taagagagga tcaaggggtg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagctgca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatccac aaccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacacct atcagcatgg ttgcactgtc acctctcggc 360
gctttggtag cttgctacaa aggggttagc tgttcgattg gcagtaatcg ggttggaata 420

atcaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 236

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 236

ataggggtct acggaagctc cgtgatttac atgggccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttggt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgccctc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg ttttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac taccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct atcagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggttag ctgctacaa aggggttagc tgttcgattg gcagtaatcg ggttggaata 420

atcaaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 237

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 237

ataggggtct acggaagctc cgtgatttac atgggccagc tgccgatctt tgggtgcata 60

gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttggt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgccctc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg tgaacaaga ggtgatcatg ttttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac aaccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct atcagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggttag ctgctacaa aggggttagc tgttcgattg gcagtaatcg ggttggaata 420
atcaaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 238

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 238

ataggggtct acggaagctc cgtgatttac atgggccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttggt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgccctc taagagagga ccaagggtgg tattgtaaaa atgcgggatc cactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg ttttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac aaccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct atcagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggttag ctgctacaa aggggttagc tgttcgattg gcagtaatcg ggttggaata 420

atcaaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 239

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 239
ataggggtct acggaagctc cgtgatattac atgggtccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctctttgtt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgcctcc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggtgatcatg ttttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac aaccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct atcagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtag cttgctacaa aggggttagc tgttcgattg gcagtaatcg ggttggaata 420

atcaaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 240
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 240
ataggggtct acggaagctc cgtgatattac atgggtccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctctttgtt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgcctcc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg tgaacaaga ggtgatcatg ttttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac aaccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct atcagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtag cttgctacaa aggggttagc tgttcgattg gcagtaatcg ggttggaata 420

atcaaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 241
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 241

ataggggtct acggaagctc cgtgatattac atgggtccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctctttgtt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgcctcc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggtgatcatg ttttttgtga cacagctgca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac aaccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct atcagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtag cttgctacaa aggggttagc tgttcaattg gcagtaatcg ggttggaata 420
atcaaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 242
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 242
ataggggtct acggaagctc cgtgatattac atgggtccagc tgccgatctt tgggtgcata 60

gatacacctt gttggataat caaggcagct cctcttgtt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgctcc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagctgca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac aaccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacacct atcagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtag cttgctacaa aggggttagc tgttcaattg gcagtaatcg ggttgaata 420

atcaaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 243

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 243

ataggggtct acggaagctc cgtgatttac atggccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctcttgtt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgctcc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagctgca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac aaccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacacct atcagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggtag cttgctacaa aggggttagc tgttcgattg gcagtaatcg ggttgaata 420

atcaaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 244

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 244

ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atggccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctcttgtt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgctcc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagctgca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatccac aaccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacacct atcagcatgg ttgcactgic acctctcggc 360
gctttggtag cttgctacaa aggggttagc tgttcgattg gcagtaatcg ggttgaata 420

atcaaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 245

<211> 449

<212> DNA

<213> Human metapneumo virus

<400> 245

ataggggtct acggaagctc tgtgatttac atggccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct cctcttgtt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgctcc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
tacccaaatg aaaaagactg cgaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240

gggatcaacg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac caccaactat 300
ccgtgcaaag tcagcacagg aagacaccct atcagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggttag cttgctacaa aggggttagc tgtcgtattg gcagtaatcg ggttgaata 420

atcaaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 246
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 246
ataggggtct acggaagctc cgtgatttac atgggccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttggt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgctccc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagctgca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac aaccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct atcagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggttag cttgctacaa aggggttagc tgttcaattg gcagtaatcg ggttgaata 420

atcaaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 247
<211> 449
<212> DNA
<213> Human metapneumo virus

<400> 247
ataggggtct acggaagctc cgtgatttac atgggccagc tgccgatctt tgggtgcata 60
gatacacctt gttggataat caaggcagct ccctcttggt cagaaaaaga tggaaattat 120
gcttgctccc taagagagga tcaagggtgg tattgtaaaa atgcaggatc cactgtttac 180
taccctaatg aaaaagactg cgaaacaaga ggtgatcatg tttttgtga cacagcagca 240
gggatcaatg ttgctgagca atcaagagaa tgcaacatca acatatctac aaccaactac 300
ccatgcaaag tcagcacagg aagacaccct atcagcatgg ttgcactatc acctctcggt 360
gctttggttag cttgctacaa aggggttagc tgttcgattg gcagtaatcg ggttgaata 420

atcaaacaac tacctaaagg ctgctcata 449

<210> 248
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 248
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Gly Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu

50	55	60			
Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala					
65	70	75	80		
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser					
	85	90	95		
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser					
	100	105	110		
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly					
	115	120	125		
Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu					
	130	135	140		
Asn Lys Gly Cys Ser					
145					

<210> 249
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 249

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile					
1	5	10	15		
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser					
	20	25	30		
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln					
	35	40	45		
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu					
	50	55	60		
Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala					
65	70	75	80		
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser					
	85	90	95		
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser					
	100	105	110		
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly					
	115	120	125		
Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu					
	130	135	140		
Asn Lys Gly Cys Ser					
145					

<210> 250
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 250

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
      20           25           30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
      35           40           45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
      50           55           60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65           70           75           80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
      85           90           95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
      100          105          110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
      115          120          125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
      130          135          140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 251

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 251

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
      20           25           30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
      35           40           45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
      50           55           60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala

65           70           75           80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
      85           90           95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
      100          105          110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
      115          120          125
Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
      130          135          140

```

Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 252
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 252
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 253
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 253
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95

Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Asn Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 254

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 254

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Asn Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 255

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 255

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile

```

1           5           10          15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
          20          25          30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
          35          40          45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
          50          55          60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65          70          75          80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
          85          90          95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
          100          105          110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
          115          120          125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
          130          135          140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 256

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 256

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1           5           10          15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
          20          25          30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
          35          40          45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
          50          55          60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65          70          75          80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
          85          90          95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
          100          105          110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
          115          120          125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
          130          135          140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 257

<211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 257
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

 Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Asn Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 258
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 258
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

 Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu

130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 259
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 259
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 260
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 260
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser

85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Asn Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 261
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 261
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Arg Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Asn Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 262
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 262
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln

35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 263
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 263
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 264
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 264

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1             5             10             15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
      20             25             30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
      35             40             45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
      50             55             60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65             70             75             80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
      85             90             95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
      100            105            110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
      115            120            125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
      130            135            140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 265

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 265

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1             5             10             15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
      20             25             30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
      35             40             45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
      50             55             60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65             70             75             80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
      85             90             95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
      100            105            110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
      115            120            125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
      130            135            140
Asn Lys Gly Cys Ser

```

145

<210> 266
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 266
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

 Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Asn Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 267
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 267
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser

Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
100 105 110
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140

Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 268

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 268

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Gly Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140

Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 269

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 269

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Gly Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45

Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60
Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125
Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 270
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 270
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60
Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125
Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 271
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 271

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
          20           25           30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
          35           40           45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
          50           55           60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65           70           75           80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
          85           90           95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
          100           105           110

```

```

Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
          115           120           125
Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
          130           135           140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 272

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 272

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
          20           25           30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
          35           40           45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
          50           55           60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65           70           75           80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
          85           90           95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
          100           105           110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
          115           120           125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
          130           135           140
Asn Lys Gly Cys Ser

```


145

<210> 273
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 273
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

 Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Asn Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 274
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 274
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Gly Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95

Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser

100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125
Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 275

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 275

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 276

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 276

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Gly Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln

35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 277

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 277

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 278

<211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 278
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

 Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Asn Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 279
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 279
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Val Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

 Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu

130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 280
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 280
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 281
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 281
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser

85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Asn Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 282
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 282
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Asn Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 283
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 283
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln

35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

 Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Asn Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 284
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 284
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

 Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Asn Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 285
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 285

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
      20           25           30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
      35           40           45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
      50           55           60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65           70           75           80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
      85           90           95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
      100          105          110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
      115          120          125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
      130          135          140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 286

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 286

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
      20           25           30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
      35           40           45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
      50           55           60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65           70           75           80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
      85           90           95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
      100          105          110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
      115          120          125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
      130          135          140
Asn Lys Gly Cys Ser

```


145

<210> 287
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 287
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

 Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Asn Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 288
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 288
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser

Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
100 105 110
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 289
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 289
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 290
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 290
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45

Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80

Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95

Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110

Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140

Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 291

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 291

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15

Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Val Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30

Cys Ser Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45

Gly Trp Tyr Cys Gln Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80

Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Lys Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95

Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110

Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140

Asn Lys Gly Cys Ser
145

<210> 292

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 292

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
          20           25           30
Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
      35           40           45

```

```

Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50           55           60
Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65           70           75           80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
          85           90           95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
      100           105           110

```

```

Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
      115           120           125
Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
      130           135           140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 293

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 293

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
          20           25           30
Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
      35           40           45

```

```

Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50           55           60

```

```

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65           70           75           80

```

```

Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
          85           90           95

```

```

Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
      100           105           110

```

```

Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
      115           120           125

```

```

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Trp Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
      130           135           140

```

```

Pro Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 294
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 294
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

 Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140

Pro Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 295
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 295
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95

Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Pro Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 296
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 296
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Pro Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 297
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 297
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45

Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80

Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95

Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110

Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu

130 135 140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 298
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 298
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 299
<211> 149
<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 299

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
      20           25           30
Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
      35           40           45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
      50           55           60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65           70           75           80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
      85           90           95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Ser Ile Ser
      100          105          110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
      115          120          125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
      130          135          140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 300

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 300

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
      20           25           30
Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
      35           40           45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
      50           55           60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65           70           75           80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
      85           90           95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
      100          105          110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
      115          120          125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu

```


130 135 140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 301

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 301

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 302

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 302

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala

```

65              70              75              80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
              85              90              95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
              100              105              110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
              115              120              125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
              130              135              140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 303

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 303

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1      5      10      15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
      20      25      30
Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
      35      40      45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
      50      55      60

```

```

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65              70              75              80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
              85              90              95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
              100              105              110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
              115              120              125

```

```

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
              130              135              140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 304

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 304

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
          20           25           30
Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
          35           40           45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50           55           60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65           70           75           80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
          85           90           95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
          100          105          110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
          115          120          125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
          130          135          140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 305

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 305

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
          20           25           30
Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
          35           40           45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50           55           60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65           70           75           80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
          85           90           95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
          100          105          110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
          115          120          125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
          130          135          140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 306
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 306
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60
 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala

65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125
 Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Pro Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 307
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 307
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60
 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser

Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
100 105 110
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 308
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 308
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 309
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 309
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu

50	55	60
Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala		
65	70	75
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser		80
	85	90
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser		95
	100	105
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly		110
	115	120
		125
Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu		
130	135	140
Pro Lys Gly Cys Ser		
145		

<210> 310
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 310
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Asn Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala		
65	70	75
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser		80
	85	90
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser		95
	100	105
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly		110
	115	120
		125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu		
130	135	140
Pro Lys Gly Cys Ser		
145		

<210> 311
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 311

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Pro Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 312

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 312

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Pro Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 313
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 313
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

 Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Pro Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 314
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 314
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

 Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly

115	120	125
Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu		
130	135	140
Pro Lys Gly Cys Ser		
145		

<210> 315
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 315

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile		
1	5	10
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser		
20	25	30
Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln		
35	40	45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu		
50	55	60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala		
65	70	75
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser		
85	90	95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser		
100	105	110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly		
115	120	125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu		
130	135	140
Pro Lys Gly Cys Ser		
145		

<210> 316
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 316

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile		
1	5	10
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser		
20	25	30
Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln		
35	40	45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu		
50	55	60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 317

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 317

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 318

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 318

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15

Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 319

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 319

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 320

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 320

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
      20           25           30
Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
      35           40           45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50           55           60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65           70           75           80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
      85           90           95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
      100          105          110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
      115          120          125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
      130          135          140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

```

<210> 321

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 321

```

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1           5           10           15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
      20           25           30
Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
      35           40           45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50           55           60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65           70           75           80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
      85           90           95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
      100          105          110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
      115          120          125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
      130          135          140

```

Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 322
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 322
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95
Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110
Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140
Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 323
<211> 149
<212> PRT
<213> Human metapneumo virus

<400> 323
Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15
Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30
Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45
Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80
Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95

Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Pro Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 324
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 324
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45
 Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
 50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
 65 70 75 80
 Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
 85 90 95
 Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
 100 105 110
 Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
 115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
 130 135 140
 Pro Lys Gly Cys Ser
 145

<210> 325
 <211> 149
 <212> PRT
 <213> Human metapneumo virus

<400> 325
 Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
 1 5 10 15
 Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
 20 25 30
 Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
 35 40 45

Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80

Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95

Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110

Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140

Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 326

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 326

Ile Gly Val Tyr Gly Ser Ser Val Ile Tyr Met Val Gln Leu Pro Ile
1 5 10 15

Phe Gly Val Ile Asp Thr Pro Cys Trp Ile Ile Lys Ala Ala Pro Ser
20 25 30

Cys Ser Glu Lys Asp Gly Asn Tyr Ala Cys Leu Leu Arg Glu Asp Gln
35 40 45

Gly Trp Tyr Cys Lys Asn Ala Gly Ser Thr Val Tyr Tyr Pro Asn Glu
50 55 60

Lys Asp Cys Glu Thr Arg Gly Asp His Val Phe Cys Asp Thr Ala Ala
65 70 75 80

Gly Ile Asn Val Ala Glu Gln Ser Arg Glu Cys Asn Ile Asn Ile Ser
85 90 95

Thr Thr Asn Tyr Pro Cys Lys Val Ser Thr Gly Arg His Pro Ile Ser
100 105 110

Met Val Ala Leu Ser Pro Leu Gly Ala Leu Val Ala Cys Tyr Lys Gly
115 120 125

Val Ser Cys Ser Ile Gly Ser Asn Arg Val Gly Ile Ile Lys Gln Leu
130 135 140

Pro Lys Gly Cys Ser
145

<210> 327

<211> 149

<212> PRT

<213> Human metapneumo virus

<400> 327

Ile	Gly	Val	Tyr	Gly	Ser	Ser	Val	Ile	Tyr	Met	Val	Gln	Leu	Pro	Ile
1				5				10					15		
Phe	Gly	Val	Ile	Asp	Thr	Pro	Cys	Trp	Ile	Ile	Lys	Ala	Ala	Pro	Ser
			20					25					30		
Cys	Ser	Glu	Lys	Asp	Gly	Asn	Tyr	Ala	Cys	Leu	Leu	Arg	Glu	Asp	Gln
		35					40					45			
Gly	Trp	Tyr	Cys	Lys	Asn	Ala	Gly	Ser	Thr	Val	Tyr	Tyr	Pro	Asn	Glu
	50					55				60					
Lys	Asp	Cys	Glu	Thr	Arg	Gly	Asp	His	Val	Phe	Cys	Asp	Thr	Ala	Ala
65					70					75				80	
Gly	Ile	Asn	Val	Ala	Glu	Gln	Ser	Arg	Glu	Cys	Asn	Ile	Asn	Ile	Ser
			85						90					95	
Thr	Thr	Asn	Tyr	Pro	Cys	Lys	Val	Ser	Thr	Gly	Arg	His	Pro	Ile	Ser
		100						105					110		
Met	Val	Ala	Leu	Ser	Pro	Leu	Gly	Ala	Leu	Val	Ala	Cys	Tyr	Lys	Gly
		115					120					125			
Val	Ser	Cys	Ser	Ile	Gly	Ser	Asn	Arg	Val	Gly	Ile	Ile	Lys	Gln	Leu
	130					135					140				
Pro	Lys	Gly	Cys	Ser											
145															