



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101563361 B

(45) 授权公告日 2014. 01. 29

(21) 申请号 200680041958. 9

代理人 黄革生 隗永良

(22) 申请日 2006. 10. 19

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

C07K 14/11 (2006. 01)

60/728, 449 2005. 10. 19 US

A61K 39/145 (2006. 01)

60/754, 881 2005. 12. 29 US

C12N 7/00 (2006. 01)

60/759, 162 2006. 01. 14 US

60/761, 451 2006. 01. 23 US

60/779, 080 2006. 03. 03 US

11/409, 416 2006. 04. 21 US

(56) 对比文件

CN 101253267 A, 2008. 08. 27, 权利要求

1-16, 18-24, 36-40, 43-57.

WO 2006/116082 A1, 2006. 11. 02, 权利要求

1-16, 18-24, 36-40, 43-57.

WO 2004/057021 A2, 2004. 07. 08, 全文.

CRAWFORD PC ET AL. Transmission

of Equine influenza virus to dogs.

《SCIENCE》. 2005, 第 310 卷 (第 5747

期), 482-485.

CRAWFORD PC ET AL. Influenza A virus (A/

canine/Texas/1/2004(H3N8)) hemagglutinin gene, DQ124196, 1695bp, RNA linear, partial cds. 《NCBI》. 2005, 1-2.

Manuguerra J et al. Natural infection of dogs by influenza C virus. 《Research in Virology》. 1992, 第 143 卷 (第 1 期), 199-204.

PEEK SF ET AL. Acute respiratory distress syndrome and fatal interstitial pneumonia associated with equine influenza in a neonatal foal. 《JOURNAL OF VETERINARY INTERNAL MEDICINE》. 2004, 第 18 卷 (第 1 期), 132-134.

审查员 朱宁

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2008. 05. 09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2006/041061 2006. 10. 19

(87) PCT国际申请的公布数据

W02007/047938 EN 2007. 04. 26

(73) 专利权人 佛罗里达大学研究基金公司

地址 美国佛罗里达州

专利权人 疾病控制和预防中心, 健康公共事业部部长所代表的美国政府
康乃尔研究基金会有限公司
因特韦特国际有限公司

(72) 发明人 P·C·克劳福德 P·J·吉布斯

E·J·杜博维 R·O·多尼斯

J·卡茨 A·I·克利莫夫

N·P·拉克什曼 M·A·卢姆

D·G·E·古瓦尔特斯

M·W·梅伦坎普 N·J·考克斯

W·L·卡斯尔曼

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

权利要求书2页 说明书115页

序列表224页 附图8页

(54) 发明名称

能够感染犬科动物的流感病毒及其用途

(57) 摘要

本发明涉及分离的流感病毒, 其能够感染犬科动物和在犬科动物中引起呼吸系统疾病。本发明还涉及用于诱导针对本发明的流感病毒的免疫应答的组合物和方法。本发明还涉及用于鉴定本

发明的病毒和诊断本发明病毒对动物的感染的组合物和方法。

1. 分离的流感病毒,其能够感染犬科动物,其中所述流感病毒的基因组由分别编码氨基酸序列如 SEQ ID NO :48、50、52、54、56、58、60 和 62 所示的多肽的多核苷酸组成,其中所述流感病毒具有 H3 的 HA 血清型。

2. 根据权利要求 1 的流感病毒,其中所述流感病毒的基因组由核苷酸序列如 SEQ ID NO :47、49、51、53、55、57、59、和 61 所示的多核苷酸组成。

3. 根据权利要求 1 的流感病毒,其中所述流感病毒被灭活或减毒。

4. 疫苗,其包含根据权利要求 1-3 中任一项的流感病毒,其中所述流感病毒在可药用载体或稀释剂中提供。

5. 寡核苷酸,其中所述寡核苷酸的核苷酸序列如 SEQ ID NO :79、80 或 81 任一个中所示。

6. 根据权利要求 5 的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸还包含可检测的标记或者报告分子。

7. 细胞,其包含权利要求 1-3 中任一项所述的流感病毒。

8. 根据权利要求 7 的细胞,其中所述细胞是犬科动物细胞。

9. 权利要求 1-3 中任一项的流感病毒在制备用于检测能够感染犬科动物的流感病毒的药盒中的用途。

10. 根据权利要求 5 或 6 的寡核苷酸在制备用于检测能够感染犬科动物的流感病毒的药盒中的用途。

11. 特异结合根据权利要求 1-3 中任一项的流感病毒的多核苷酸或者基因序列的正向和反向寡核苷酸引物或探针在制备用于检测所述病毒的药盒中的用途,其中所述引物的核苷酸序列如 SEQ ID NO :79 或 80 所示,所述探针的核苷酸序列如 SEQ ID NO :81 所示。

12. 用于保护犬科动物免于 H3 流感病毒感染的药盒,其中该药盒包含:

治疗有效量的疫苗,该疫苗包含根据权利要求 1-3 中任一项的流感病毒抗原,和选自下列的至少一种组分:

用于将疫苗施用于所述犬科动物的装置,

帮助将疫苗施用于所述犬科动物的可药用赋形剂,和

与疫苗一起同时被犬科动物消费的食物。

13. 用于保护犬科动物免于 H3 流感病毒感染的药盒,其中该药盒包含:

治疗有效量的疫苗,该疫苗包含根据权利要求 1-3 中任一项的流感病毒抗原,和选自下列的至少一种组分:

用于将疫苗施用于所述犬科动物的装置,

增强犬科动物对该疫苗的免疫应答的可药用赋形剂,和

与疫苗一起同时被犬科动物消费的零食。

14. 根据权利要求 12 或 13 的药盒,其中:

该药盒包含两次剂量的所述疫苗;和

该两次剂量一起包含所述疫苗的治疗有效量。

15. 根据权利要求 12 或 13 的药盒,其中该药盒包含用于将疫苗皮下施用于所述犬科动物的装置。

16. 根据权利要求 12 或 13 的药盒,其中该药盒包含用于将疫苗鼻内施用于所述犬科动

物的装置。

能够感染犬科动物的流感病毒及其用途

[0001] 相关申请的参考

[0002] 本申请是 2006 年 4 月 21 日提交的申请美国序列号 11/409,416 的部分继续申请；并且本申请要求 2005 年 10 月 19 日提交的美国序列号 60/728,449；2005 年 12 月 29 日提交的美国序列号 60/754,881；2006 年 1 月 14 日提交的美国序列号 60/759,162；2006 年 1 月 23 日提交的美国序列号 60/761,451；和 2006 年 3 月 3 日提交的美国序列号 60/779,080 的优先权，将它们的公开都完整（包括发明简述、详述、实施例、权利要求、摘要、附图、表、核酸序列、氨基酸序列和图）引入本文作为参考。

[0003] 发明背景

[0004] “狗舍咳嗽”或者感染性气管支气管炎 (ITB) 是狗中的急性、传染性呼吸系统感染，其特征主要是咳嗽 (Ford et al, 1998)。犬 ITB 被认为是世界上狗的最普遍的感染性呼吸系统疾病，并且当狗在高密度群体环境如狗舍中居住时，爆发可以达到流行性比例。多数爆发是由于直接的狗-狗接触或者呼吸系统分泌物的气雾化 (Ford et al, 1998)。临床病征由细菌和病毒的一种或者组合感染引起，所述细菌和病毒可以在上呼吸道和下呼吸道的上皮组织中建群。犬科动物副流感病毒 (CPiV) 和支气管博德特氏菌 (*Bordetella bronchiseptica*) 细菌是从受侵袭的狗分离的最常见的生物，但是几种其他病毒，如犬科动物瘟热病毒 (CDV) 和犬科动物腺病毒-1 和 -2 (CAV-1, CAV-2)，以及细菌如链球菌 (*Streptococcus* sp.)、*Pasteurella multocida* 和大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 可以影响临床过程和结果 (Ford et al, 1998)。尽管在高密度群体中爆发最有效和快速发生，具有高的发病率，但是并发的呼吸系统感染和死亡是不常见的。尽管可以发生威胁生命的继发性细菌性肺炎，但是多数 ITB 病例是自身限制性的并且在没有任何治疗下消退 (Ford et al, 1998)。

[0005] 在 1992 年 7 月，推测为“狗舍咳嗽”的呼吸系统感染在新英格兰 (New England)、佛罗里达 (Florida)、西弗吉尼亚 (West Virginia)、威斯康辛 (Wisconsin)、堪萨斯 (Kansas)、科罗拉多 (Colorado)、俄克拉荷马 (Oklahoma) 和亚利桑那州 (Arizona) 的几个灵 提 赛场 (greyhound track) 变得流行。从兽医了解到，多数受侵袭的狗具有后来消退的轻微咳嗽，但是一打以上的灵 提 患上了急性出血性肺炎，接着快速死亡 (Greyhound Daily News, 1999)。

[0006] 在 1998 年下半年到 1999 年上半年，在美国的竞赛灵 提 狗舍中发生了几次“狗舍咳嗽”爆发，导致强制关闭赛场和隔离美国的所有竞赛灵 提 数周 (Greyhound Daily News, 1999)。在佛罗里达的一个赛场 (Palm Beach Kennel Club)，在一天中几乎 40% 的狗群体中记录到咳嗽（来自 William Duggar 博士的个人交流）。类似于 1992 年的爆发，该咳嗽在多数灵 提 中消退，但是佛罗里达的 10 只狗死于“狗舍咳嗽”非特征性的出血性肺炎综合征 (Putnam, 1999)。

[0007] 在 2003 年 3 月-4 月，在美国东部的灵 提 赛场发生“狗舍咳嗽”的另一次爆发。认为该爆发在佛罗里达的四个赛场开始，并且因此几乎三周中止比赛和狗的隔离。在 West

Palm Beach 的赛场几乎 25% 的狗受到侵袭,而 St. Petersburg 的 Derby Lane 中 1400 条狗几乎 50% 发生咳嗽。再一次,多数狗恢复,但是一些狗死于呼吸系统感染。仅在 Derby Lane 的呼吸爆发的估计的经济影响为 2 百万美元。

[0008] 没有公开的报导记载在 1992、1998-1999 或 2003 年在竞赛灵 提狗舍中“狗舍咳嗽”流行的病因或者临床病理。假定该感染是由于 CPiV 和 / 或支气管博德特氏菌:狗舍咳嗽的两种最常见的病因。未证实的交流,如网站已经将在一些咳嗽的狗中报导的致命的出血性肺炎规因于 β -溶血性马链球菌兽瘟亚种 (*Streptococcus equi subspecies zooepidemicus*),并且将该综合征称作“犬链球菌中毒性休克”。

[0009] 病毒从一个宿主物种传染到另一个是流感病毒的生态学和流行病学的关键特征 (Webster, 1998)。流感病毒的物种间传染的两个基本机制是可能的 (Webster et al., 1992; Lipatov et al., 2004)。一种是基本上未变的病毒从一个物种直接转移到另一个物种。该机制的实例包括最近的家禽流感病毒的 H5N1 亚型对人的感染 (Subbarao et al., 1998; Peiris et al., 2004; Guan et al., 2004) 和可能地 1918 年的大流行,称作西班牙流感 (Reid et al., 2004)。第二种机制是流感病毒基因组的区段化性质的结果。用来自不同物种的病毒共感染宿主可以导致区段化病毒基因的重排列,和产生能够感染其他物种的重组体。例如,鸟类和人流感病毒之间基因重排列产生的新的病毒在 1957 和 1968 年导致人类流感大流行 (Webster et al., 1992; Lipatov et al., 2004; Kawaoka et al., 1989)。

[0010] 未改变的流感病毒从自然宿主物种向不同物种的多数直接传播是最终事件,因为在新物种的个体之间的持续传播不能发生。多种病毒-宿主相互作用是复制和水平传播所必须的并且为流感病毒在新的宿主中的永续性提供了强大的屏障 (Webby et al., 2004)。因此,流感病毒的新的宿主特异性谱系的建立是不常见的并且仅仅在驯养的家禽、猪、马和人类中发生 (Webster et al., 1992; Lipatov et al., 2004)。

[0011] 因为流感病毒感染的严重性质,所以仍然需要诊断、预防和治疗流感病毒感染的方法。

[0012] 发明概述

[0013] 本发明涉及分离的流感病毒,其能够感染犬科动物和在犬科动物中引起呼吸系统疾病。本发明还涉及用于诱导针对本发明的流感病毒的免疫应答的组合物和方法。本发明还涉及用于鉴定本发明的病毒和诊断本发明的病毒对动物的感染的组合物和方法。

[0014] 本发明的一方面涉及保护犬科动物免于犬科动物流感的疫苗和方法、包含此类疫苗的药盒,和使用此类疫苗的方法。该保护包括防止流感和 / 或其一种或多种 (通常两种或多种) 症状、减轻其危险、延迟其发作、减少其扩散、将其减轻、抑制和 / 或消除。认为本发明的疫苗、药盒和方法一般适用于犬科动物。犬科动物包括野生的、动物园的和驯养的犬科动物,包括狼、郊狼和狐狸。犬科动物还包括狗,尤其驯养的狗,如纯种和 / 或杂种陪伴狗、表演狗、役用狗、放牧狗、猎狗、守卫狗、警犬、赛犬和 / 或实验用狗。

[0015] 本发明还部分涉及保护犬科动物免于流感病毒感染 (例如,预防、减轻危险、延迟发作、抑制、减轻或消除流感病毒感染) 的方法。该方法包括施用治疗有效量的疫苗,其包含至少一种马流感病毒抗原、至少一种 H3 流感病毒抗原,和 / 或至少一种 H7 流感病毒抗原。

[0016] 本发明还部分涉及保护犬科动物免于犬科动物流感病毒引起的呼吸系统损伤

(例如,预防、减轻危险、延迟发作、抑制、减轻或消除呼吸系统损伤)的方法。该方法包括对犬科动物施用治疗有效量的疫苗,其包含至少一种马流感病毒抗原、至少一种 H3 流感病毒抗原,和 / 或至少一种 H7 流感病毒抗原。

[0017] 本发明还部分涉及保护犬科动物免于犬科动物流感病毒感染引起的在鼻或口分泌物中具有犬科动物流感病毒(例如,预防、减轻危险、延迟发作、抑制、减轻或消除鼻或口分泌物中的犬科动物流感病毒)的方法。该方法包括对犬科动物施用治疗有效量的疫苗,其包含至少一种马流感病毒抗原、至少一种 H3 流感病毒抗原,和 / 或至少一种 H7 流感病毒抗原。

[0018] 本发明还部分涉及犬科动物流感疫苗。在一些实施方案中,例如,该疫苗包含治疗有效量的至少一种马流感病毒抗原、至少一种 H3 流感病毒抗原,和 / 或至少一种 H7 流感病毒抗原。

[0019] 本发明还部分涉及用于保护犬科动物免于流感病毒感染的药盒。该药盒包含治疗有效量的疫苗,该疫苗包含至少一种马流感病毒抗原、至少一种 H3 流感病毒抗原,和 / 或至少一种 H7 流感病毒抗原。此外,所述药盒包含至少一种下面的:

[0020] 用于对犬科动物施用所述疫苗的装置,

[0021] 可药用赋形剂,其帮助将疫苗施用于犬科动物,

[0022] 可药用赋形剂,其增强犬科动物对所述疫苗的免疫应答,

[0023] 将被犬科动物与疫苗同时消费的食物,和 / 或

[0024] 将被犬科动物与疫苗同时消费的饮食(treat)。

[0025] 申请人的本发明的其他优点将在阅读该说明书后对本领域技术人员是显而易见的。

[0026] 附图简述

[0027] 图 1A-1B 显示了血凝素基因之间的系统发生关系。图 1A 显示了来自代表性犬、人、鸟类、猪和马分离群,包括作为外类群的 A/Budgerigar/Hokkaido/1/77(H4) 的 HA 基因树。图 1B 显示了使用 A/Duck/Ukraine/63(H3) 作为外类群,犬流感病毒 HA 基因与同一时期的和较老的马 HA 基因的树。通过近邻连接方法从核苷酸序列推论出系统树并且显示了 $\geq 90\%$ 的自展分析值。条形表示核苷酸改变数目 / 水平树枝的单位长度。

[0028] 图 2A-2B 显示了在肺中流感 H3 抗原的免疫组织化学检测。用针对 HA 血凝素的小鼠单克隆抗体检测肺组织切片并通过免疫过氧化物酶反应检测结合(褐色沉淀)。图 2A 显示了来自具有自发疾病的灵 **狻** 的支气管上皮。检测支气管上皮细胞细胞质和呼吸道腔和肺泡腔中巨噬细胞中的病毒 H3 抗原。图 2B 显示了用 A/canine/Florida/43/2004(H3N8) 接种后 5 天,来自狗的支气管上皮。在支气管上皮细胞细胞质中检测到病毒 H3 抗原。比例尺,66 μm 。

[0029] 图 3 显示了在死于与流感病毒感染有关的出血性肺炎的灵 **狻** 支气管中特征性组织学改变。对组织用 H&E 染色。上图:具有纤毛上皮细胞、粘液细胞和基细胞的正常支气管。下图:来自患有自发性流感的灵 **狻** 的支气管。支气管纤毛上皮细胞有坏死和糜烂。比例尺,100 μm 。

[0030] 图 4A-4B 显示了在 H3 血凝素基因中的系统发生关系。图 4A 显示了犬科动物流感病毒 HA 基因与同一时期的和较老的马 HA 基因的系统树。图 4B 显示了犬科动物流感病毒

HA 蛋白质与同一时期的和较老的马 HA 基因的系统树。通过近邻连接方法从基因或者氨基酸序列推论出系统树并且显示了 $\geq 80\%$ 的自展分析值。条形表示氨基酸改变数目/水平树枝的单位长度。

[0031] 图 5 显示了在死于与流感病毒感染有关的肺炎的狗的肺中支气管和支气管腺的上皮细胞中流感病毒 H3 蛋白质。上图：支气管中纤毛上皮细胞的糜烂。组织用 H&E 染色。下图：在支气管（左）和支气管腺（右）上皮细胞的细胞质中流感病毒 H3 蛋白质。将组织用针对流感病毒 H3 的单克隆抗体染色，通过免疫过氧化物酶反应检测（褐色沉淀）并用苏木精复染。

[0032] 图 6A-6D 显示了从扩增 10 倍连续体外稀释的转录的 RNA 标准得到的 H3 和基质基因（图 6A 和图 6B）的扩增图。通过起始 RNA 浓度的对数值对从每次稀释得到的阈值循环数（Ct）作图，构造 H3 和基质基因（图 6C 和图 6D）的标准曲线。

[0033] 图 7 显示用 10 倍连续稀释的病毒原种（包括 A/Wyoming/3/2003 和 A/canine/FL/242/2003）测试 Directigen Flu A 的灵敏性。紫色三角形指示阳性结果。

[0034] 序列简述

[0035] SEQ ID NO :1 是可以根据本发明使用的编码 PB2 蛋白质的犬科动物流感病毒（Florida/43/04）的核苷酸序列。

[0036] SEQ ID NO :2 是 SEQ ID NO :1 编码的氨基酸序列。

[0037] SEQ ID NO :3 是可以根据本发明使用的编码 PB1 蛋白质的犬科动物流感病毒（Florida/43/04）的核苷酸序列。

[0038] SEQ ID NO :4 是 SEQ ID NO :3 编码的氨基酸序列。

[0039] SEQ ID NO :5 是可以根据本发明使用的编码 PA 蛋白质的犬科动物流感病毒（Florida/43/04）的核苷酸序列。

[0040] SEQ ID NO :6 是 SEQ ID NO :5 编码的氨基酸序列。

[0041] SEQ ID NO :7 是可以根据本发明使用的编码 NS 蛋白质的犬科动物流感病毒（Florida/43/04）的核苷酸序列。

[0042] SEQ ID NO :8 是 SEQ ID NO :7 编码的氨基酸序列。

[0043] SEQ ID NO :9 是可以根据本发明使用的编码 NP 蛋白质的犬科动物流感病毒（Florida/43/04）的核苷酸序列。

[0044] SEQ ID NO :10 是 SEQ ID NO :9 编码的氨基酸序列。

[0045] SEQ ID NO :11 是可以根据本发明使用的编码 NA 蛋白质的犬科动物流感病毒（Florida/43/04）的核苷酸序列。

[0046] SEQ ID NO :12 是 SEQ ID NO :11 编码的氨基酸序列。

[0047] SEQ ID NO :13 是可以根据本发明使用的编码 MA 蛋白质的犬科动物流感病毒（Florida/43/04）的核苷酸序列。

[0048] SEQ ID NO :14 是 SEQ ID NO :13 编码的氨基酸序列。

[0049] SEQ ID NO :15 是可以根据本发明使用的编码 HA 蛋白质的犬科动物流感病毒（Florida/43/04）的核苷酸序列。

[0050] SEQ ID NO :16 是 SEQ ID NO :15 编码的氨基酸序列。

[0051] SEQ ID NO :17 是可以根据本发明使用的编码 PB2 蛋白质的犬科动物流感病毒

(FL/242/03) 的核苷酸序列。

[0052] SEQ ID NO:18 是 SEQ ID NO:17 编码的氨基酸序列。

[0053] SEQ ID NO:19 是可以根据本发明使用的编码 PB1 蛋白质的犬科动物流感病毒 (FL/242/03) 的核苷酸序列。

[0054] SEQ ID NO:20 是 SEQ ID NO:19 编码的氨基酸序列。

[0055] SEQ ID NO:21 是可以根据本发明使用的编码 PA 蛋白质的犬科动物流感病毒 (FL/242/03) 的核苷酸序列。

[0056] SEQ ID NO:22 是 SEQ ID NO:21 编码的氨基酸序列。

[0057] SEQ ID NO:23 是可以根据本发明使用的编码 NS 蛋白质的犬科动物流感病毒 (FL/242/03) 的核苷酸序列。

[0058] SEQ ID NO:24 是 SEQ ID NO:23 编码的氨基酸序列。

[0059] SEQ ID NO:25 是可以根据本发明使用的编码 NP 蛋白质的犬科动物流感病毒 (FL/242/03) 的核苷酸序列。

[0060] SEQ ID NO:26 是 SEQ ID NO:25 编码的氨基酸序列。

[0061] SEQ ID NO:27 是可以根据本发明使用的编码 NA 蛋白质的犬科动物流感病毒 (FL/242/03) 的核苷酸序列。

[0062] SEQ ID NO:28 是 SEQ ID NO:27 编码的氨基酸序列。

[0063] SEQ ID NO:29 是可以根据本发明使用的编码 MA 蛋白质的犬科动物流感病毒 (FL/242/03) 的核苷酸序列。

[0064] SEQ ID NO:30 是 SEQ ID NO:29 编码的氨基酸序列。

[0065] SEQ ID NO:31 是可以根据本发明使用的编码 HA 蛋白质的犬科动物流感病毒 (FL/242/03) 的核苷酸序列。

[0066] SEQ ID NO:32 是 SEQ ID NO:31 编码的氨基酸序列。

[0067] SEQ ID NO:33 是 SEQ ID NO:16 中显示的 HA 蛋白质的成熟形式,其中已经除去了 N-末端 16 个氨基酸的信号序列。

[0068] SEQ ID NO:34 是 SEQ ID NO:32 中显示的 HA 蛋白质的成熟形式,其中已经除去了 N-末端 16 个氨基酸的信号序列。

[0069] SEQ ID NO:35 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0070] SEQ ID NO:36 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0071] SEQ ID NO:37 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0072] SEQ ID NO:38 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0073] SEQ ID NO:39 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0074] SEQ ID NO:40 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0075] SEQ ID NO:41 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0076] SEQ ID NO:42 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0077] SEQ ID NO:43 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0078] SEQ ID NO:44 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0079] SEQ ID NO:45 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0080] SEQ ID NO:46 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

- [0081] SEQ ID NO :47 是可以根据本发明使用的编码 PB2 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Miami/2005) 的核苷酸序列。
- [0082] SEQ ID NO :48 是 SEQ ID NO :47 编码的氨基酸序列。
- [0083] SEQ ID NO :49 是可以根据本发明使用的编码 PB1 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Miami/2005) 的核苷酸序列。
- [0084] SEQ ID NO :50 是 SEQ ID NO :49 编码的氨基酸序列。
- [0085] SEQ ID NO :51 是可以根据本发明使用的编码 PA 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Miami/2005) 的核苷酸序列。
- [0086] SEQ ID NO :52 是 SEQ ID NO :51 编码的氨基酸序列。
- [0087] SEQ ID NO :53 是可以根据本发明使用的编码 NS 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Miami/2005) 的核苷酸序列。
- [0088] SEQ ID NO :54 是 SEQ ID NO :53 编码的氨基酸序列。
- [0089] SEQ ID NO :55 是可以根据本发明使用的编码 NP 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Miami/2005) 的核苷酸序列。
- [0090] SEQ ID NO :56 是 SEQ ID NO :55 编码的氨基酸序列。
- [0091] SEQ ID NO :57 是可以根据本发明使用的编码 NA 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Miami/2005) 的核苷酸序列。
- [0092] SEQ ID NO :58 是 SEQ ID NO :57 编码的氨基酸序列。
- [0093] SEQ ID NO :59 是可以根据本发明使用的编码 MA 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Miami/2005) 的核苷酸序列。
- [0094] SEQ ID NO :60 是 SEQ ID NO :59 编码的氨基酸序列。
- [0095] SEQ ID NO :61 是可以根据本发明使用的编码 HA 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Miami/2005) 的核苷酸序列。
- [0096] SEQ ID NO :62 是 SEQ ID NO :61 编码的氨基酸序列。
- [0097] SEQ ID NO :63 是可以根据本发明使用的编码 PB2 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Jacksonville/2005) 的核苷酸序列。
- [0098] SEQ ID NO :64 是 SEQ ID NO :63 编码的氨基酸序列。
- [0099] SEQ ID NO :65 是可以根据本发明使用的编码 PB1 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Jacksonville/2005) 的核苷酸序列。
- [0100] SEQ ID NO :66 是 SEQ ID NO :65 编码的氨基酸序列。
- [0101] SEQ ID NO :67 是可以根据本发明使用的编码 PA 蛋白质的犬科动物 流感病毒 (Jacksonville/2005) 的核苷酸序列。
- [0102] SEQ ID NO :68 是 SEQ ID NO :67 编码的氨基酸序列。
- [0103] SEQ ID NO :69 是可以根据本发明使用的编码 NS 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Jacksonville/2005) 的核苷酸序列。
- [0104] SEQ ID NO :70 是 SEQ ID NO :69 编码的氨基酸序列。
- [0105] SEQ ID NO :71 是可以根据本发明使用的编码 NP 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Jacksonville/2005) 的核苷酸序列。
- [0106] SEQ ID NO :72 是 SEQ ID NO :71 编码的氨基酸序列。

[0107] SEQ ID NO :73 是可以根据本发明使用的编码 NA 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Jacksonville/2005) 的核苷酸序列。

[0108] SEQ ID NO :74 是 SEQ ID NO :73 编码的氨基酸序列。

[0109] SEQ ID NO :75 是可以根据本发明使用的编码 MA 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Jacksonville/2005) 的核苷酸序列。

[0110] SEQ ID NO :76 是 SEQ ID NO :75 编码的氨基酸序列。

[0111] SEQ ID NO :77 是可以根据本发明使用的编码 HA 蛋白质的犬科动物流感病毒 (Jacksonville/2005) 的核苷酸序列。

[0112] SEQ ID NO :78 是 SEQ ID NO :77 编码的氨基酸序列。

[0113] SEQ ID NO :79 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0114] SEQ ID NO :80 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0115] SEQ ID NO :81 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0116] SEQ ID NO :82 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0117] SEQ ID NO :83 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0118] SEQ ID NO :84 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0119] SEQ ID NO :85 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0120] SEQ ID NO :86 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0121] SEQ ID NO :87 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0122] SEQ ID NO :88 是可以根据本发明使用的寡核苷酸。

[0123] 发明详述

[0124] 本发明涉及分离的流感病毒,其能够感染犬科动物和引起呼吸系统疾病。在一个实施方案中,本发明的流感病毒包含编码具有 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 任一个所示的氨基酸序列的蛋白质或者其功能和 / 或免疫原性片段或者变体的多核苷酸。在一个特定实施方案中,所述多核苷酸包含 SEQ ID NO :1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75 或 77 中任一个所示的核苷酸序列,或者其片段或者变体。本发明的流感病毒可以具有 H1、H2、H3、H4、H5、H6、H7、H8 和 H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15 或 H16 的 HA 亚型或 N1、N2、N3、N4、N5、N6、N7、N8 或 N9 的 NA 亚型。在特定实施方案中,本发明的流感病毒是亚型 H3。根据本文描述的方法,可以从受感染的狗分离病毒并在细胞或者蛋中培养。在示例的实施方案中,流感病毒是甲型流感病毒。

[0125] 本发明还涉及包含本发明的流感病毒的一种或多种基因或者基因组区段的全部或者部分的多核苷酸。在一个实施方案中,本发明的多核苷酸包含流感血凝素 (HA) 基因、神经氨酸酶 (NA) 基因、核蛋白 (NP) 基因、基质蛋白 (MA 或者 M) 基因、聚合酶碱性 (PB) 蛋白基因、聚合酶酸性 (PA) 蛋白基因、非结构 (NS) 蛋白基因,或者这些基因任一种的功能片段或者变体。在特定实施方案中,本发明的多核苷酸包含血凝素 (HA) 基因或者其功能片段或者变体。在另一实施方案中,HA 基因编码血凝素蛋白质,其与马 H3 共有序列的氨基酸序列相比,具有如下一个或多个:83 位的丝氨酸;222 位的亮氨酸;328 位的苏氨酸;和 / 或 483 位的苏氨酸。在一个实施方案中,HA 基因编码具有 SEQ ID NO :16、32、62 或 78 中所示

的氨基酸序列的多肽,或者其功能和 / 或免疫原性片段或者变体。在一个特定实施方案中,HA 基因包含 SEQ ID NO :15、31、61 或 77 中所示的核苷酸序列。

[0126] 在一个实施方案中,本发明的多核苷酸编码具有 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 的任一个中所示的氨基酸序列的多肽,或者其功能和 / 或免疫原性片段或者变体。在特定实施方案中,编码 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 中所示的氨基酸序列的多核苷酸分别包含 SEQ ID NO :1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75 或 77 中所示的核苷酸序列,或者编码 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 的任一项的功能和 / 或免疫原性片段或者变体的序列。从而,本发明涉及多核苷酸序列,其包含 SEQ ID NO :1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75 或 77 的任一项中所示的核苷酸序列,或者 SEQ ID NO :1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75 或 77 的任一项的片段或者变体,包括简并变体。在一个特定实施方案中,本发明的多核苷酸可以包含:SEQ ID NO :3 的核苷酸 1-2271;SEQ ID NO :5 的核苷酸 1-2148;SEQ ID NO :7 的核苷酸 1-657;SEQ ID NO :9 的核苷酸 1-1494;SEQ ID NO :11 的核苷酸 1-1410;SEQ ID NO :13 的核苷酸 1-756;SEQ ID NO :15 的核苷酸 1-1695;SEQ ID NO :19 的核苷酸 1-2271;SEQ ID NO :21 的核苷酸 1-2148;SEQ ID NO :23 的核苷酸 1-657;SEQ ID NO :25 的核苷酸 1-1494;SEQ ID NO :29 的核苷酸 1-756;SEQ ID NO :31 的核苷酸 1-1695;SEQ ID NO :47 的核苷酸 1-2277;SEQ ID NO :49 的核苷酸 1-2271;SEQ ID NO :51 的核苷酸 1-2148;SEQ ID NO :53 的核苷酸 1-690;SEQ ID NO :55 的核苷酸 1-1494;SEQ ID NO :57 的核苷酸 1-1410;SEQ ID NO :59 的核苷酸 1-756;SEQ ID NO :61 的核苷酸 1-1695;SEQ ID NO :63 的核苷酸 1-2277;SEQ ID NO :65 的核苷酸 1-2271;SEQ ID NO :67 的核苷酸 1-2148;SEQ ID NO :69 的核苷酸 1-690;SEQ ID NO :71 的核苷酸 1-1494;SEQ ID NO :73 的核苷酸 1-1410;SEQ ID NO :75 的核苷酸 1-756;和 SEQ ID NO :77 的核苷酸 1-1695。在本发明的范围内预期的病毒多核苷酸和多肽序列的核苷酸和氨基酸序列已经保存在 GenBank,检索号为 DQ124147 到 DQ124161 和 DQ124190,将其公开引入本文作为参考。

[0127] 本发明还涉及本发明的流感病毒的多核苷酸编码的多肽。本发明还涉及主题多肽的功能和 / 或免疫原性片段和变体。预期的多肽包括本发明的流感病毒的 HA 蛋白、NA 蛋白、NS 蛋白、核蛋白、聚合酶碱性蛋白、聚合酶酸性蛋白,和基质蛋白。在一个示例的实施方案中,本发明的多肽具有 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 任一项所示的氨基酸序列,或者其功能和 / 或免疫原性片段或变体。

[0128] 本发明还涉及包含本发明的多核苷酸序列的多核苷酸表达构建体。在一个实施方案中,本发明的表达构建体包含多核苷酸序列,该多核苷酸序列编码包含 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 任一项所示的氨基酸序列的多肽,或者其功能和 / 或免疫原性片段或变体。在特定实施方案中,编码 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、

32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 中所示的氨基酸序列的多核苷酸分别包含 SEQ ID NO :1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75 或 77 的任一个中所示的核苷酸序列,或者编码 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 任一个的功能和 / 或免疫原性片段或变体的序列。从而,本发明涉及包含多核苷酸序列的表达构建体,所述多核苷酸序列包含 SEQ ID NO :1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75 或 77 的任一个中所示的核苷酸序列,或者 SEQ ID NO :1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75 或 77 任一个的片段或者变体,包括简并变体。在优选实施方案中,本发明的表达构建体提供了本发明的有效连接的多核苷酸的过表达。

[0129] 本发明的表达构建体一般包括在预计的宿主细胞中有功能的调节元件,在所述宿主细胞中将表达该表达构建体。从而,本领域技术人员可以选择用于例如人类宿主细胞、哺乳动物宿主细胞、昆虫宿主细胞、酵母宿主细胞、细菌宿主细胞、和植物宿主细胞的调节元件。在一个实施方案中,调节元件是在犬科动物细胞中有功能的调节元件。调节元件包括启动子、转录终止序列、翻译终止序列、增强子、和多聚腺苷酸化元件。如本文所用的,术语“表达构建体”指核酸序列的组合,其提供了有效连接的核酸序列的转录。如本文所用的,术语“有效连接”指所述的元件的并列,其中所述元件处于允许它们以它们预期的方式发挥功能的关系中。通常,有效连接的元件为邻接的关系。

[0130] 本发明的表达构建体可以包含有效连接到编码本发明多肽的多核苷酸序列的启动子序列。使用本领域中已知的标准技术,可以将启动子掺入多核苷酸中。在本发明的表达构建体中可以使用启动子的多个拷贝或者多个启动子。在优选实施方案中,启动子与表达构建体中转录起始位点的距离可以与它与天然遗传环境中转录起始位点的距离相同。在该距离中允许一定的变化而不实质性降低启动子活性。在表达构建体中通常包括转录起始位点。优选地,与本发明的表达构建体结合的启动子提供了本发明的有效连接的多核苷酸的过表达。

[0131] 与本发明的表达构建体用于真核细胞中的启动子可以是病毒或者细菌来源的。病毒启动子包括,但不限于,巨细胞病毒 (CMV) 基因启动子、SV40 早期或者晚期启动子,或者劳斯肉瘤病毒 (RSV) 基因启动子。细胞来源的启动子包括,但不限于,结蛋白基因启动子和肌动蛋白基因启动子。适于与本发明的表达构建体用于酵母细胞的启动子包括,但不限于,3- 磷酸甘油酸酯激酶启动子、甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶启动子、金属硫蛋白启动子、醇脱氢酶 -2 启动子,和己糖激酶启动子。

[0132] 如果在植物细胞中提供或者向植物细胞中导入表达构建体,那么可以使用植物病毒启动子,如花椰菜花叶病毒 (CaMV) 35S (包括增强的 CaMV35S 启动子 (见,例如,美国专利号 5,106,739 和 An,1997)) 或者 CaMV 19S 启动子。可以用于植物中表达构建体的其他启动子包括,例如,prolifera 启动子、Ap3 启动子、热休克启动子、根癌农杆菌 (*A. tumefaciens*) 的 T-DNA1' - 或 2' - 启动子、多聚半乳糖醛酸酶启动子、来自牵牛花的查耳酮合酶 A (CHS-A) 启动子、烟草 PR-1a 启动子、泛蛋白启动子、肌动蛋白启动子、alcA 基因启动子、pin2 启动子 (Xu et al.,1993)、玉米 WipI 启动子、玉米 trpA 基因启动子 (美国专利号

5, 625, 136)、玉米 CDPK 基因启动子、和 RUBISCO SSU 启动子(美国专利号 5, 034, 322)。根特异的启动子,如美国专利号 6, 455, 760 或美国专利号 6, 696, 623 或公布的美国专利申请号 20040078841 ;20040067506 ;20040019934 ;20030177536 ;20030084486 ;或 20040123349 中描述的任一种启动子序列可以用于本发明的表达构建体。组成性启动子(如 CaMV、泛蛋白、肌动蛋白或者 NOS 启动子)、发育调节的启动子和诱导型启动子(如可以通过热、光、激素或者化学品诱导的那些启动子)也预期用于本发明的多核苷酸表达构建体。也可以使用组织特异性启动子,例如,果实特异性启动子,如番茄的 E8 启动子(检索号:AF515784 ;Good et al. (1994))。也可以使用种子特异性启动子,如来自 β - 菜豆蛋白基因(例如,菜豆的)或者大豆球蛋白基因(例如,大豆的)的启动子,和其他启动子。

[0133] 对于在原核系统中表达,本发明的表达构建体可以包含启动子,如碱性磷酸酶启动子、色氨酸(trp)启动子、 λ P_L启动子、 β - 内酰胺酶启动子、乳糖启动子、phoA 启动子、T3 启动子、T7 启动子、或者 tac 启动子(de Boer et al., 1983)。

[0134] 本发明的表达构建体可以任选含有转录终止序列、翻译终止序列、编码信号肽的序列,和 / 或增强子元件。转录终止区可以通常从真核生物或者病毒基因序列的 3' 非翻译区得到。转录终止序列可以位于编码区的下游以提供有效终止。信号肽序列是通常存在于蛋白质的氨基末端的短氨基酸序列,其负责有效连接的成熟多肽重定位到多种不同的翻译后细胞目的地,从特定细胞器隔室到蛋白质作用部位和细胞外环境。通过使用有效连接的信号肽序列将基因产物靶向预期的细胞和 / 或细胞外目的地预期用于本发明的多肽。典型的增强子是顺式作用元件,其增加基因转录并且可以包括在表达构建体中。典型的增强子元件是本领域中已知的,并且包括,但不限于, CaMV 35S 增强子元件、巨细胞病毒(CMV)早期启动子增强子元件,和 SV40 增强子元件。增强基因表达的内含子介导的增强子元件也是本领域中已知的。这些元件必须存在于转录区内并且是方向依赖性的。

[0135] 指导从表达构建体转录的 mRNA 的多聚腺苷酸化的 DNA 序列也可以包括在表达构建体中,并且包括,但不限于,章鱼碱合酶或者胭脂氨酸合酶信号。

[0136] 表达构建体还可以包括一种或多种显性选择标记基因,包括,例如,编码抗生素抗性和 / 或除草剂抗性用于选择转化细胞的基因。抗生素抗性基因可以提供对一种或多种下面的抗生素的抗性:潮霉素、卡那霉素、博来霉素、G418、链霉素、巴龙霉素、新霉素和大观霉素。通过新霉素磷酸转移酶(NPT II)可以提供卡那霉素抗性。除草剂抗性基因可以提供对膦丝菌素乙酰转移酶或者草甘膦的抗性。用于细胞转化筛选的其他标记包括,但不限于,编码 β - 葡萄糖醛酸糖苷酶(GUS)、 β - 半乳糖苷酶、萤光素酶、胭脂氨酸合成酶、氯霉素乙酰转移酶(CAT)、绿色荧光蛋白(GFP)或者增强的 GFP 的基因(Yang et al., 1996)。

[0137] 本发明还涉及包含编码本发明多肽的本发明的多核苷酸序列的多核苷酸载体。可以在本发明的表达构建体或者多核苷酸的 5' 和 3' 末端包括独特的限制酶位点以允许插入到多核苷酸载体中。如本文所用的,术语“载体”指任一遗传元件,包括例如,质粒、粘粒、染色体、噬菌体、病毒等等,其当与适当的控制元件结合时能够复制并且可以在细胞之间转移多核苷酸序列。载体含有允许载体在所选的宿主细胞中复制的核苷酸序列。许多载体可以用于表达和 / 或克隆,并且包括,但不限于, pBR322、pUC 系列、M13 系列、pGEM 系列、和 pBLUESCRIPT 载体(Stratagene, La Jolla, CA and Promega, Madison, WI)。

[0138] 本发明还涉及寡核苷酸探针和引物,如聚合酶链式反应(PCR)引物,其可以与本

发明多核苷酸的编码或非编码序列杂交。本发明的寡核苷酸探针可以用于检测流感病毒核酸序列的方法中。本发明的寡核苷酸引物可以用于 PCR 方法和涉及核酸扩增的其他方法中。在优选实施方案中,本发明的探针或引物可以与本发明的多核苷酸在严格条件下杂交。本发明的探针和引物可以任选包含检测标记或者报道分子,如荧光分子、酶、放射性部分,等等。本发明的探针和引物对于使用它们的方法或测定法可以是任何合适的长度。通常,本发明的探针和引物将长为 10 到 500 个或者更多核苷酸。在本发明的范围内预期长为 10 到 20、21 到 30、31 到 40、41 到 50、51 到 60、61 到 70、71 到 80、81 到 90、91 到 100 或 101 个或更多核苷酸的探针和引物。在一个实施方案中,探针和引物长为 9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30 个核苷酸的任一个。本发明的探针和引物可以与所述多核苷酸序列具有完全(100%)的核苷酸序列同一性,或者序列同一性可以小于 100%。例如,探针或引物和序列之间的序列同一性可以为 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、80%、75%、70% 或者任一其他百分数序列同一性,只要该探针或引物可以在严格条件下与本发明的多核苷酸的核苷酸序列杂交。本发明的示例的探针和引物包括具有 SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45 和 SEQ ID NO:46 的任一个中所示的核苷酸序列,或者 SEQ ID NO:35-46 的任一个的功能片段或者变体的那些探针和引物。

[0139] 如本文所用的,术语“核酸”、“多核苷酸”和“寡核苷酸”指单链或者双链形式的脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸或者混合的脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸聚合物,并且除非另外限制,将包括天然核苷酸的已知的类似物,其可以以类似于天然存在的核苷酸的方式发挥功能。多核苷酸序列包括可以转录成 RNA 的 DNA 链序列和可以翻译成蛋白质的 RNA 链。本发明的任一核酸、多核苷酸或者寡核苷酸的互补序列也预期在本发明的范围内。多核苷酸序列还包括全长序列以及衍生自全长序列的较短的序列。本发明还包括序列与本文公开的多核苷酸互补的那些多核苷酸。本发明的多核苷酸和多肽可以以纯化或者分离的形式提供。

[0140] 因为遗传密码的简并性,多种不同的多核苷酸序列可以编码本发明的多肽。在 Lewin(1985) 中描述了显示所有可能的三联体密码子(并且其中 U 也代表 T)和每个密码子编码的氨基酸的表格。此外,本领域技术人员完全能够产生编码与本发明的多肽相同或者基本相同的多肽的备选的多核苷酸序列。这些简并变体和备选多核苷酸序列在本发明的范围内。如本文使用的,对“基本上相同”的序列的引用指编码氨基酸替代、缺失、添加或者插入的序列,其不实质上改变本发明的多核苷酸编码的多肽的功能和/或免疫原性活性。

[0141] 本发明还涉及编码本发明多肽的本发明的多核苷酸的变体。变体序列包括那些序列,其中该序列的一个或多个核苷酸已经被替代、缺失和/或插入。可以替代 DNA 的天然核苷酸的核苷酸具有碱基部分,其可以包括,但不限于,次黄苷、5- 氟尿嘧啶、5- 溴尿嘧啶、次黄嘌呤、1- 甲基鸟嘌呤、5- 甲基胞嘧啶,和三苯甲基化碱基。序列中核苷酸的糖部分还可以是经修饰的并且包括,但不限于,阿拉伯糖、木酮糖和己糖。此外,可以用乙酰基、甲基和/或硫代基团修饰核苷酸的腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶和尿嘧啶碱基。使用本领域中已知的标准技术可以制备和测试含有核苷酸替代、缺失、和/或插入的序列。

[0142] 本发明的范围内还预期与本发明的多肽中那些特别示例或者天然存在的氨基酸

不同的氨基酸替代。例如,非天然氨基酸可以替代多肽的氨基酸,只要具有替代氨基酸的多肽基本上保留与没有替代的氨基酸的多肽相同的功能活性。非天然氨基酸的实例包括,但不限于,鸟氨酸、瓜氨酸、羟脯氨酸、高丝氨酸、苯基甘氨酸、牛磺酸、碘代酪氨酸、2,4-二氨基丁酸、 α -氨基异丁酸、4-氨基丁酸、2-氨基丁酸、 γ -氨基丁酸、 ϵ -氨基己酸、6-氨基己酸、2-氨基异丁酸、3-氨基丙酸、正亮氨酸、正缬氨酸、肌氨酸、高瓜氨酸、半胱氨酸、 τ -丁基甘氨酸、 τ -丁基丙氨酸、苯基甘氨酸、环己基丙氨酸、 β -丙氨酸、氟-氨基酸、设计者氨基酸,如 β -甲基氨基酸、C-甲基氨基酸、N-甲基氨基酸、和一般的氨基酸类似物。非天然氨基酸还包括具有衍生的侧基的氨基酸。此外,蛋白质中的任一氨基酸可以为 D(右旋)型或者 L(左旋)型。本发明的范围内还包括本发明多肽的蛋白质序列的等位基因变体。

[0143] 氨基酸可以一般以下面的类别分类:非极性的、不带电的极性的、碱性的和酸性的。保守替代(其中具有一个类别氨基酸的本发明的多肽用相同类别的另一氨基酸替代)落入本发明的范围内,只要具有替代的多肽仍然保留与不具有该替代的多肽基本上相同的功能活性。编码序列中具有一个或多个氨基酸替代的多肽的多核苷酸包括在本发明的范围内。下面的表 11 提供了属于每个类别的氨基酸的实例列表。在表 12 中定义了单字母氨基酸缩写。

[0144] 使用本领域中已知的标准方法可以产生本发明的流感病毒多肽的片段和变体并且使用本领域中已知的标准技术测试功能或者免疫原性的存在。例如,为了测试本发明的神经氨酸酶多肽的片段和/或变体,可以测定酶促活性。从而,普通技术人员可以容易制备和测试本发明多肽的片段和变体,并确定该片段或变体是否相对于全长或者非变异多肽保持活性。

[0145] 本发明范围内预期的多核苷酸和多肽也可以按照与本文特别示例的本发明的那些序列的更具体的同一性和/或相似性范围定义。序列同一性将通常大于 60%,优选大于 75%,更优选大于 80%,甚至更优选大于 90%,并且可以大于 95%。与本文示例的序列相比,序列的同一性和/或相似性可以为 49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98 或 99%。除非另外指出,如本文使用的,两个序列的百分比序列同一性和/或相似性可以使用 Karlin 和 Altschul(1990)的,如在 Karlin 和 Altschul(1993)中改进的算法确定。这种算法整合到 Altschul et al.(1990)的 NBLAST 和 XBLAST 程序中。可以用 NBLAST 程序,得分=100,字长=12 进行 BLAST 搜索,以得到具有所希望的百分比序列同一性的序列。为了得到用于比较目的的缺口比对,可以使用如 Altschul et al.(1997)的 Gapped BLAST。当利用 BLAST 和 Gapped BLAST 程序时,可以使用各自程序(NBLAST 和 XBLAST)的默认参数。见 NCBI/NIH 网站。

[0146] 本发明还预期这样的多核苷酸分子,其具有与本文示例的多核苷酸序列足够同源的序列,从而允许与该序列在标准的严格条件和标准方法(Maniatis et al.,1982)下杂交。如本文使用的,杂交的“严格”条件指这样的条件,其中通常在 6x SSPE,5x Denhardt 溶液,0.1% SDS,0.1mg/ml 变性 DNA 中低于 DNA 杂交分子的解链温度(T_m)20-25°C 下过夜进行。通过下面的公式描述解链温度 T_m (Beltz et al.,1983):

[0147] $T_m = 81.5C + 16.6\log[Na^+] + 0.41(\%G+C) - 0.61(\%甲酰胺) - 600/\text{双链体长度(以}$

碱基对计)。

[0148] 通常如下进行洗涤：

[0149] (1) 在 1x SSPE, 0.1% SDS 中室温下洗涤两次, 每次 15 分钟 (低严格洗涤)。

[0150] (2) 在 0.2x SSPE, 0.1% SDS 中 $T_m - 20^{\circ}\text{C}$ 下洗涤一次 15 分钟 (中等严格洗涤)。

[0151] 本发明还涉及本发明的流感病毒的基因编码的病毒蛋白质和肽。在一个实施方案中, 病毒蛋白是成熟 HA 蛋白。在特定实施方案中, 成熟的 HA 蛋白包含下面的一个或多个: 82 位的丝氨酸; 221 位的亮氨酸; 327 位的苏氨酸; 和 / 或 482 位的苏氨酸。在示例的实施方案中, 成熟的 HA 蛋白质具有 SEQ ID NO:33 或 SEQ ID NO:34 中所示的氨基酸序列, 或者 SEQ ID NO:33 或 SEQ ID NO:34 的功能和 / 或免疫原性片段或变体。在另一实施方案中, 病毒蛋白是 NA 蛋白、NS 蛋白、PB 蛋白、PA 蛋白、或者 MA 蛋白。本发明的病毒蛋白质和肽可以用于产生特异结合所述蛋白质或肽的抗体。本发明的病毒蛋白质和肽还可以用作疫苗组合物中的免疫原。

[0152] 本发明还涉及用于诱导针对流感病毒的免疫应答的组合物和方法, 所述流感病毒能够感染易感的宿主动物和引起呼吸系统疾病。本发明可以用于在易感的宿主动物中诱导针对任一亚型的流感病毒的免疫应答。例如, 流感病毒可以是 H1、H2、H3、H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15 或 H16 的 HA 亚型, 和 N1、N2、N3、N4、N5、N6、N7、N8 或 N9 的 NA 亚型。在一个实施方案中, HA 亚型是 H3 或者 H5。在另一实施方案中, NA 亚型是 N7 或者 N8。在特定实施方案中, 诱导针对亚型 H3N8 的流感病毒的免疫应答。在一个实施方案中, 宿主动物是犬科动物。犬科动物包括野生的、动物园的和驯养的犬科动物, 如狼、郊狼和狐狸。犬科动物还包括狗, 尤其驯养的狗, 如纯种和 / 或杂种陪伴狗、表演狗、役用狗、放牧狗、猎狗、守卫狗、警犬、赛犬和 / 或实验用狗。在特定实施方案中, 宿主动物是驯养的狗, 如 **狻**。在一个实施方案中, 对灵动物施用有效量的本发明的免疫原性组合物, 其足以诱导针对本发明的流感病毒的免疫应答。免疫应答可以是体液和 / 或细胞免疫应答。在特定实施方案中, 免疫应答是保护性免疫应答, 其能够在免疫后在一定的时间段内预防或者减小受免疫的宿主动物中的病毒感染。从而, 本发明还涉及疫苗组合物和方法, 其为接种的动物提供了针对本发明病毒的保护性免疫应答。

[0153] 如本文所用的, 本发明的疫苗或者免疫原性组合物可以包含无细胞的完整病毒, 包括减毒的或者失活的病毒, 或者病毒的部分, 包括亚病毒颗粒 (包括“分离疫苗”, 其中处理病毒体以除去一些或者全部病毒脂类)、病毒蛋白质 (包括个体蛋白质和多种蛋白质的大分子复合体)、多肽、和肽, 以及病毒感染的细胞系, 或者这些任一种的组合。包含病毒感染的细胞系的疫苗或者免疫原性组合物可以包含多种细胞系, 每种用不同的病毒毒株感染。

[0154] 在本发明的一个实施方案中, 可以用一种或多种灭活的 (例如, 杀死的) 和 / 或活的减毒流感病毒疫苗或者包含来自一种或多种病毒隔离群的一种或多种流感病毒抗原的疫苗免疫犬科动物。在一个实施方案中, 流感病毒是马流感病毒。在另一实施方案中, 流感病毒是马流感病毒, 其编码或表达与犬科动物流感病毒多肽具有至少约 90%, 或者至少约 95%, 或至少约 96%、或 97%、或 98%、或 99% 或更高氨基酸序列同一性的多肽。在一个实施方案中, 用于本发明疫苗中的流感抗原与犬科动物流感病毒的 HA 抗原和 / 或 NA 抗原具有至少约 96% 序列同一性。

[0155] 灭活疫苗的一个实例是 EQUICINE II™, 其已经由 Intervet Inc. (Millsboro, DE, USA) 作为液体疫苗上市。EQUICINE II™ 含有灭活的 A/Pennsylvania/63 流感病毒 (" A/Pa/63 ") 和 A/equine/Kentucky/93 流感病毒 (" A/KY/93 ") 与卡波姆 (carbopol) (即 HAVLOGEN® (Intervet Inc.))。更具体地, 一剂 EQUICINE II™ 含有: $10^{6.0}$ EID₅₀ 灭活的 A/Pa/63、 $10^{6.7}$ EID₅₀ 灭活的 A/KY/93、0.25% 体积的卡波姆, 和足够产生总体积 1ml 的 PBS。

[0156] 灭活疫苗的另一实例是马流感病毒 A/equine/Ohio/03 (" Ohio 03 ")。在一些实施方案中, 这种疫苗含有 CARBIGEN™, 其是可以通过商业途径从 MVP Laboratories, Inc. (Ralston, NE) 得到的乳化的基于聚合物的佐剂。在这种疫苗中, 剂量单位通常包含至少约 250HA 单位病毒、约 250 到约 12,500HA 单位病毒, 或约 1000 到约 6200HA 单位病毒。CARBIGEN™ 的推荐浓度为约 5 到约 30% (按质量计)。

[0157] 活的减毒疫苗的一个实例是冻干疫苗形式的改性的活的 equine/Kentucky/91 (" A/KY/91 ") 流感, 其可以用水重构。在一些实施方案中, 用足够将疫苗剂量达到 1ml 总体积的疫苗级水进行重构。此类疫苗的方面在例如美国专利号 6,436,408; 6,398,774; 和 6,177,082 中讨论, 将它们完整引入本专利作为参考。当重构时, 这种疫苗的一个剂量可以例如含有每毫升 $10^{7.2}$ TCID₅₀ 的 A/KY/91、每毫升 0.015 克 N-Z AMINE AS™、每毫升 0.0025 克明胶, 和每毫升 0.04 克 D 乳糖。N-Z AMINE AS™ 是通过酪蛋白的酶促水解产生的氨基酸和肽的精制来源。N-Z AMINE AS™ 由 Kerry Bio-Science (Norwich, NY, USA) 上市。

[0158] 在优选实施方案中, 疫苗包含在 HA 编码序列中与 Florida/43/2004 具有至少约 93% 同源性的 H3 流感抗原, 例如 equine/New Market/79 毒株。优选的同源性为至少约 96%, 例如, equine/Alaska/1/91 和 equine/Santiago/85 毒株。在下面的实施例中, 将 equine/Kentucky/91、equine-2/Kentucky/93、equine-1/Pennsylvania/63 和 equine Ohio/03 流感抗原掺入疫苗中。优选的疫苗还包括包含 equine/Wisconsin/03、equine/Kentucky/02、equine/Kentucky/93 和 equine/New Market 2/93 的疫苗。在下面的实施例中, 使用 H3N8 病毒。然而, 认为根据本发明也可以使用其他 H3 流感病毒。

[0159] 可以通过常规手段制备活的减毒疫苗。此类手段一般包括例如, 通过体外传代改变致病毒株、冷适应、通过遗传操作改变生物的致病性、制备嵌合体、在病毒载体中插入抗原、选择无毒性野生型毒株, 等等。

[0160] 在一些实施方案中, 通过细胞培养、实验室动物、非宿主动物或者卵进行野生型病毒的连续传代得到活的减毒病毒毒株。在此类传代中基因突变的积累通常导致生物对最初宿主的毒性的不断丧失。

[0161] 在一些实施方案中, 通过用减毒的突变病毒和致病病毒共同感染允许细胞制备活的减毒病毒毒株。期望的所得重组病毒具有减毒病毒的安全性和编码来自致病病毒的保护性抗原的基因。

[0162] 在一些实施方案中, 通过冷适应制备活的减毒病毒毒株。冷适应的病毒具有仅在上呼吸道中发现的温度下复制的优点。产生冷适应马流感病毒的方法已经在美国专利号 6,177,082 中描述。期望的所得冷适应病毒赋予一种或多种下面的表型: 冷适应、温度敏感性、显性干涉, 和 / 或减毒。

[0163] 在一些实施方案中, 通过分子手段制备活的减毒病毒毒株, 如点突变、缺失、或插

入以将致病病毒转化为与最初病毒相比不致病或者致病性降低的病毒,而保留最初病毒的保护性质。

[0164] 在一些实施方案中,通过将保护性抗原的候选基因克隆到非致病性或致病性降低的病毒或其他生物的基因组中制备活的减毒病毒。

[0165] 使用常规方法失活病毒可以制备失活的(如,“杀死的”)病毒疫苗。通常,此类病毒包括可以增强免疫应答的赋形剂,以及疫苗中常规使用的其他赋形剂。例如,在下面的实施例中,EQUICINE II™ 包含 HAVLOGEN®。通过用灭活化学品(例如,福尔马林、β 丙内酯(“BPL”)、溴乙胺(“BEA”)、和二元氮丙啶(“BEI”))处理病毒或者通过非化学方法(例如,热、冻/融或声处理)使得病毒不能复制来完成病毒的灭活。

[0166] 在下面的实施例中,用 equine/Ohio/03 用作攻击病毒。已知其与 Florida/43/04 隔离群具有约 99% 同源性,并且表明在狗中诱导感染症状和血清转变。实施例 18 阐明了马流感疫苗在狗中的功效,显示了在用包含 CARBIGEN™ 佐剂的疫苗组合中灭活的 Ohio 03 抗原接种的狗中血凝抑制(或“HI”或“HAI”)效价。表 29 显示了接种前、接种后和二次接种后,以及攻击后的效价。结果显示了接种的狗的接种后每个阶段的 HI 效价,对于对照有很小的或者没有增加。表 30 阐明了来自相同研究的临床病征、病毒分离和组织病理学结果。尽管被攻击的动物不显示出临床病征、病毒脱落,或者阳性组织病理学,但是阳性 HI 效价(表 29)表明在经免疫的动物中显著的抗体效价。

[0167] 应该指出本发明也包括其他 H3 流感病毒抗原疫苗。提供本说明书中描述的实施例和下面的实施例来阐明本发明的和它的优选实施方案,并且它们不限制要求保护的发明的范围。

[0168] 还应该指出根据本发明可以使用不同于 H3 流感病毒抗原的流感抗原。此类抗原包括例如,来自 equine/PA/63 的那些抗原,其是马 A1 亚型(H7N7)。预期一种或多种此类抗原可以与或不与一种或多种 H3 流感抗原使用。

[0169] 通常,以治疗有效量施用疫苗。“治疗有效量”是足够在犬科动物患者中诱导针对靶抗原的保护应答的量。通常,如果剂量防止流感或其一种或多种(通常两种或多种)症状、延迟其发作、减少其扩散、使其减轻、抑制或消除,那么所述剂量是“治疗有效的”。典型的流感症状包括例如,发热(对于狗,通常 $\geq 103.0^{\circ}\text{F}$; $\geq 39.4^{\circ}\text{C}$)、咳嗽、打喷嚏、组织病理学病变、眼分泌物、鼻分泌物、呕吐、腹泻、抑郁、体重减轻、作呕、咯血、和/或听得见的啰音。其他通常更严重的症状可以包括例如,肺、纵隔、或胸膜腔中出血;气管炎;支气管炎;毛细支气管炎;支持性支气管肺炎;和/或肺的上皮层和气管腔中嗜中性粒细胞和/或巨噬细胞渗入。

[0170] 疫苗可以作为组合疗法的部分施用,组合疗法即包括疫苗自身外,还包括施用一种或多种额外的活性剂、佐剂、疗法等等的疗法。在该情况中,应该认识到如果将仅仅施用疫苗,那么构成“治疗有效”量的疫苗的量可以小于将构成“治疗有效”量的疫苗的量。其他疗法可以包括本领域中已知的那些,如抗病毒药疗法、镇痛剂、退热药疗法、祛痰药、抗炎药物、抗组胺药、治疗流感病毒感染引起的细菌感染的抗生素、休息,和/或施用液体。在一些实施方案中,本发明的疫苗与博德特氏菌疫苗、腺病毒疫苗和/或副流感病毒疫苗组合施用。

[0171] 在一些实施方案中,例如,活的减毒疫苗的典型剂量为至少约 10^3 pfu/ 犬科动物,

更典型地约 10^3 到约 10^9 pfu/ 犬科动物。在本专利中,“pfu”指“噬斑形成单位”。在一些实施方案中,活的减毒疫苗的典型剂量为至少约 10^3 TCID₅₀/ 犬科动物,更典型地约 10^3 到约 10^9 TCID₅₀/ 犬科动物。在一些实施方案中,活的减毒疫苗的典型剂量为至少约 10^3 EID₅₀/ 犬科动物,更典型的约 10^3 到约 10^9 EID₅₀/ 犬科动物。在一些实施方案中,被杀死的疫苗的典型剂量为至少约 40HA 单位,通常约 40 到约 10,000HA 单位,更通常为约 500 到约 6200HA 单位。在一些实施方案中,剂量为约 6100 到约 6200HA 单位。

[0172] 在一些优选实施方案中,疫苗包含活的减毒疫苗,其浓度比免疫原性水平高至少约 $10^{0.5}$ pfu/ 犬科动物。在一些优选实施方案中,疫苗包含活的减毒疫苗,其浓度比免疫原性水平高至少约 $10^{0.5}$ TCID₅₀/ 犬科动物。在一些优选实施方案中,疫苗包含活的减毒疫苗,其浓度比免疫原性水平高至少约 $10^{0.5}$ EID₅₀/ 犬科动物。

[0173] 通过本领域公知的攻击剂量滴定研究技术可以通过实验确定免疫原性水平。此类技术通常包括用不同剂量的疫苗接种许多犬科动物,然后用 毒性病毒攻击所述犬科动物以确定最小保护剂量。

[0174] 影响优选剂量方案的因素可以包括例如,受试者的类型(例如,物种和品种)、年龄、体重、性别、饮食、活动、肺大小和状况;施用途径;使用的具体疫苗的功效、安全性,和免疫力持续时间分布;是否使用递送系统;和疫苗是否作为药物和 / 或疫苗组合的部分施用。从而,使用的实际剂量可以对于特定动物不同,并且因此,可以偏离上面给出的典型剂量。使用常规手段,确定此类剂量调整在本领域技术人员能力之内。还应该指出活的减毒病毒通常能够自身增殖;从而,施用的此类病毒的特定量不一定是关键的。

[0175] 设想疫苗可以一次施用于犬科动物患者;或者备选地,在几天、几周、几个月或几年内两次或多次施用。在一些实施方案中,施用疫苗至少两次。在一些此类实施方案中,例如,施用疫苗两次,第二次剂量(例如,加强剂量)在第一次剂量后至少约 2 周施用。在一些实施方案中,施用疫苗两次,第二次剂量在第一次剂量后不大于约 2 周施用。在一些实施方案中,第二次剂量在第一次剂量后约 2 周到约 4 年施用、第一次剂量后约 2 到约 8 周、或第一次剂量后约 3 到约 4 周施用。在一些实施方案中,第二次剂量在第一次剂量后约 4 周施用。在上面的实施方案中,第一次和随后的剂量例如可以改变量和 / 或形式。然而,通常,剂量是相同的量和形式。当仅仅施用一次剂量时,该单次剂量中疫苗的量通常包含治疗有效量的疫苗。然而,当施用一次以上的剂量时,那些剂量中疫苗的量可以一起构成治疗有效量。

[0176] 在一些实施方案中,在流感感染犬科动物受者之前施用疫苗。在此类实施方案中,例如,可以施用疫苗以预防、降低危险或延迟流感发作或其一种或多种(通常两种或多种)流感症状。

[0177] 在一些实施方案中,在流感感染犬科动物受者后施用疫苗。在此类实施方案中,例如,疫苗可以减轻、抑制或消除流感或一种或多种(通常两种或多种)流感症状。

[0178] 疫苗的优选组成取决于例如,疫苗是否是灭活的疫苗、活的减毒疫苗 还是两者。它还取决于施用疫苗的方法。设想疫苗将包含一种或多种常规的可药用载体、佐剂、其他免疫应答增强剂、和 / 或载体(总称为“赋形剂”)。通常选择此类赋形剂以与疫苗中的活性成分相容。赋形剂的用途是本领域技术人员公知的。

[0179] 术语“可药用的”以形容词用于指修饰的名词适于用于药品中。当它用于例如描

述药物疫苗中的赋形剂时,它表征该赋形剂与组合物中的其他成分是相容的并且不会不利地损害预期的受者犬科动物。

[0180] 可以通过常规方法施用疫苗,所述方法包括例如,粘膜途径(如鼻内、经口、气管内和眼),和肠胃外施用。粘膜施用对于活的减毒疫苗是尤其有利的。肠胃外施用对于灭活疫苗尤其有利。

[0181] 粘膜疫苗可以是例如液体剂型,如可药用的乳剂、溶液剂、混悬剂、糖浆剂和酏剂。适于此类疫苗的赋形剂包括例如,常用于本领域中的惰性稀释剂,如水、盐水、葡萄糖、甘油、乳糖、蔗糖、淀粉粉末、链烷酸的纤维素酯、纤维素烷基酯、滑石、硬脂酸、硬脂酸镁、氧化镁、磷酸和硫酸的钠和钙盐、明胶、阿拉伯胶、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮,和/或聚乙烯醇。赋形剂还可以包含多种湿润剂、乳化剂、悬浮剂、调味剂(例如,增甜)和/或芳香剂。

[0182] 经口粘膜疫苗可以例如被压片或包胶以方便施用。此类胶囊剂或片剂可以含有控释制剂。对于胶囊剂、片剂和丸剂的情况,剂型还可以含有缓冲剂,如柠檬酸钠,或碳酸镁或钙或碳酸氢镁或钙。还可以用肠包衣制备片剂和丸剂。

[0183] 设想可以通过犬科动物患者的饮水水和/或食物施用疫苗。还设想可以以膳食(treat)或玩具的形式施用疫苗。

[0184] “肠胃外施用”包括皮下注射、粘膜下层注射、静脉内注射、肌肉注射、胸骨内注射、经皮注射、和灌注。可注射的制剂(例如,无菌可注射的水性或油性混悬剂)可以根据本领域已知的用合适的赋形剂配制,所述赋形剂为如载体、溶剂、分散剂、湿润剂、乳化剂和/或悬浮剂。这些通常包括例如,水、盐水、葡萄糖、甘油、乙醇、玉米油、棉籽油、花生油、芝麻油、苯甲醇、1,3-丁二醇、林格液、等渗氯化钠溶液、温和的不挥发油(例如,合成的甘油一酯或二酯)、脂肪酸(例如,油酸)、二甲基乙酰胺、表面活性剂(例如,离子和非离子去污剂)、丙二醇,和/或聚乙二醇。赋形剂还可以包括少量的其他辅助物质,如pH缓冲剂。

[0185] 疫苗可以包括增强犬科动物患者免疫应答(其可以包括抗体应答、细胞应答或两者),从而增强疫苗有效性的一种或多种赋形剂。此类赋形剂(或“佐剂”)的使用在使用灭活疫苗时可以尤其有益。佐剂可以是对犬科动物患者免疫系统的细胞具有直接影响的物质(例如,细胞因子或卡介苗(“BCG”))或间接影响的物质(脂质体)。通常合适的佐剂的实例包括油(例如,矿物油)、金属盐(例如,氢氧化铝或磷酸铝)、细菌组分(例如,细菌脂多糖、弗氏佐剂,和/或MDP)、植物组分(例如,QuilA),和/或一种或多种具有载体作用的物质(例如,皂土、乳胶颗粒、脂质体,和/或Quil A、ISCOM)。如上面提到的,佐剂还包括例如CARBIGEN™和卡波姆。应该认识到本发明包括包含佐剂的疫苗以及不包含任何佐剂的疫苗。

[0186] 设想为了保存可以将疫苗冻干(或者减少液体体积),然后在施用之前或施用时用液体重构。此类重构可以用如疫苗级水实现。

[0187] 本发明还包括适于用于进行上述方法的药盒。药盒包含含有上述疫苗的剂型。药盒还包含至少一种额外的组分,和通常,关于使用该疫苗和额外组分的说明书。所述额外组分可以是例如,一种或多种额外成份(如一种或多种上面讨论的赋形剂、食品,和/或膳食(treat)),其可以在施用前或施用期间与疫苗混合。额外组分可以备选(或额外)包含用于对犬科动物患者施用疫苗的一种或多种装置。此类装置可以是例如,注射器、吸入器雾化器、吸管、镊子,或任何医学上可接受的递送载体。在一些实施方案中,所述装置适于皮下施

用疫苗。在一些实施方案中,所述装置适于鼻内施用疫苗。

[0188] 也可以使用药学或生物领域中已知的其他赋形剂和施用方式。

[0189] 本发明的疫苗或者免疫原性组合物还包含重组的基于病毒载体的构建体,其可以包含例如编码本发明的流感病毒的 HA 蛋白、NA 蛋白、核蛋白、聚合酶碱性蛋白、聚合酶酸性蛋白,和 / 或基质蛋白的基因。可以用于制备重组载体 / 病毒构建体的任何合适的病毒载体预期用于本发明。例如,来自腺病毒、禽痘、疱疹病毒、牛痘、金丝雀痘、昆虫痘、猪痘、西尼罗病毒和本领域已知的其他病毒的病毒载体可以用于本发明的组合物和方法中。可以使用本领域中已知的标准遗传工程技术构建编码和表达组分的重组多核苷酸载体。此外,本文描述的多种疫苗组合物可以单独使用和相互组合使用。例如,动物的初次免疫可以使用重组的基于载体的构建体,其具有单个或者多个毒株组分,然后用包含失活病毒或者失活的病毒感染的细胞系的疫苗组合物二次加强。使用本发明的疫苗组合物的其他免疫方案是本领域技术人员显而易见的并且预计在本发明的范围内。

[0190] 本发明还涉及重排列病毒,其包含本发明的流感病毒的至少一种基因或者基因组区段和来自本发明的不同的流感病毒或者来自不同于本发明病毒的流感病毒的病毒基因或者基因组区段的剩余部分。通过本发明的供体流感病毒的核酸与受体流感病毒的核酸的遗传重排列,然后选择包含供体病毒的核酸的重排列病毒,可以产生重排列病毒。产生和分离重排列病毒的方法是本领域中公知的 (Fields et al., 1996)。在一个实施方案中,本发明的重排列病毒包含人类、鸟类、猪或者马流感病毒的基因或者基因组区段。本发明的重排列病毒可以包括来自供体和受体流感病毒的核酸的任一组合,只要重排列病毒包含来自本发明的供体流感病毒的至少一个基因或者基因组区段。在一个实施方案中,受体流感病毒可以是马流感病毒。

[0191] 病毒蛋白质的天然的、重组的或者合成的多肽,和其肽片段也可以用作根据本发明方法的疫苗组合物。在一个实施方案中,疫苗组合物包含犬科动物流感病毒的多核苷酸或多肽。在一个实施方案中,疫苗组合物包含编码具有 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 任一个中所示氨基酸序列的多肽,或者其功能和 / 或免疫原性片段或变体的多核苷酸。在特定实施方案中,编码 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 中所示氨基酸序列的多核苷酸分别包含 SEQ ID NO :1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75 或 77 中所示核苷酸序列,或者编码 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 任一个的功能和 / 或免疫原性片段或变体的序列。在另一特定实施方案中,本发明的多核苷酸可以包含:SEQ ID NO :3 的核苷酸 1-2271;SEQ ID NO :5 的核苷酸 1-2148;SEQ ID NO :7 的核苷酸 1-657;SEQ ID NO :9 的核苷酸 1-1494;SEQ ID NO :11 的核苷酸 1-1410;SEQ ID NO :13 的核苷酸 1-756;SEQ ID NO :15 的核苷酸 1-1695;SEQ ID NO :19 的核苷酸 1-2271;SEQ ID NO :21 的核苷酸 1-2148;SEQ ID NO :23 的核苷酸 1-657;SEQ ID NO :25 的核苷酸 1-1494;SEQ ID NO :29 的核苷酸 1-756;SEQ ID NO :31 的核苷酸 1-1695;SEQ ID NO :47 的核苷酸 1-2277;SEQ ID NO :49 的核苷酸 1-2271;SEQ ID NO :51 的核苷酸 1-2148;SEQ ID NO :53 的核苷酸 1-690;SEQ ID NO :55 的核苷酸 1-1494;SEQ ID

NO:57 的核苷酸 1-1410 ;SEQ ID NO :59 的核苷酸 1-756 ;SEQ ID NO :61 的核苷酸 1-1695 ;SEQ ID NO :63 的核苷酸 1-2277 ;SEQ ID NO :65 的核苷酸 1-2271 ;SEQ ID NO :67 的核苷酸 1-2148 ;SEQ ID NO :69 的核苷酸 1-690 ;SEQ ID NO :71 的核苷酸 1-1494 ;SEQ ID NO :73 的核苷酸 1-1410 ;SEQ ID NO :75 的核苷酸 1-756 ;SEQ ID NO :77 的核苷酸 1-1695。在另一实施方案中,疫苗组合物包含具有 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 任一个所示氨基酸序列的多肽或其功能和 / 或免疫原性片段或变体。在另一实施方案中,疫苗组合物包含马流感病毒的多核苷酸或多肽,其中所述多核苷酸或多肽与犬科动物流感多核苷酸或多肽具有至少约 90%、或者至少约 95%、或至少约 96%、或 97%、或 98%、或 99% 或更高序列同一性。在一个实施方案中,来自多种毒株的病毒多肽可以组合在疫苗组合物中并且用于接种宿主动物。例如,基于来自至少两种不同毒株的本发明的流感病毒的病毒 HA 蛋白质的多肽可以组合在疫苗中。该多肽可以与一种毒株同源或者可以包含“杂合”或“嵌合”多肽,其氨基酸序列来自结合或者连接来自至少两种不同毒株的多肽。制备病毒多肽的步骤是本领域公知的。例如,使用固相合成方法 (Merrifield,1963) 可以合成病毒多肽和肽。使用重组 DNA 技术也可以产生病毒多肽和肽,其中编码病毒蛋白质或者肽的多核苷酸分子在宿主细胞,如细菌、酵母或者哺乳动物细胞系中表达,并且使用本领域的标准技术纯化表达的蛋白质。

[0192] 本发明的疫苗组合物还包括裸核酸组合物。在一个实施方案中,核酸可以包含编码本发明的流感病毒的 HA 和 / 或 NA 蛋白质的核苷酸序列。核酸接种的方法是本领域中已知的并且描述于例如美国专利号 6,063,385 和 6,472,375。核酸可以为质粒或者基因表达盒的形式。在一个实施方案中,将核酸包裹在脂质体中提供,将所述脂质体施用于动物。

[0193] 可以为根据本发明使用的疫苗组合物和免疫原,如多肽和核酸提供可药用载体或者稀释剂。可以根据制备药学上有用的组合物的已知方法配制用于本发明的化合物和组合物。在本领域技术人员公知和容易得到的许多来源中详细描述了制剂。例如,E. W. Martin, Easton Pennsylvania, Mack Publishing Company, 19th ed., 1995 的 Remington's Pharmaceutical Science 描述了可以用于本发明的制剂。通常,将配制本发明的组合物使得有效量的免疫原与合适的载体组合以便促进组合物的有效施用。用于本发明方法中的组合物还可以为多种形式。这些包括例如,固体、半固体和液体剂型,如片剂、丸剂、粉剂、液体溶液剂或混悬剂、栓剂、注射液和灌注液,和喷雾剂。优选的形式取决于预期的施用方式和治疗应用。组合物还优选包括本领域技术人员已知的常规的可药用载体和稀释剂。用于本发明肽模拟物的载体或稀释剂的实例包括,但不限于,水、盐水、油,包括矿物油、乙醇、二甲基亚砜、明胶、环糊精、硬脂酸镁、葡萄糖、纤维素、糖、碳酸钙、甘油、氧化铝、淀粉和等同的载体和稀释剂,或者这些任一种的混合物。本发明免疫原的制剂还可以包含悬浮剂、保护剂、润滑剂、缓冲剂、防腐剂和稳定剂。为了提供施用此类剂量用于所希望的治疗性治疗,本发明的药物组合物将有利地包含基于包括载体或稀释剂的总组合物的重量按重量计约 0.1% 到 45%,特别 1 到 15% 的一种或多种免疫原。

[0194] 通过本领域公知的方法可以制备本发明的疫苗和免疫原性组合物。例如,通常将疫苗或者免疫原制备为注射剂,例如,液体溶液剂或者混悬剂。以与剂量制剂相容的方式和在受体中治疗有效和免疫原性的量施用疫苗或者免疫原。本领域技术人员可以容易地确定

具体疫苗或者免疫原制剂的最佳剂量和施用模式。

[0195] 还可以以多抗原肽 (MAP) 构建体的形式提供本发明的肽和 / 或多肽。已经在 Tam(1988) 描述了 MAP 构建体的制备。MAP 构建体利用赖氨酸残基的核心基质,其上合成多个拷贝的免疫原 (Posnett et al.,1988)。可以根据本发明的方法制备并在疫苗组合物中施用多种 MAP 构建体,每种含有相同或者不同的免疫原。在一个实施方案中,为 MAP 构建体提供一种或多种佐剂和 / 或与一种或多种佐剂一起施用。还产生了本发明的流感多肽并且作为包含一种或多种多肽的大分子蛋白质结构施用。公布的美国专利申请 US2005/0009008 描述了产生作为流感病毒疫苗的病毒样颗粒的方法。

[0196] 根据本发明的方法,将本文描述的疫苗和免疫原性组合物施用于易感宿主,通常犬科动物,并且更通常为驯养的狗,以诱导保护性免疫以抵抗病毒对宿主随后的攻击或者感染的有效量和方式施用。在一个实施方案中,宿主动物是犬科动物。犬科动物包括野生的、动物园的和驯养的犬科动物,如狼、郊狼和狐狸。犬科动物还包括狗,尤其驯养的狗,如纯种和 / 或杂种陪伴狗、表演狗、役用狗、放牧狗、猎狗、守卫狗、警犬、赛犬和 / 或实验用狗。在特定实施方案中,宿主动物是驯养的狗,如灵 **猩**。通常肠胃外、通过注射,例如皮下、腹膜内或者肌肉注射施用疫苗或者免疫原。其他合适的施用方式包括经口或者经鼻施用。通常,将疫苗或者免疫原施用于动物至少两次,每次施用之间为一周或多周的间隔。然而,设想用于初次和 加强施用疫苗或者免疫原的其他方案,并且该方案可以取决于从业医生的判断和被治疗的具体宿主动物。

[0197] 使用本领域中已知的方法,可以将疫苗制剂中的病毒和病毒感染的细胞失活或者减毒。例如,通过暴露于低聚甲醛、福尔马林、 β -丙内酯 (BPL)、溴乙胺 (BEA)、二元氮丙啶 (BEI)、苯酚、紫外线、高温、冻融、声处理 (包括超声处理) 等可以失活或者减毒完整病毒和受感染的细胞。疫苗剂量中无细胞的完整病毒的量将通常为约 0.1mg 到约 5mg,更通常约 0.2mg 到约 2mg。包含病毒感染的细胞系的疫苗制剂的剂量将通常含有每剂约 10^6 到约 10^8 个细胞,更通常每剂约 5×10^6 到约 7.5×10^7 个细胞。用于动物的剂量中蛋白质或肽免疫原的量可以从约 0.1 μ g 到 10000 μ g,或约 1 μ g 到 5000 μ g,或约 10 μ g 到 1000 μ g,或约 25 μ g 到 750 μ g,或约 50 μ g 到 500 μ g,或 100 μ g 到 250 μ g,取决于接受剂量的动物的大小、年龄等等。

[0198] 本发明的免疫原性或者疫苗组合物,如病毒或者病毒感染的细胞或者病毒蛋白质或肽可以与佐剂组合,通常刚好在施用前组合。设想用于疫苗制剂的佐剂包括苏氨酸基胞壁酰二肽 (MDP) (Byars et al.,1987)、皂苷、Cornebacterium parvum、弗氏完全佐剂和弗氏不完全佐剂、铝,或者这些任一种的混合物。适于用于本发明的方法和疫苗的多种其他佐剂,如明矾,是本领域中公知的,并且设想用于本发明。

[0199] 本发明还涉及特异结合本发明的蛋白质或者肽的抗体。本发明的抗体包括单克隆和多克隆抗体组合物。优选地,本发明的抗体是单克隆抗体。在本发明中设想完整抗体和其抗原结合片段。从而,例如,合适的抗原结合片段包括 Fab₂、Fab 和 Fv 抗体片段。本发明的抗体可以用可检测部分,如荧光分子标记 (例如,萤光素或者酶)。

[0200] 本发明还涉及用于检测和鉴定本发明的流感病毒和诊断本发明的流感病毒对动物的感染的方法和组合物。本发明的方法包括检测来自动物的生物样品中犬科动物流感的存在。样品中犬科动物流感的检测可用于诊断动物中的犬科动物流感。该信息又可以提供

基于区分随时间存在的犬科动物流感的水平来预后动物的能力,并且可以帮助选择动物的治疗剂和/或治疗,和/或帮助监测疗法。该方法还提供了确立在测试的动物中不存在犬科动物流感的能力。

[0201] 检测动物中犬科动物流感的能力允许评估不同的地理位置中犬科动物流感的爆发。该信息还允许早期检测从而可以隔离受感染的动物,以限制疾病的传播,和/或允许早期干预治疗选择。此外,得到该信息可以为准备治疗许多患病动物的医学人员提供指导,包括装备药材供应,和/或如果可以得到,疫苗。

[0202] 在一个实施方案中,本发明的方法涉及从受试动物,如犬科动物收集生物样品。生物样品可以是任一种生物样品,包括细胞、组织、毛发、全血、血清、血浆、乳头抽吸物、肺灌洗液、脑脊液、唾液、汗液和泪液。

[0203] 动物受试样品可以来自怀疑具有犬科动物流感病毒的动物,无论该动物是否显示出疾病症状。还可以提供对照样品或者从已知没有犬科动物流感的动物收集。可以提供额外的对照例如,以减少假阳性和假阴性结果,和证实测定中的试剂主动检测犬科动物甲型流感病毒。

[0204] 除了检测生物样品中犬科动物流感的存在或不存在,本发明中使用的检测方法可以检测犬科动物流感病毒中的突变,如核酸序列的改变,其可以由环境、药物治疗、遗传操作或者突变、损伤、食物的改变、衰老或者动物的任何其他特征引起。突变还可以导致犬科动物甲型流感变得抵抗以前有效的药物,或者使得病毒感染和在不同物种的动物或者人类中繁殖。例如,已经表明鸟类甲型流感病毒感染其他动物和人。

[0205] 在用于检测动物中流感病毒的一个实施方案中,通过收集高质量的样品、它们快速运输到检测设施、和在实验室检验前合适的保存方便了诊断。在含有受感染的细胞和分泌物的样品中最佳地检测到病毒。在一个实施方案中,在临床症状发作后前 3 天内采集用于直接检测病毒抗原和/或核酸和/或病毒分离的样品。多种类型的样本适于诊断上呼吸道的病毒感染,包括,但不限于,鼻拭子、鼻咽拭子、鼻咽抽吸物、鼻洗液和喉咙拭子。除了拭子外,还可以采集组织或者血清的样品,并且还可以进行侵入性步骤。

[0206] 在一个实施方案中,收集呼吸系统样品并以 1-5ml 病毒运送培养基运输。满足多种病毒的回收的多种培养基可通过商业途径获得。向运送培养基中加入临床样品。还可以用病毒运送培养基运送鼻或者鼻咽拭子。运送培养基的一个实例是 10 克小牛肉浸汁和 2 克牛白蛋白级分 V,加入到无菌蒸馏水至 400ml。也可以加入抗生素,如 0.8ml 硫酸庆大霉素溶液 (50mg/ml) 和 3.2ml 两性霉素 B (250 μ g/ml)。优选通过过滤消毒培养基。鼻洗液,如无菌盐水 (0.85% NaCl) 也可以用于收集呼吸系统病毒的样品。

[0207] 在一个实施方案中,在临床症状发生后不久,优选不迟于 7 天内,从急性期动物的 1-5ml 量的全血收集血清。还例如在症状发生后约 14 天收集恢复期血清样品。在中和试验中,血清样品可以用于检测抗呼吸系统病毒的抗体。

[0208] 在一个实例中,可以在一定期限内(例如,每天一次,每周一次,每月一次,每半年一次或者每年一次)从个体动物收集样品。在一定时期内从个体动物得到多个样品可以用于验证来自更早检测的结果,和/或鉴定对特定治疗,例如,对所选的治疗药物的应答或者抗性。

[0209] 本发明的方法可以用于检测来自动物的受试样品中一种或多种病理物质的存在,

和每种病理物质的水平。可以使用用于检测病理物质的任何方法,包括但不限于,抗体测定法,包括酶联免疫吸附测定 (ELISA)、间接荧光抗体 (IFA) 检测、血细胞凝集,和血细胞凝集抑制 (HI) 测定法,和蛋白质印迹。也可以使用已知的细胞培养方法。使用细胞培养物的免疫荧光或者细胞培养基 (上清液) 的 HI 测定法,可以进一步鉴定阳性培养物。

[0210] 此外,可以使用检测核酸 (DNA 或者 RNA) 或者蛋白质的方法。此类方法包括,但不限于,聚合酶链式反应 (PCR) 和逆转录酶 (RT)PCR 测试和实时测试,和定量核酸酶保护测定法。可利用通过商业途径可获得的测试试剂盒用于进行这些测定法。例如, QIAGEN (Valencia, CA) 出售一步 RT-PCR 试剂盒,和病毒 RNA 提取试剂盒。

[0211] 在一个实施方案中,该方法利用对本发明的病毒或病毒蛋白质特异的抗体。在特定实施方案中,利用对本发明病毒的 HA 蛋白质特异的抗体。在一个实施方案中,使用对本发明病毒的 NP 蛋白质特异的抗体。从动物 得到合适的样品,如来自鼻或者鼻咽区域的样品,并从中分离病毒或者病毒蛋白质。然后对病毒组分筛选对蛋白质,如本发明病毒的 HA 或者 NP 特异的抗体的结合。在另一实施方案中,从动物得到血清样品 (或者其他含有抗体的样品) 并对血清筛选结合本发明病毒的蛋白质的抗体的存在。例如,可以进行 ELISA 测定,其中平板壁具有结合到壁的 HA 和 / 或 NP 蛋白质,或者其肽片段。然后将平板壁与来自受试动物的血清或者抗体接触。动物中特异结合 HA 和 / 或 NP 蛋白质的抗体的存在表明该受试动物受到或者已经受到本发明的流感病毒的感染。

[0212] 在一个实施方案中,通过测定生物样品中抗病理物质的抗体的存在或不存在,检测病理物质的存在。在动物受感染后可以在血液检验中检测到抗体之前,需要一定的时间 (例如,数月)。抗体一旦形成,通常持续许多年,甚至在成功地治疗该疾病之后。发现针对犬科动物甲型流感病毒的抗体不能指出感染是最近的还是在过去的某个时间。

[0213] 还可以用液体进行抗体测试。抗体测定法包括酶联免疫吸附测定 (ELISA)、间接荧光抗体 (IFA) 测定法,和蛋白质印迹。优选地,使用多种测定法,如 ELISA 或者 IFA,接着通过蛋白质印迹进行抗体测试。在两步方法中,使用 ELISA 或者 IFA 测定法,接着通过蛋白质印迹进行抗体测定法。认为 ELISA 是比 IFA 更可靠和更准确的测定法,但是如果不能利用 ELISA,那么可以使用 IFA。蛋白质印迹测试 (其是更特异的测试) 也可以在所有动物中进行,尤其在那些在 ELISA 或者 IFA 测定中检测为阳性或者临界阳性 (含糊的) 的动物中进行。

[0214] 可以用于检测流感病毒的其他基于抗体的测试包括血细胞凝集抑制测定法。如所述的使用鸡或者火鸡红细胞 (Burleson et al., 1992) 和 Kendal et al., 1982), 可以检测来自动物的生物样品中的血细胞凝集活性。在一个实施方案中,将本发明的流感或者 HA 蛋白或者肽与含有血清或者抗体的测试样品接触。然后加入来自动物如鸟的红细胞 (RBC)。如果存在抗 HA 的抗体,那么 RBC 将不凝集。如果不存在抗 HA 的抗体,那么在 HA 存在下, RBC 将凝集。对标准血细胞凝集抑制测定法的变更和修改是本领域中 已知的并且设想在本发明的范围内。

[0215] 通过从样品如鼻或者鼻咽拭子分离病毒,可以确定动物的感染。使用标准方法,包括细胞培养和鸡胚接种,可以进行病毒分离。

[0216] 在进一步的实施方案中,可以用基于核酸的测定法检测本发明的病毒。在一个实施方案中,从动物得到核酸样品并将该核酸进行 PCR,如果该核酸含有对本发明的流感病

毒特异的序列,那么使用的引物将产生扩增产物。在特定实施方案中,在测定中将 RT-PCR 用于本发明病毒。在示例的实施方案中,用实时 RT-PCR 测定本发明的流感病毒。PCR、RT-PCR 和实时 PCR 方法是本领域中已知的并且已经在美国专利号 4,683,202 ;4,683,195 ;4,800,159 ;4,965,188 ;5,994,056 ;6,814,934 ; 和 Saiki et al. (1985) ;Sambrook et al. (1989) ;Lee et al. (1993) ;和 Livak et al. (1995) 中。在一个实施方案中,PCR 测定法使用对流感基质 (MA) 基因和 / 或 HA 基因特异的寡核苷酸。还可以对扩增产物测序以确定该产物是否具有本发明的流感病毒的序列。其他基于核酸的测定法可以用于检测和诊断本发明病毒的病毒感染并且设想此类测定法在本发明的范围内。在一个实施方案中,将含有核酸的样品进行基于 PCR 的扩增,使用正向和反向引物,其中所述引物对病毒多核苷酸或者基因序列特异。如果样品中的核酸是 RNA,那么可以进行 RT-PCR。对于实时 PCR,将可检测的探针与引物一起使用。

[0217] 对许多循环流感病毒的血凝素 (HA) 基因特异的引物组是已知的,并且正在被不断开发出来。流感病毒基因组是单链 RNA,并且必须使用逆转录酶 (RT) 聚合酶进行 DNA 拷贝 (cDNA)。例如,使用 RT-PCR 对 RNA 基因组的扩增需要一对寡核苷酸引物,其通常基于甲型流感病毒亚型的已知的 HA 序列和神经氨酸酶 (NM)-1 设计。可以选择引物使得它们将特异扩增仅一种病毒亚型的 RNA。使用亚型特异的引物产生的 DNA 可以通过分子遗传学技术如测序进一步分析。试验优选阳性对照进行,或者产物通过测序并与已知序列比较来验证。不存在目标 PCR 产物 (即,“阴性”结果) 不能排除病毒的存在。然后可以在几小时内从临床拭子或者感染的细胞培养物得到结果。甲型流感病毒的 PCR 和 RT-PCR 试验由 Fouchier et al.,2000 和 Maertzdorf et al.,2004 描述。

[0218] 本发明还涉及筛选对本发明的病毒具有抗病毒活性的化合物或药物的方法。在一个实施方案中,将本发明的病毒感染的细胞与受试化合物或者药物接触。然后测定接触后病毒的量或者病毒活性。可以选择显示出抗病毒活性的那些化合物或者药物用于进一步评估。

[0219] 本发明还涉及用本发明的流感病毒感染的分离的细胞。在一个实施方案中,所述细胞是犬科动物细胞,如犬科动物肾上皮细胞。

[0220] 本发明还涉及用编码本发明多肽的本发明多核苷酸转化的细胞。优选地,在本发明的表达构建体中提供所述多核苷酸序列。更优选地,所述表达构建体提供了在细胞中过表达有效连接的本发明的多核苷酸。在一个实施方案中,用多核苷酸序列转化细胞,所述多核苷酸序列包含编码 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 的任一个中显示的氨基酸序列,或者其功能片段或者变体的序列。在特定实施方案中,用编码 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 中所示的氨基酸序列的多核苷酸转化的细胞分别包含 SEQ ID NO :1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75 或 77 中所示的核苷酸序列,或者编码 SEQ ID NO :2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 的任一个的功能片段或者变体的序列。从而,本发明涉及用包含 SEQ ID NO :1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75 或 77 的任一个中

所示的核苷酸序列或者 SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75 或 77 的任一个的片段或者变体,包括简并变体的多核苷酸序列转化的细胞。

[0221] 所转化的细胞可以是真核细胞,例如,植物细胞,包括原生质体,或者转化的细胞可以是原核细胞,例如,细菌细胞,如大肠杆菌或者枯草芽孢杆菌。动物细胞包括人细胞,哺乳动物细胞,部分犬科动物细胞、鸟类细胞和昆虫细胞。植物细胞包括,但不限于,双子叶植物细胞、单子叶植物细胞和针叶树细胞。

[0222] 本发明还涉及表达和产生本发明的病毒蛋白或者多肽的转基因植物。本发明设想用本发明的多核苷酸转化或者经育种而含有本发明的多核苷酸的植物、植物组织和植物细胞。优选地,在植物、植物组织或者植物细胞中过表达本发明的多核苷酸。植物可以用于产生本发明的流感疫苗组合物并且可以通过植物的消费施用疫苗(见,例如,美国专利号 5,484,719 和 6,136,320)。

[0223] 本发明还涉及用于检测病毒或者诊断本发明的病毒感染的试剂盒。在一个实施方案中,试剂盒包含本发明的抗体,其特异结合本发明的流感病毒,或者其抗原性部分。在另一实施方案中,试剂盒包含本发明的一种或多种多肽或者肽。在特定实施方案中,所述多肽具有 SEQ ID NO. 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、33、34、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76 或 78 任一个中所示的氨基酸序列,或者其功能和/或免疫原性片段或变体。在另一实施方案中,试剂盒包含一种或多种本发明的多核苷酸或者寡核苷酸。在特定实施方案中,所述多核苷酸具有 SEQ ID NO. 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75 或 77 任一个中所示的核苷酸序列,或者其片段或者变体。试剂盒可以任选包含一种或多种对照抗体、对照多肽或者肽,和/或对照多核苷酸或者寡核苷酸。试剂盒的抗体、多肽、肽、多核苷酸和/或寡核苷酸可以在合适的容器或者包装中提供。

[0224] 本申请还涉及杂种狗作为流感病毒感染和发病机理模型的用途。在一个实施方案中,对杂种狗接种本发明的流感病毒,如犬科动物流感病毒。任选地,接种后可以对狗施用治疗剂。在用病毒接种之前,还可以对狗施用组合物用于产生针对流感病毒的免疫应答。可以在接种之前和/或之后得到组织、血液、血清和其他生物样品并使用本领域中已知的方法检查病毒的存在和组织的发病机理,所述方法包括,但不限于,PCR、RT-PCR、核酸测序,和免疫组织化学。

[0225] 将犬科动物流感病毒毒株(称作“A/canine/Florida/43/2004”和“A/canine/Florida/242/2003”)于2006年10月9日保藏在美国典型培养物保藏中心(ATCC),P. O. Box 1549, Manassas, VA 20108。将犬科动物病毒毒株(称作“canine/Jax/05”和“canine/Miami/05”)于2006年10月17日保藏在美国典型培养物保藏中心(ATCC),P. O. Box 1549, Manassas, VA20108。已经将主题病毒毒株保藏在这样的条件下,其确保在本专利申请待决期间,根据 37 CFR 1.14 和 35 U.S.C. 122 授权的专利和商标委员(Commissioner of Patents and Trademarks)决定的人可以得到所述培养物。在提交主题申请的副本或其后续申请的国家,如需要可以按照所述国家的外国专利法获得所述保藏物。然而,应该理解保藏物的可得性不构成实施本发明而损害政府行为授予的专利权的许可。

[0226] 此外,将根据微生物保藏布达佩斯条约的规定保藏主题病毒保藏物并且可以被公

众获得,即将进行所有必要的管理以保存它而确保在供应保藏物样品的最近请求后至少 5 年的期间内和在任何情况下,保藏日后的至少 30 年期间内或者可以出版公开该培养物的任何专利的可实施期间内是存活的和未受污染的。保藏人承认当请求时,由于保藏物的条件保藏机构不能提供样品时而更换保藏物的的义务。当公开该保藏物的专利被授权时,主题培养保藏物对公众可得性的所有限制都将被不能改变地废除。

[0227] 表 57 阐明了在鉴定为 A/canine/Florida/43/2004 (Ca/Fla/43/04) 的犬科动物流感病毒以及 H3N8 马隔离群以及 canine/Florida/242/2003 隔离群的血凝素 (或“HA”)、神经氨酸酶 (或“NA”) 和核蛋白 (NP) 基因编码的氨基酸之间的相似性。

[0228] 本文公开的任一实施方案的任一元素可以与本文的任何其他元素或者 实施方案组合,并且特别设想此类组合在本发明的范围内。

[0229] 本文提及或者引用的所有专利、专利申请、临时申请和出版物都完整 (包括所有图和表) 引入本文作为参考,直到它们与本说明书的明确教导不一致的程度。

[0230] 实施例 1-6 的材料和方法

[0231] 从灵 狴 收集血液和鼻拭子

[0232] 从在赛跑狗舍中经历呼吸系统疾病爆发的临床上患病的或者正常的灵 狴 通过颈静脉穿刺收集急性和恢复期血液样品。在急性样品后 4 到 12 周收集恢复期样品。收获血清并在 -80°C 保存。收集鼻拭子并在递交用于细菌分离之 1 前置于具有炭的 Amies 运送培养基 (Becton Dickinson Biosciences) 中。

[0233] 灵 狴 的尸体剖检

[0234] 由佛罗里达大学兽医学院 (University of Florida College of Veterinary Medicine (UF CVM)) 的解剖病理学处 (Anatomic Pathology Service) 对 2004 年 1 月在佛罗里达赛场的爆发中死亡的 8 只灵 狴 的 5 只进行完全的尸体剖检。另一只狗的尸体剖检在私立的兽医诊所进行,将组织递交到 UF CVM 用于组织病理学诊断。将组织用 10% 中性缓冲福尔马林固定,包埋在石蜡中,并对 5- μ m 切片用苏木精和伊红染色用于组织病理学诊断或者处理用于如下述的免疫组织化学。递交未固定的组织用于细菌培养并且也保存在 -80°C。

[0235] 犬科动物呼吸系统病原体的血清学试验

[0236] 将配对的急性和恢复期血清样品递交给康耐尔大学兽医学院 (Cornell University College of Veterinary Medicine) 的动物健康诊断实验室 (Animal Health Diagnostic Laboratory (AHDL)), 对犬瘟热病毒、2 型腺病毒和副流感病毒进行血清中和测定。抗体效价表达为抑制细胞培养物的病毒感染 的血清的最终稀释度。血清转变表明病毒感染,将血清转变定义为急性和恢复期样品之间抗体效价升高 ≥ 4 倍。没有检测到对这些病毒病原体的血清转变。

[0237] 犬科动物细菌呼吸系统病原体的微生物试验

[0238] 将配对的鼻拭子和死后组织递交给 UF CVM 的诊断临床微生物学 / 寄生虫学 / 血清学处 (Diagnostic Clinical Microbiology/Parasitology/Serology Service) 用于细菌分离和鉴定。在非选择培养基以及选择博德特氏菌 (Bordetella) 种 (Regan-Lowe ;Remel) 和支原体 (Mycoplasma) 种 (Remel) 的培养基上培养样品。在没有报告生长前,保持所有

培养物 21 天。还将一些灵 狨的鼻拭子递交给堪萨斯州立大学兽医学院 (Kansas State University College of Veterinary Medicine) 的诊断医学 / 病理生物学系 (Department of Diagnostic Medicine/Pathobiology) 用于细菌培养。在所检验的 70 只临床上患病的狗中, 从 1 只狗的鼻腔分离支气管博德特氏菌 (*Bordetella bronchiseptica*), 而从 33 只狗的鼻腔回收支原体。通常用化脓性鼻涕从狗的鼻腔回收出血败血性巴斯德氏菌 (*Pasteurella multocida*)。在 2004 年 1 月的爆发中死亡的两只狗在死亡后肺中具有大肠杆菌的不足的生长, 一只狗具有大肠杆菌和犬链球菌 (*Streptococcus canis*) 的不足的生长, 另一只具有铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 和酵母的不足的生长。从死亡狗的气管或者肺中没有分离到支气管博德特氏菌或者支原体。

[0239] 从死后组织分离病毒

[0240] 将冷冻的组织解冻并在 10 倍体积的补充 0.5% 牛血清白蛋白 (BSA) 和抗生素的极限必需培养基 (MEM) 中匀浆。通过离心除去固体碎片并将上清液接种到培养的细胞或者 10 天龄的含胚的鸡蛋中。将来自死亡灵 狨的组织匀浆物接种到不同的细胞培养物中, 该培养物支持多种病毒病原体的复制。细胞培养物包括 Vero (非洲绿猴肾上皮细胞, ATCC No. CCL-81)、A-72 (犬肿瘤成纤维细胞, CRL-1542)、HRT-18 (人直肠上皮细胞, CRL-11663)、MDCK (犬肾上皮细胞, CCL-34)、原代犬肾上皮细胞 (AHDL, Cornell University)、原代犬肺上皮细胞 (AHDL) 和原代牛睾丸细胞 (AHDL)。在补充 2.5ug/mL TPCK- 处理的胰蛋白酶 (Sigma) 的 MEM 中培养 MDCK 和 HRT 细胞; 在补充 10% 胎牛血清和抗生素的 MEM 中培养剩余的细胞系。在 25cm² 瓶中 37℃ 下在含有 5% CO₂ 的增湿空气中培养细胞。用经补充的 MEM 接种对照培养物。每天观察培养物的形态改变并在接种后 5 天收获。将收获的液体和细胞通过离心澄清并如最初接种所描述的接种在新鲜细胞上; 进行两次盲法传代。使用鸡或者火鸡血红细胞如所述的 (Burleson et al., 1992; Kendal et al., 1982) 测定澄清的上清液中的血细胞凝集活性。对于鸡胚中的病毒分离, 将 0.1mL 组织匀浆物接种在尿膜囊中并在 35℃ 下培养 48 小时。两次盲法传代后, 如所述的测定尿囊液中的血细胞凝集活性 (Burleson et al., 1992; Kendal et al., 1982)。

[0241] RT-PCR、核苷酸测序和系统进化分析

[0242] 使用 RNeasy 试剂盒 (Qiagen, Valencia, CA) 根据生产商的使用说明, 从组织培养物上清液或者尿囊液提取总 RNA。使用一步 RT-PCR 试剂盒 (Qiagen, Valencia, CA) 根据生产商的使用说明将总 RNA (10ng) 逆转录成 cDNA。如以前描述的 (Klimov et al., 1992a), 使用通用的基因特异性引物组进行 cDNA 中 8 种流感病毒基因的编码区的 PCR 扩增。所得 DNA 扩增子用作 Applied Biosystems 3100 自动化 DNA 测序仪上的自动化测序的模板, 使用循环测序染料终止化学 (ABI)。用 GCG **Package**[®], 版本 10.0 (Accelrys) (Womble, 2000) 分析核苷酸序列。用 Phylogeny Inference **Package**[®] 版本 3.5 估计系统发生和从核苷酸序列计算自展值 (Felsenstein, 1989)。使用 **MEGA**[®] 程序 (Kumar et al., 2004) 中实现的 Tamura-Neigamma 模型, 将系统树与近邻连接分析产生的那些系统树比较, 并通过 **PAUP**[®] 4.0Beta 程序 (Sinauer Associates) 证实。

[0243] 狗的实验接种

[0244] 使用四只 6 个月龄的特定无病原体的小猎兔犬 [2 只雄性和 2 只雌性 (Liberty

Research)]。体检和基线血试验,包括全血细胞计数/微分、血清化学小组和尿分析确定动物是健康的。将它们养在试验动物照料评估和认证协会 (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care) 认证的 BSL 2- 增强型设施中。每天两次持续 7 天记录基线直肠温度。通过异丙酚 (Diprivan[®], Zeneca Pharmaceuticals, 0.4mg/kg 体重以生效) 的静脉内注射麻醉狗用于用气管内插管进行插管法。每只狗接种总剂量为 $10^{6.6}$ 半数组织培养感染量 (TCID₅₀) 的 A/Canine/Florida/43/2004 (Canine/FL/04) (H3N8) 病毒,将一半的剂量通过气管内插管施用于远端气管并将另一半剂量通过导管施用于鼻道深处。接种后 (p. i.) 14 天,每天两次进行体检和直肠温度记录。通过颈静脉穿刺在接种后 0、3、5、7、10 和 14 天收集血样 (4mL)。在接种后 0 到 5、7、10 和 14 天用聚酯拭子 (Fisher Scientific) 从每只狗收集鼻和鼻咽样品。将拭子置于病毒运送培养基 (Remel) 中并保存在 -80℃。通过在接种后 5 天静脉内接种 Beuthanasia-D[®] 溶液 (1mL/5kg 体重; Schering-Plough Animal Health Corp) 对两只狗实施安乐死 (1 只雄性和 1 只雌性) 并在第 14 天对剩下的 2 只狗进行尸体剖检。如所述的用于组织学分析的组织。用于病毒培养的组织在 -80℃ 保存。该研究得到佛罗里达大学机构动物管理和使用委员会 (University of Florida Institutional Animal Care and Use Committee) 的批准。

[0245] 病毒从实验接种的狗的脱落

[0246] 通过离心澄清拭子运送培养基制备的肺匀浆物和拭子提取物的连续稀释液用补充 0.5% BSA 和抗生素的 MEM 建立。如所述的 (Burleson et al., 1992) 使用单层 MDCK 细胞在 6 孔组织培养板中进行噬菌斑测定。用含有 0.8% 琼脂糖和 1.5ug/mL TPCK- 胰蛋白酶的补充的 MEM 覆盖接种的细胞单层。在固定和用结晶紫染色前,在含有 5% CO₂ 的增湿的空气中 37℃ 下培养细胞 72 小时。病毒浓度表达为每克组织或者每个拭子的噬斑形成单位 (PFU)。

[0247] 免疫组织化学

[0248] 在 Bond-Rite[™] 载玻片 (Richard-Allan Scientific, Kalamazoo, MI) 上封固来自灵 猯 和小猎兔犬的脱蜡和再水化的 5-μm 肺组织切片并随后用蛋白酶 K (Dako Cytomation, Carpinteria, CA) 接着用过氧化物酶封闭试剂 (Dako[®] EnVision[™] Peroxidase Kit, Dako Corp.) 处理。将切片与抗犬瘟热病毒 (VMRD, Inc.)、犬 2 型腺病毒 (VMRD, Inc.)、犬副流感病毒 (VMRD, Inc.) 或者甲型流感 H3 (Chemicon International, Inc.) 的单克隆抗体的 1 : 500 稀释液在室温下温育 2 小时。对照包括用小鼠 IgG (1mg/mL, Serotec, Inc.) 温育相同的切片,并温育单克隆抗体与正常的犬肺切片。用一级抗体处理后,用二级免疫过氧化物酶和过氧化物酶底物试剂 (Dako[®] EnVision[™] Peroxidase Kit, Dako Corp.) 根据生产商的使用说明温育切片。将切片用苏木精复染,用 Clarifier#2 和 Bluing Reagent (Richard-Allan Scientific, Kalamazoo, MI) 处理,脱水,并用 Permount (ProSciTech) 盖片。

[0249] 血细胞凝集抑制 (HI) 测定法

[0250] 在 37℃ 下用受体破坏酶 (RDE, Denka) (1 份血清 : 3 份 RDE) 温育血清样品 16 小时,然后在 56℃ 热失活 60 分钟。在 37℃ 下在 MDCK 细胞中培养 Influenza A/Canine/FL/04 (H3N8) 病毒 36-48 小时。收获病毒培养上清液,通过离心澄清,并在 -80℃ 保存。如以前描述的进行 HI 测定法 (Kendalet al., 1982)。简言之,将 25 μl 中的 4 血凝单位病毒

加入微量滴定孔中等体积的连续稀释的血清,并在室温温育 30 分钟。加入等体积的 0.5% v/v 火鸡红细胞并在 30 分钟后通过视觉评估血细胞凝集效价。将终点 HI 效价定义为完全抑制血细胞凝集的血清的最后稀释度。将血清转变定义为配对的急性和恢复期样品之间的 HI 效价 ≥ 4 倍增加。将单个样品的血清阳性定义为 $\geq 1:32$ 的 HI 抗体效价。

[0251] 微量中和 (MN) 测定

[0252] 通过如以前描述的 MN 测定法 (Rowe et al., 1999) 检测对 A/Canine/FL/04 (H3N8) 的中和血清抗体应答,只是在测定前对犬血清进行如上述的 RDE 处理。将终点效价定义为得到病毒的 100TCID₅₀ 50% 中和的血清的最高稀释度。将血清转变定义为配对的急性和恢复期样品之间 MN 效价 ≥ 4 - 倍增加。将单个样品的血清阳性定义为 MN 效价 $\geq 1:80$ 。

[0253] 下面是阐明实施本发明方法的实例。不应该将这些实施例理解为限制。除非另外指出,所有百分数都是按重量计并且所有溶剂混合物比例都是按体积计。

[0254] 实施例 1

[0255] 在 2004 年 1 月,在 Florida 赛场的 2 个狗舍中喂养的 22 只竞赛灵 提和为这些狗舍提供狗的当地农场中发生了呼吸系统疾病的爆发。在每个狗舍建筑中有约 60 只狗,农场中约 300 只狗。在 6 天内发生了爆发,之后没有鉴定到新的病例。22 只狗的 14 只具有 39.5 到 41.5°C 的发热,发热的作呕性咳嗽 10 到 14 天,并且最终恢复。在剩余的 8 只狗中,6 只明显健康的狗出乎意料地死亡,具有口和鼻出血。两只其他狗由于快速恶化,在发生口鼻出血的 24 小时内实施安乐死。这些狗都具有 41°C 发热。8 例死亡中 4 例在狗舍建筑物中发生,4 例在农场发生。50% 的死亡发生在爆发的第 3 天。22 只狗的年龄为 17 个月到 4 岁,但是 73% 的为 17 到 33 个月龄。

[0256] 两种临床综合征是明显的:较轻微的病,其特征是最初的发热和然后咳嗽 10-14 天 (14 只狗),随后恢复,或者过急性死亡,伴随着呼吸道中的出血 (8 只狗,死亡率为 36%)。对 8 个死亡病例的 6 例进行了尸体剖检。所有狗都在肺、纵隔和胸膜腔中具有广泛的出血。对呼吸道的组织学检查揭示除了肺部出血外,所有狗都具有气管炎、支气管炎、细支气管炎和化脓性支气管肺炎 (图 3)。这些组织中上皮层和气道腔中浸润嗜中性粒细胞和巨噬细胞。将从这些狗制备的肺匀浆物接种到多种猴、人、牛和犬细胞系用于病毒培养。来自一条狗的肺匀浆物在胰蛋白酶存在下在培养的 Madin-Darby 犬肾上皮细胞 (MDCK) 中引起细胞病变效应,并且细胞培养上清液凝集了鸡红细胞。通过商业 ELISA 检测甲型和乙型流感病毒的核蛋白,和通过使用对甲型流感病毒的基质基因特异的引物进行 PCR 分析,提供甲型流感病毒的初步证据。此外,通过针对马甲型流感 H3 亚型的参照抗血清抑制了血细胞凝集活性,但是通过对人甲型流感亚型 H1-H11 和 H13 特异的抗血清没有抑制血细胞凝集活性 (表 3)。为了表征病毒的分子性质,我们测定了病毒基因组的 8 个 RNA 区段的核苷酸序列。与已知的流感病毒基因的序列比较和系统进化分析表明犬分离群的 8 种基因与来自同时代的马甲型流感 (H3N8) 病毒最相似,它们与所述病毒的基因共有 $\geq 96-97\%$ 的序列同一性 (图 1A, 表 4)。相比,来自鸟类、猪和人甲型流感分离株的代表性基因与犬分离群具有 $\leq 94\%$ 同一性 (表 4)。这些数据将犬分离群 A/Canine/Florida/43/04 (Canine/FL/04) 鉴定为与马流感病毒的同时代谱系密切相关的甲型流感 H3N8 病毒。因为犬分离群的所有基因都是马流感病毒来源的,所以我们推断马流感病毒的整个基因组已经转移到狗。

[0257] 实施例 2

[0258] 为了研究 Canine/FL/04 在灵 狨 中的临床和病理学观察中的作用,我们使用抗甲型流感 H3 的单克隆抗体对肺组织进行了免疫组织化学染色 (IHC)。在支气管和细支气管上皮细胞的细胞质、支气管腺上皮细胞和气道腔和肺泡腔的巨噬细胞中总是检测到病毒 H3 抗原 (图 2A)。这些数据支持在多只狗中 H3 亚型流感病毒的肺部感染的诊断。

[0259] 实施例 3

[0260] 为了确定 Canine/FL/04- 样病毒参与呼吸系统疾病爆发的病因,我们通过血细胞凝集抑制 (HI) 和微量中和法 (MN) 分析了来自 11 只病狗和 16 只无症状接触狗的急性和恢复期血清。在两种测定法中,在 11 只中的 8 只 (73%) 病狗中发生了血清转变,其定义为对 Canine/FL/04 的抗体效价从急性到恢复期升高 ≥ 4 - 倍 (表 1)。在 HI 测定中,16 只中的 6 只 (38%) 无症状接触狗中发生血清转变,而在 MN 测定法中,16 只中的 8 只 (50%) 血清转变 (表 1)。血清转变数据表明 Canine/FL/04- 样病毒对狗的感染,其与多数动物中呼吸系统疾病的发作在时间上吻合。

[0261] 在与病狗一起喂养的额外的 46 只无症状狗的爆发后 3 个月,收集单个血清样品。其中,在两种测定法中 43 只 (93%) 为血清阳性。对于所测试的 73 只狗的总群体中,93% 的在两种测定中为血清阳性,包括 82% (9/11) 只病狗和 95% (59/62) 健康接触狗。没有呼吸系统疾病史的狗中的高血清阳性率表明犬科动物流感病毒的多数感染是亚临床的并且提示病毒在狗中的有效传播。亚临床感染是否促进病毒的传播还是未知的。

[0262] 实施例 4

[0263] 为了更好地理解 Canine/FL/04 病毒感染狗的能力,用 $10^{6.6}$ 半数组织培养感染量 (TCID₅₀) 通过气管内和鼻内途径接种四只 6 月龄 purpose- 品种的小猎兔犬的每一只。所有狗在接种后前 2 天 (p. i.) 都发生发热 (直肠温度 $\geq 39^{\circ}\text{C}$),但是在 14 天的观察期内没有一只显示出呼吸症状,如咳嗽或者鼻涕。通过用鼻或者口咽拭子定量病毒检查病毒脱落。4 只狗的仅仅两只脱落可检测量的病毒。一只狗在接种后 1 和 2 天脱落病毒 (每个拭子 $1.0\text{--}2.5\log_{10}\text{PFU}$),而另一只狗在接种后连续四天脱落病毒 (每个拭子 $1.4\text{--}4.5\log_{10}\text{PFU}$)。在 5p. i. 对两只狗的尸体剖检揭示了类似于在灵 狨 中的自发疾病中发现的坏死和增生性气管炎、支气管炎和细支气管炎,但是没有肺出血或者支气管肺炎。通过 IHC 在支气管、细支气管和支气管腺的上皮细胞的细胞质中检测到病毒 H3 抗原 (图 2B)。从一只狗的肺组织回收感染性病毒。在接种后 14 天对剩下两只狗的尸体剖检显示了呼吸系统组织中最小的组织学改变,通过 IHC 没有检测到病毒 H3 抗原,从肺匀浆物没有回收病毒。到接种后第 7 天用 MN 测定法检测到后两只狗中的血清转变,到第 14 天抗体效价进一步增加 2 到 3 倍。这些结果确定狗对 Canine/FL/04 感染的易感性,如通过发热反应、在肺实质中存在病毒抗原和感染性病毒、流感的典型组织学发现,和血清转变所证实。在实验接种的小猎兔犬中不能再现严重疾病和死亡并不令人惊奇,因为大部分的天然感染的灵 狨 是无症状的。

[0264] 实施例 5

[0265] 为了研究在 2004 年 1 月爆发前, Canine/FL/04- 样流感病毒是否已经在佛罗里达的灵 狨 群体中传播,使用 HI 和 MN 测定法对来自 65 只竞赛灵 狨 的存档血清测试抗 Canine/FL/04 的抗体。在来自 1996 到 1999 年的 33 个狗样品中没有检测到抗体。在 2000 到 2003 年间的 32 个狗样品中,9 个样品在两种测定法中都是血清阳性的 -1 个在 2000 年,

2 个在 2002 年,6 个在 2003 年(表 5)。血清阳性狗位于佛罗里达赛场,这些赛场与从 1999 到 2003 年未知病因的呼吸系统疾病爆发有关,提示 Canine/FL/04- 样病毒可能是那些爆发的致病因子。为了进一步研究该可能性,我们检查了来自 2003 年 3 月死于出血性支气管肺炎的灵 狴 的存档组织。接种到 MDCK 细胞和鸡胚的来自一只狗的肺匀浆物产生了 H3N8 流感病毒,称作 A/Canine/Florida/242/2003(Canine/FL/03)。对 Canine/FL/03 的完整基因组的序列分析揭示与 Canine/FL/04 的 > 99% 同一性(表 4),表明 Canine/FL/04- 样病毒在 2004 年前已经感染了灵 狴。

[0266] 实施例 6

[0267] 从 2004 年 6 月到 8 月,在佛罗里达、德克萨斯、阿拉巴马、阿肯色、西佛吉尼亚和堪萨斯州的 14 个赛场的几千只竞赛灵 狴 中发生了呼吸系统疾病爆发。

[0268] 一些赛场的官员估计他们至少 80% 的狗群体患有临床疾病。多数狗具有与 2004 年 1 月爆发中的狗类似的发热($\geq 39^{\circ}\text{C}$)和咳嗽的临床病征,但是许多狗也具有粘液脓性鼻涕。报导了多例死亡,但是不能确定准确的死亡率。

[0269] 我们收集了位于 4 佛罗里达赛场的 94 只狗的配对的急性和恢复期血清:56% 的这些狗对 Canine/FL/04 的抗体效价升高 ≥ 4 倍,100% 为血清阳性的(表 6)。来自西佛吉尼亚和堪萨斯州的 29 只狗的恢复期血清也具有抗 Canine/FL/04 的抗体。我们从德克萨斯赛场的死于出血性支气管肺炎的灵 狴 的肺分离了甲型流感(H3N8)病毒。该分离群(称作 A/Canine/Texas/1/2004(Canine/TX/04))的完整基因组的序列分析揭示与 Canine/FL/04 $\geq 99\%$ 的同一性(表 4)。在 13 个月期间内和从不同的地理位置从致死的犬病例分离出三种密切相关的流感病毒,以及在竞赛灵 狴 中普遍感染的实质性血清学证据,提示 Canine/FL/04- 样病毒在狗群体中的持续传播。

[0270] Canine/FL/03、Canine/FL/04 和 Canine/TX/04 的 HA 基因的系统进化分析表明它们组成单源群,具有有力的自引支持度,其与 2002 和 2003 年分离的马病毒的同时代 H3 基因明显不同(图 1B)。其他 7 种基因组区段的系统发生分析和逐对核苷酸序列比较提示犬基因隔离为与马病毒谱系最密切相关的不同的亚谱系(数据未显示,和表 4)。在 HA 中存在 4 个标记氨基酸改变也支持犬流感基因聚类为与马流感分离的单源群(表 2)。与来自 2003 和 2004 年的血清学结果一起,这些数据与如下相一致:从马到狗的单个病毒传播事件和随后该病毒在灵 狴 群体中的水平扩散。然而,不能正式排除来自未鉴定的储存物种的流感病毒的该独特谱系的重复导入,虽然这无论如何不太可能。

[0271] 病毒 HA 是流感病毒的宿主物种特异性的关键决定子(Suzuki et al.,2000)。为了鉴定 HA 内可能与对犬科动物宿主的适应有关的残基,我们比较了犬 HA 的推导的氨基酸序列与同时代马病毒的那些氨基酸序列。在马和犬成熟 HA 共有氨基酸序列中有四个氨基酸不同:N83S、W222L、I328T 和 N483T(见表 2)。犬病毒当与共有的马序列比较时具有氨基酸缺失。因此,HA 马序列中的氨基酸位置 7 是 HA 犬序列中的位置 6,HA 马序列中的氨基酸位置 29 是 HA 犬序列中的位置 28,HA 马序列中的氨基酸位置 82 是 HA 犬序列中的位置 82,等等。从而,四个替代的氨基酸在 SEQ ID NO:33 和 SEQ ID NO:34 中所示氨基酸序列的位置 82、221、327 和 482。在共有序列位置 83 上丝氨酸对天冬酰胺的替代是未知功能重要性的改变,因为在来自其他物种的 H3 分子中发现多种极性残基。在接近 H3HA 的切割位点的

共有序列位置 328 上的严格保守的异亮氨酸已经被苏氨酸替代。发病机理中宿主蛋白酶对 HA 切割的重要作用提示该改变值得进一步研究。在共有序列位置 222 上亮氨酸对色氨酸的替代是相当值得注意的,因为它代表与唾液酸结合口袋相邻的非保守改变,其可以调节受体功能 (Weis et al., 1988)。有趣的是,在 222 位的亮氨酸不是犬 H3HA 特有的,因为它通常被发现于 H4、H8、H9 和 H12HA 亚型中 (Nobusawa et al., 1991; Kovacova et al., 2002)。亮氨酸替代与对哺乳动物宿主的病毒特异性可能更相容,因为已经报导了亚型 H4 病毒对猪的感染 (Karasin et al., 2000) 和亚型 H9 病毒对人和猪的感染 (Peiris et al., 1999)。在共有序列 483 位上天冬酰胺对苏氨酸的替代导致在 HA2 亚基中糖基化位点的丧失,该位点在所有 HA 亚型中保守 (Wagner et al., 2002)。尽管 HA 中这些氨基酸改变对于马病毒对狗的适应性的的重要性还有待确定,但是以前已经观察到与物种间转移有关的类似的氨基酸改变 (Vines et al., 1998; Matrosovich et al., 2000)。在表 19 到 25 中显示了本发明的其他流感病毒蛋白质和马共有序列之间的氨基酸差异。

[0272] 最初感染竞赛灵 **猊** 的马流感病毒的来源仍然是推测性的。在灵 **猊** 竞赛场的狗舍不位于附近的马或者马赛场,提示该灵 **猊** 和脱落病毒的马之间的接触不能充分解释 2004 年在不同州的多处爆发。接触马病毒的潜在来源是对灵 **猊** 喂饲马肉,所述灵 **猊** 的食物被补充食品加工厂的生肉,食品加工厂提供可能携带流感的尸体,包括马。该感染方式的先例包括 H5N1 鸟流感病毒向进食受感染的鸡尸体的猪和动物园猫科动物的种间传播 (Webster, 1998; Keawcharoen et al., 2004; Kuiken et al., 2004)。尽管这是马流感向狗的最初引入的似乎合理的途径,但是它不能解释最近在不同州的几千只狗中的多次流感爆发。我们的实验接种研究表明在狗的鼻道和口咽中存在病毒,尽管处于适度的滴度。然而,这些结果表明脱落是可能的,并且通过大滴气溶胶、污染物进行的病毒的狗-狗传播或者间接粘膜接触可以在该疾病的动物流行病学中起作用。

[0273] 全部哺乳动物流感病毒向不相关的哺乳动物物种的种间转移是罕见的事件。以前的研究已经提供了狗与人甲型流感 (H3N2) 病毒的暂时感染的有限的血清学或者病毒学证据,但不是血清学和病毒学证据两者 (Nikitin et al., 1972; Kilbourne, et al., 1975; Chang et al., 1976; Houser et al., 1980)。然而,没有犬科动物宿主中持续传播的证据。尽管充分记载了猪流感病毒从猪向人的直接转移 (Dacso et al., 1984; Kimura et al., 1998; Patriarca et al., 1984; Top et al., 1977),但是没有猪病毒在人宿主中适应的证据。在该报导中,我们提供了完整马甲型流感 (H3N8) 病毒向另一种哺乳动物物种狗的种间传播。犬病毒 HA 中独特的氨基酸替代,以及美国多个州中狗感染的血清学证据,提示该病毒适应了犬科动物宿主。因为狗是人类的主要陪伴动物,所以这些发现具有公共健康的牵连;狗可能提供新的甲型流感病毒向人类传播的新的来源。

[0274]

表 1.对 A/Canine/Florida/43/2004 (H3N8)的抗体应答				
	病狗(11) ^a		健康接触者(16) ^b	
应答	HI ^c	SN ^d	HI	SN
血清转变 (%) ^e	73	73	38	50
血清阳性 (%) ^f	82	82	100	100
几何平均效价 ^g	329	424	268	431

[0275] ^a 具有疾病的临床病征的狗的数目。

[0276] ^b 与临床上患病狗接触喂养的无症状狗的数目。

[0277] ^c 使用 A/Canine/Florida/43/2004 病毒的血细胞凝集抑制 (HI) 测定法。

[0278] ^d 使用 A/Canine/Florida/43/2004 病毒的微量中和 (MN) 测定法。

[0279] ^e 具有配对的急性和恢复期血清中抗体效价增加至少 4 倍的狗的百分比。

[0280] ^f 在恢复期血清中具有阳性抗体效价 (HI 效价 ≥ 32 : MN 效价 ≥ 80) 的狗的百分比。

[0281] ^g 恢复期血清的几何平均抗体效价。

[0282]

表 2. 犬和马 H3 血凝素之间的氨基酸差异

马 H3 共有序 列	Can/FL/03	Can/FL/04	Can/TX/04	潜在的功能重要性
G7*	D	- [†]	-	D 也在鸭和人 H3 HA 中发现
I29	-	M	M	I 在来自所有物种的 H3 HA 中保守
N83	S	S	S	在其他物种的 H3 HA 中该位置上存在的多种极性氨基酸
S92	-	N	-	N 存在于一些鸭 H3 HA 中
L118	-	-	V	L 在所有 H3 HA 中保守
W222	L	L	L	W 在所有物种的多数 H3 HA 中保守; 位于受体结合部位附近
A272	V	A	V	V 存在于一些最近的马分离群中
I328	T	T	T	T 在所有鸟类、猪或者人 H3 HA 中严格保守
N483	T	T	T	N 发生在所有 H3 和其他 HA 亚型中。替代导致失去糖基化位点。
K541	-	R	-	碱性氨基酸保守改变

[0283] *成熟 H3HA 中的氨基酸残基(单字母代码)和位置。氨基酸代码是:A=丙氨酸,D=天冬氨酸,G=甘氨酸,I=异亮氨酸,K=赖氨酸,L=亮氨酸,M=甲硫氨酸,N=天冬酰胺,R=精氨酸,S=丝氨酸,T=苏氨酸,V=缬氨酸,W=色氨酸。

[0284] [†]表示没有从共有马 H3HA 的改变。

[0285]

表 3. 通过针对不同 HA 亚型的参考血清对病毒分离群的血细胞凝集抑制

参考抗血清	HA 特异性	HI 效价 ^a
Puerto Rico/8/34	H1	5
Swine/Iowa15/30	H1	5
Singapore/01/57	H2	5
Shanghai/11/87	H3^b	5
Equine/Miami/1/63	H3	160
Duck/Czechoslovakia/56	H4	5
Tern/South Africa/61	H5	5
Turkey/Massachussetts/65	H6	5
Fowl Plague/Dutch/27	H7	5
Fowl Plague/Rostock/34	H7	5
Equine/Prague/1/56	H7	5
Turkey/Ontario/6118/68	H8	5
Quail/Hong Kong/G1/97	H9^b	5
Chicken/Hong Kong/G9/97	H9^b	5
Chicken/Germany/49	H10	5
Duck/England/56	H11	5
Gull/Maryland/704/77	H13	5
正常绵羊血清	-	5
正常白鼬血清	-	5

[0286] ^a 对来自 #43 狗的病毒分离群的血细胞凝集抑制效价。

[0287] ^b 在白鼬中产生多克隆抗血清,而在绵羊或山羊中产生所有其他抗血清。

[0288]

表 4. A/Canine/Florida/43/2004 (H3N8)基因与马、鸟类、猪和人的甲型流感毒株的序列同源性

基因	马	鸟类	猪	人
PB2	96.9 (98.7)^a	88.6 (96.8)	87.9 (96.8)	86.2 (96.4)
DQ1241	Eq/Kentuck	Mall/Alberta/98	Sw/Ontario/	PR/8/34
47	y/2/8	/85	01911-1/99	(HK/213/03)
	M73526	AY633315	AF285892	AF389115
				(AY576381)
PB1	97.1 (98.8)	83.9 (97.1)	83.9 (97.1)	83.9 (97.1)
DQ1241	Eq/Tennesse	Ck/BritishColu	Sw/Korea/S1	WSN/33
48	e/5/86	mbia/04	09/04	(Sing/1/57)
	M25929	(Gull/Md/704/77	(Sw/Saskatch	J02178
		)	/	(M25924)
		AY61675	18789/02)	
		(M25933)	AY790287	
			(AY619955)	
PA	96.3 (97.5)	87.0 (94.3)	84.3 (94.6)	83.8 (93.4)
DQ1241	M26082	Ck/Chile/4591/0	Sw/Hong	Taiwan/2/70
49	Eq/Tennessee	2	Kong/	(Viet Nam/
	/5/86	(Ostrich/SA/081	126/02	1203/04)
		03/95)	M26081	AY210199
		AY303660(AF5		(AY818132)
		08662)		
HA	97.4 (97.1)	80.7 (89.0)	80.0 (87.7)	81.8 (87.9)
(H3)	Eq/FL/1/93	Dk/Norway/1/03	Sw/Ontario/4	HK/1/68
DQ1241	L39916	AJ841293	2729a/01	AF348176
90			AY619977	
NP	96.6 (97.9)	87.9 (95.1)	85.4 (93.5)	84.7 (93.0)

[0289]

DQ1241 50	Eq/Tennessee /5/86 M30758	Ck/Chile/17682 2/02 AY303658	Sw/Ontario/4 2729a/01 (Sw/Fujian/1/ 2003) AY619974 (AY747611)	HK/1073/99 (Hong Kong /538/97) AF255742 (AF255751)
NA (N8) DQ1241 51	96.8 (97.0) Eq/Tennessee /5/86 L06583	84.0 (85.2) Dk/NJ/2000 L06583	na^b	na^b
M DQ1241 52	97.9 (95.7) Eq/Tennessee /5/86 (Eq/Kentuck y/92) M63529 (AF001683)	94.1 (94.0) Tky/Mn/833/80 AF001683	93.7 (93.5) Sw/Saskatche wan/ 18789/02 M63527	91.2 (95.4) WSN/33 (Hong Kong/ 1073/99) J02177 (AJ278646)
NS DQ1241 53	97.5 (95.7) Eq/Tn/5/86 (Eq/Kentuck y/92) M80973 (AF001671)	92.0 (90.4) Mal/NY/6750/78 M80945	91.1 (89.1) Sw/China/8/7 8 (Sw/Korea/s4 52/04) M80968 (AY790309)	91.4 (90.0) Brevig Mission/1/18 AF333238

[0290] ^a A/Canine/Florida/43/04(H3N8) 基因与来自所述物种的流感病毒分离群的多数同源基因的百分比核苷酸和氨基酸(括号内)序列同一性,接着是它们的 Genbank 序列数据库检索号。

[0291] ^b 不可应用:在人或者猪病毒中从没有报道 N8 神经氨酸酶。

[0292]

表 5. 对 1996 到 2003 年收集的灵提血清中 A/canine/Florida/43/2004 (H3N8)的抗体效价

	年 ^a					
	1996	1997	1998	2000	2002	2003
测试的狗的数目	8	6	19	4	6	22
血清阳性狗的数目	0	0	0	1	2	6
抗体效价 ^b				512	232, 524	280-2242

[0293] ^a 从佛罗里达竞赛灵提收集血清样品年份。

[0294] ^b 血清阳性狗的微量中和测定抗体效价, 包括 6 只 2003 年血清阳性狗。

[0295]

表 6. 2004 年 6 月在佛罗里达赛场的竞赛灵提中对 A/canine/Florida/43/2004 (H3N8)的抗体应答

应答	赛场 A	赛场 B	赛场 C	赛场 D
测试的狗的数目 ^a	37	10	22	25
血清转变(%) ^b	46	90	100	64
血清阳性 (%) ^c	100	100	100	100
几何平均效价 ^d	401	512	290	446

[0296] ^a 使用 A/canine/Florida/43/2004 (H3N8) 通过 HI 测试的临床患病狗的数目。

[0297] ^b 在急性和恢复期血清之间抗体效价升高 ≥ 4 倍的狗的百分比。

[0298] ^c 在恢复期血清中具有阳性抗体效价 (HI 效价 > 16) 的狗的百分比。

[0299] ^d 恢复期血清的几何平均抗体效价。

[0300] 实施例 7-11 的材料和方法

[0301] 犬组织

[0302] 由佛罗里达大学兽医学院的解剖病理学处对 6 只杂种狗和一只宠物 Yorkshire Terrier 狗进行尸体剖检, 所述杂种狗在 2005 年 4 月 /5 月流感爆发期间在佛罗里达东北部的收容所死亡, 所述 Yorkshire Terrier 狗在 2005 年 5 月流感病毒爆发期间在佛罗里达东南部的兽医诊所中死亡。将组织用 10% 中性缓冲福尔马林固定, 包埋在石蜡中, 并用苏木精

和伊红染色 5- μm 的切片用于组织病理学诊断。在病毒学分析之前,未固定的组织在 -80°C 保存。

[0303] 从犬组织样品提取 RNA

[0304] 将来自 7 只狗的每一只的冷冻的肺组织解冻并在补充 0.5% 牛血清白蛋白 (BSA) (Kendall, Lifeline Medical Inc., Danbury, CT) 和抗生素 (庆大霉素和环丙沙星) 的极限必需培养基 (MEM) 中用一次性组织研磨机匀浆。使用商业试剂盒 (**RNeasy**[®] Mini Kit, QIAGEN Inc., Valencia, CA) 根据生产商的使用说明提取总的 RNA 并用 60 μL 最终体积的缓冲液洗脱。还从自没有呼吸系统疾病的狗收集的肺组织提取总 RNA。

[0305] 实时 RT-PCR

[0306] 使用含有 ROX 作为被动参考染料的 **QuantiTect**[®] Probe RT-PCR 试剂盒 (QIAGEN Inc., Valencia, CA), 对从犬组织样品提取的总 RNA 进行一步定量实时 RT-PCR。简言之, 两个引物-探针组用于检测每种样品中的甲型流感序列 (表 7)。一个引物-探针组对于犬血凝素 (H3) 基因序列是选择性的。另一个引物-探针组靶定甲型流感病毒的基质 (M) 基因的高度保守区。对于每个实时 RT-PCR 反应, 向含有 12.5 μL 2X **QuantiTect**[®] Probe RT-PCR Master Mix, 0.25 μL **QuantiTect**[®] RT Mix, 正向和反向引物 (每种 0.4 μM 终浓度), 探针 (0.1 μM 终浓度) 和无 RNA 酶的水的反应混合物中加入 5 μL 提取的总 RNA, 最终体积为 25 μL 。根据生产商的使用说明, 用 **TaqMan**[®] Ribosomal RNA Control Reagents (Applied Biosystems, Foster City, CA) 检测 18S rRNA, 其作为从犬组织样品提取的 RNA 的存在的内源性内部对照。

[0307] 在 **Mx3000P**[®] QPCR 系统 (Stratagene, La Jolla, CA) 中对反应混合物进行定量一步实时 RT-PCR。循环条件包括 50°C 30 分钟的逆转录步骤, 95°C 15 分钟以激活 **HotStarTaq**[®] DNA 聚合酶的最初变性步骤, 和 40 个循环的扩增。每个扩增循环包括 94°C 变性 15 秒, 接着 60°C 下退火/延伸 1 分钟。在每个循环结束时记录 FAM (发射波长 518nm) 和 VIC (发射波长 554nm) 荧光信号。通过在每个单独的实验中设置阈值荧光 (dR) 为 1000, 确定阈值循环数 (Ct)。用 **Mx3000P**[®] 版本 2.0 软件程序 (Stratagene, La Jolla, CA) 进行数据采集和分析。当 H3 或者 M 基因的阈值循环 (Ct) 比来自没有呼吸系统疾病的狗的肺组织的 Ct 小 3 个单位时, 认为样品是甲型流感病毒阳性的。阳性对照由从 A/canine/FL/242/03 (H3N8) 病毒提取的 RNA 的扩增组成。

[0308] MDCK 细胞中的病毒分离

[0309] 解冻来自 7 只狗的每一只的冷冻的肺组织并在 10 倍体积的补充 0.5% (BSA) 和抗生素 (庆大霉素和环丙沙星) 的 Dulbecco 改良的 Eagle 培养基 (DMEM) 中匀浆。离心除去固体残渣并将上清液接种到在补充 1 $\mu\text{g/mL}$ TPCK- 处理的胰蛋白酶 (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO) 和抗生素 (庆大霉素和环丙沙星) 的 DMEM 中培养的 Madin-Darby 犬肾 (MDCK) 细胞上。细胞在含有 5% CO_2 的湿润空气中 37°C 下在 25cm^2 瓶中生长。每天观察培养物的形态学改变并在接种后 5 天收获。通过离心澄清收获的培养物并如对于最初接种所述的将上清液接种到新鲜的 MDCM 细胞上; 对通过血细胞凝集或者 RT-PCR 没有显示流感病毒证据的样品进行两次额外的传代。使用 0.5% 火鸡细胞如以前描述 (Burleson, F. et

al.,1992 ;Kendal, P. et al.,1982) 的测定澄清的上清液中的血细胞凝集活性。如下述进行 RT-PCR。

[0310] 含胚的鸡蛋中的病毒分离

[0311] 如上文关于 MDCK 细胞的接种所述的从冷冻的肺组织制备匀浆。将匀浆 (0.2mL) 接种到 10 天龄含胚的鸡蛋的尿膜囊中。在 35℃ 培育 48 小时后,在 4℃ 过夜冷冻鸡蛋,然后收获尿囊液。使用 0.5% 火鸡血红细胞如以前描述的 (Burleson, F. et al.,1992 ;Kendal, P. et al.,1982) 测定澄清的上清液中的血细胞凝集活性。如下文描述的进行 RT-PCR。对最初接种后没有显示出流感病毒证据的样品用含胚的蛋进行两次额外传代。

[0312] RT-PCR、核苷酸测序和系统进化分析

[0313] 使用 **QIAamp**[®] Viral RNA Mini 试剂盒 (QIAGEN Inc.,Valencia,CA) 根据生产商的使用说明从 MDCK 上清液或者尿囊液提取病毒 RNA。使用 **QIAGEN**[®] OneStep RT-PCR 试剂盒 (QIAGEN Inc.,Valencia,CA) 根据生产商的使用说明将病毒 RNA 反转录成 cDNA。如以前描述的 (Klimov, A. et al.,1992b),使用通用的基因特异性引物组 (根据请求可以得到引物序列) 进行 cDNA 中 8 种流感病毒基因的编码区的 PCR 扩增。所得的 DNA 扩增子用作 **ABI PRISM**[®] 3100 自动化 DNA 测序仪中自动化测序的模板,使用循环测序染料终止化学 (Applied Biosystems,Foster City,CA)。使用 Lasergene 6 **Package**[®] (DNASTAR, Inc., Madison, WI) 分析核苷酸序列。用 PHYLIP 版本 **3.5**[®] 软件程序从核苷酸序列估计系统发生和计算自展值 (Felsenstein, J.,1989)。将系统树与用 **MEGA**[®] 程序 (Kumar, S. et al.,2004) 中实现的 Tamura-Nei 模型进行的近邻连接分析产生的系统树相比较,并通过 **PAUP**[®] 4.0 Beta 程序 (Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA) 证实。

[0314] 血细胞凝集抑制 (HI) 测定

[0315] 将血清样品与受体破坏酶 (RDE, DENKA SEIKEN Co., Ltd., Tokyo, Japan) (1 份血清:3 份 RDE) 在 37℃ 温育 16 小时,然后在 56℃ 热失活 30 分钟。流感 A/Canine/Jacksonville/05 (H3N8) 病毒在 37℃ 下 5% CO₂ 中在 MDCK 细胞中生长 72 小时。收获病毒培养上清液,通过离心澄清,并在 -80℃ 保存。HI 测定中使用的所有其他病毒都生长在 10 天龄的含胚的鸡蛋中,从其收集尿囊液并在 -80℃ 保存。如以前描述的 (Kendal, P. et al.,1982) 进行 HI 测定。简言之,向 96 孔塑料板中等体积的连续稀释的血清中加入 25 μL 凝血单位的病毒并在室温下温育 30 分钟。加入等体积的 0.5% 火鸡红细胞并在 30 分钟后通过视觉估计血细胞凝集效价。将终点 HI 效价定义为完全抑制血细胞凝集的血清的最后稀释度。

[0316] 实施例 7- 临床病例

[0317] 在 2005 年 4 月和 5 月,在佛罗里达东北部的收容所中喂养的狗中发生了以前描述的呼吸系统疾病爆发 (Crawford, P. C. et al.,2005)。该爆发涉及 3 个月至 9 岁年龄的至少 58 条狗,并且包括纯种狗以及杂种狗。最常见的临床病征是脓性鼻分泌物和咳嗽 7 到 21 天。在具有临床疾病 ≥ 7 天的 43 条狗中,41 条对 canine/FL/04 (H3N8) 的 HI 抗体效价为 32 到 > 1024。至少 10 条狗发展成肺炎,其中 6 条被实施安乐死。这 6 条杂种狗包括 3 条雄性和 3 条雌性,年龄为 4 个月到 3 岁。在安乐死时临床病征的持续时间为 2 到 10 天。在尸体剖检时,这些狗具有肺充血和水肿。对呼吸道的组织学检查揭示了鼻炎、气管炎、支气

管炎、细支气管炎和化脓性支气管肺炎。在气管、支气管、细支气管和支气管腺中存在上皮细胞坏死和糜烂。呼吸系统组织被嗜中性粒细胞和巨噬细胞浸润。

[0318] 在 2005 年 5 月,在佛罗里达东南部的一个兽医诊所中 40 条宠物狗中发生呼吸系统疾病爆发。最常见的临床病征是脓性鼻分泌物和咳嗽 10 到 30 天。在 40 条狗中,17 条对于 canine/FL/04(H3N8) 是血清阳性的,HI 抗体效价范围为 32 到 > 1024。在可以得到配对的急性和恢复期血清的 10 条狗中发生了血清转变。三条狗发展为肺炎。一条狗为 9 岁的雄性 Yorkshire Terrier,在临床病征发作后 3 天死亡。该狗具有气管支气管炎、肺水肿和充血,和严重的支气管肺炎。类似于 6 条收容所的狗,在组织中有上皮细胞坏死和气道糜烂和嗜中性粒细胞浸润。

[0319] 实施例 8- 实时 RT-PCR 和病毒分离

[0320] 通过定量实时 RT-PCR 测定法分析来自 7 条狗的肺组织,所述测定法检测甲型流感的 M 基因和犬 H3N8 甲型流感病毒的 H3 基因。来自所有 7 条狗的肺对于甲型流感 M 基因和犬流感 H3 基因都是阳性的(表 8)。在 MDCK 细胞中传代 3 次后,从在肺炎 3 天后死亡的收容所狗的肺分离亚型 H3N8 病毒。该病毒称作 A/canine/Jacksonville/05(H3N8)(canine/Jax/05)。在含胚的鸡蛋中传代 2 次后,从肺炎 3 天后也死亡的宠物狗的肺回收甲型流感亚型 H3N8 病毒。将该病毒称作 A/canine/Miami//05(H3N8)(canine/Miami/05)。

[0321] 实施例 9- 犬甲型流感 H3N8 分离群的遗传学分析

[0322] canine/Jax/05 和 canine/Miami/05 的序列分析揭示它们的血凝素(HA)基因与从 2004 和 2005 年赛场的流感爆发期间死于肺炎的竞赛灵 **猊** 的肺回收的 canine/FL/04、canine/TX/04 和 canine/Iowa/05 分离群具有 98% 同一性(Crawford, P. C. et al., 2005; Yoon K-Y. et al., 2005)。此外,canine/Jax/05 和 canine/Miami/05 的 HA 基因与 2000 年后分离的同时代马流感病毒有 98% 同一性。HA 基因的系统发生比较表明 canine/Jax/05 和 canine/Miami/05 病毒与 canine/FL/04、canine/TX/04 和 canine/Iowa/05 灵 **猊** 分离群和同时代的马分离群聚类,形成与 20 世纪 90 年代早期分离的较早的马病毒不同的组(图 4)。此外,canine/Jax/05、canine/Miami/05 和 canine/Iowa/05 分离群与 canine/Tx/04 比对 canine/FL/04 或 canine/FL/03 更接近。2005 年分离群形成了一个亚组,其似乎与较早的 2003 和 2004 犬病毒分叉,在约 10 个简约信息位点具有差异。这些差异支持如下假说,即犬流感病毒在狗与狗之间水平传播,而不是从外部来源定期地再次输入。从 2003 到 2005 年的突变积累表明病毒被传播到新的宿主后必须经历的正在进行的适应过程,如对犬流感病毒预期已经发生。

[0323] 实施例 10- 犬甲型流感病毒 H3N8 分离群的氨基酸分析

[0324] 在所有 6 种犬分离群中都有保守氨基酸替代,其使得它们与同时代的马流感病毒不同(表 9)。这些保守替代是 I15M、N83S、W222L、I328T 和 N483T。成熟 HA 蛋白质的系统发生比较表明 canine/Jax/05、canine/Miami/05 和 canine/Iowa/05 病毒与 canine/TX/04 分离群形成一个亚组(图 4)。有 3 个氨基酸改变(L118V、K261N 和 G479E)使得该亚组与其他犬病毒不同(表 9)。有两个氨基酸改变(F79L 和 G218E),其使得 2005 分离群与它们的 canine/TX/04 根不同。此外,来自非灵 **猊** 狗的 2005 分离群 canine/Jax/05 和 canine/Miami/05 与 canine/Iowa/05 灵 **猊** 分离群有一个氨基酸改变 R492K 而不同。最后,canine/

Jax/05 与 canine/Miami/05 的差别是一个氨基酸 S107P。在所有其他 H3N8 马和犬病毒中，S 在 107 位保守，但是 A/Equine/Jilin/1/89 除外，其具有 T(Guo Y. et al., 1992)。

[0325] 实施例 11- 犬甲型流感 H3N8 分离群的抗原分析

[0326] 使用较早的和同时代的马流感病毒和犬流感病毒的血清组，和在 2005 年从感染流感病毒的马和狗收集的血清进行血细胞凝集抑制 (HI) 试验 (表 10)。在该分析中还包括来自对 canine/FL/04 免疫的白鼬的血清。当用同时代的马病毒测试时，马血清中 HI 抗体效价比以前的分离群高 8 到 16 倍，但是当用犬病毒测试时降低至少 4 倍。犬血清不与较早的马病毒反应，但是当用同时代的马分离群和犬分离群测试时，抗体效价增加 4 倍。该结果也在来自对犬流感病毒免疫的白鼬的血清中观察到。这些血清反应性模式表明犬流感病毒和同时代的马流感病毒之间的抗原相似性，并且与系统发生分析相一致。抗 canine/Miami/05 分离群的马、犬和白鼬血清中的抗体效价与 2003 和 2004 白鼬分离群的那些相似。然而，canine/Jax/05 分离群的效价低 2 到 4 倍。这提示 canine/Jax/05 在抗原上与其他犬分离群不同，这可能与成熟 HA 中 107 位的单个氨基酸改变部分有关。

[0327]

表 7. 用于甲型流感病毒的基质基因和犬甲型流感的 H3 基因(H3N8)的定量实时 RT-PCR 分析的引物和探针

引物	靶标	序列	应用
Ca-H3-F387	H3 (nt 387-406)	5'-tatgcategctccgatccat-3' (SEQ ID NO: 79)	H3 的正向引物
Ca-H3-R487	H3 (nt 487-467)	5'-gtccacttcttcggtttga-3' (SEQ ID NO: 80)	H3 的反向引物
Ca-H3-P430	H3 (nt 430-459)	FAM-aattcacagcagagggttcacatggacag-BHQ1 (SEQ ID NO: 81)	TaqMan® 探针
FluA-M-F151	M (nt 151-174)	5'-catggartggctaaagacaagacc-3' ^a (SEQ ID NO: 82)	M 的正向引物
FluA-M-R276	M (nt 276-253)	5'-agggcattttggacaaakcgtcta-3' (SEQ ID NO: 83)	M 的反向引物
FluA-M-P218	M (nt 218-235)	FAM-acgcTcacccTgcccAgt-BHQ1 ^b (SEQ ID NO: 84)	TaqMan® 探针

[0328] ^a 加下划线的字母 r 代表核苷酸 a 或者 g，加下划线的字母 k 代表核苷酸 g 或者 t。

[0329] ^b 大写字母代表锁定核酸残基。

[0330]

表 8. 对呼吸系统疾病爆发期间，在佛罗里达的收容所和兽医诊所死于肺炎的狗的肺组织进行的定量实时 RT-PCR 和病毒分离

狗 ID	位置	临床疾病的 持续时间	实时 RT-PCR		病 毒 分 离
			M (Ct)	HA (Ct)	
A/canine/F L/242/03	阳性对照		28.15	27.36	
1079	收容所 (NE FL)	2 天	29.81	28.84	无
1078	收容所(NE FL)	3 天	30.37	29.71	MDCK 第三代
318	收容所(NE FL)	9 天	33.89	32.97	无
320	收容所(NE FL)	10 天	39.44	37.09	无
319	收容所(NE FL)	6 天	33.87	32.23	无
1080	收容所(NE FL)	6 天	38.87	38.23	无
374	兽 医 诊 所 (SE FL)	3 天	24.05	22.65	蛋 第二代

[0331]

表 9. 犬流感病毒和同时代的马流感病毒的成熟 HA 的氨基酸比较

	氨基酸																	
	7	15	54	78	79	83	92	107	118	159	218	222	261	328	479	483	492	541
A/equine/KY/5/02	G	I	N	V	F	N	S	S	L	N	G	W	K	I	G	N	R	K
A/equine/MA/213/03	.	.	.	A	.	.	.	.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	.
A/equine/OH/1/03	D	.	K	A	.	.	.	.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	.
A/canine/FL/242/03	.	M	K	A	.	S	.	.	.	S	.	L	.	T	.	T	.	.
A/canine/FL/43/04	.	M	K	A	.	S	N	.	.	S	.	L	.	T	.	T	.	R
A/canine/TX/1/04	.	M	K	A	.	S	.	.	V	S	.	L	N	T	E	T	.	.
A/canine/Iowa/05	.	M	K	A	L	S	.	.	V	S	E	L	N	T	E	T	.	.
A/canine/Miami/05	.	M	K	A	L	S	.	.	V	S	E	L	N	T	E	T	K	.
A/canine/Jacksonville/05	.	M	K	A	L	S	.	P	V	S	E	L	N	T	E	T	K	.

[0332]

表 10. 抗早期和同时代的马流感病毒和犬流感病毒的马、犬和白鼬血清中的抗体效价

	血清	抗体	效价 ^a
抗原	马	犬	白鼬 ^b
equine/Miami/63	40	<10	16
equine/Ky/86	40	40	32
equine/KY/92	40	<10	32
equine/NY/99	320	40	128
equine/KY/05/02	320	160	256
equine/MA/213/03	640	160	512
equine/OH/01/03	640	160	512
canine/FL/03	160	160	512
canine/FL/04	160	80	512
canine/Tx/04	160	160	512
canine/Miami/05	160	80	256
canine/Jax/05	40	40	128

[0333] ^a 在用抗原栏中所列出的马、犬或者白鼬血清和病毒进行的血细胞凝集抑制测定中测定的抗体效价。

[0334] ^b 来自用 canine/FL/04 病毒免疫的血清。

[0335] 实施例 12-15 的材料和方法

[0336] 犬流感病毒接种物

[0337] 通过用代表以前描述的 (Crawford et al., 2005) 最初分离群的第 3 代的 A/canine/FL/43/04 (H3N8) 原种接种 Madin-Darby 犬肾 (MDCK) 上皮细胞, 制备病毒接种物。在补充 1 μg/mL TPCK- 处理的胰蛋白酶 (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO) 和抗生素 (庆大霉素和环丙沙星) 的 Dulbecco 极限必需培养基 (DMEM) 中接种的 MDCK 细胞在含有 5% CO₂ 的湿润空气中 37℃ 下生长在 250cm² 培养瓶中。每天观察培养物的形态改变并在接种后 5 天收获。通过离心澄清收获的培养物并在接种狗之前将上清液在 -80℃ 保存。用上清液的等分试样通过 Reed 和 Muench 方法测定病毒效价。效价为 10⁷ 半数组织培养感染量 (TCID₅₀) 的 A/canine/Florida/43/2004 (canine/FL/04) /mL。

[0338] 实验接种

[0339] 8 条 4 个月龄的 colony 品种的杂种狗 (Marshall BioResources, North Rose, NY) (4 条雄性和 4 条雌性) 用于佛罗里达大学机构动物管理和使用委员会批准的实验接

种研究。狗的体重为 13 到 17kg。在接种前,根据体检、基线血试验和记录体温两周,发现狗是健康的。根据对在到达实验室之时和 2 周后收集的配对血清样品进行的血清学试验,所有狗以前都没有接触犬流感病毒。通过静脉内注射异丙酚 (Diprivan[®], Zeneca Pharmaceuticals, 0.4mg/kg 体重以生效) 麻醉狗以用气管内管插管。6 条狗 (3 条雄性和 3 条雌性) 每条接种 5mL 无菌盐水中的 10^7 TCID₅₀ canine/FL/04 病毒,通过插入到气管内插管的小直径橡胶导管将所述病毒施用于气管远端。两条狗 (1 条雄性和 1 条雌性) 用等体积的无菌盐水假接种。假接种的对照狗与接种病毒的狗关在不同的房间内并且由不同的工作人员照料。每天进行两次体检和直肠温度记录,直到接种后 6 天 (p. i.)。

[0340] 咽和直肠拭子采集

[0341] 为了监视病毒脱落,在接种后 0 到 6 天,使用聚酯拭子 (Fisher Scientific International Inc., Pittsburgh, PA) 从每条狗每天两次收集口咽样品。将拭子置于含有 0.5% 牛血清白蛋白 (BSA) 的 1mL 无菌磷酸缓冲盐水 (PBS) 中。从第 0 到 6 天每天从每条狗收集直肠拭子。通过离心澄清拭子运送培养液,制备拭子提取物。使用 Directigen[™] 商业免疫测定试剂盒 (BD, Franklin Lakes, NJ) 根据生产商的使用说明,对拭子提取物的等分试样立即测试甲型流感病毒核蛋白。剩余的提取物在 -80℃ 保存备用用于其他的病毒学测定。

[0342] 尸体剖检

[0343] 在接种后第 1 天,通过静脉内接种 **Beuthanasia-D[®]** 溶液 (1mL/5kg 体重; Schering-Plough Animal Health Corp),对一条假接种的狗和一条病毒接种的狗实施安乐死。从接种后第 2 到第 5 天,每天对一条病毒接种的狗类似地实施安乐死。在接种后第 6 天,对剩下的假接种的和病毒接种的狗实施安乐死。由研究人员 (WLC) 之一进行完全的尸体剖检。将组织用 10% 中性缓冲的福尔马林固定,石蜡包埋,并对 5- μ m 切片用苏木精和伊红染色用于组织病理学诊断或者处理用于如下文所述的免疫组织化学。将未固定的肺组织送到佛罗里达大学兽医学院的诊断临床微生物学 / 寄生虫学 / 血清学处 (Diagnostic Clinical Microbiology/Parasitology/Serology Service) 用于细菌分离和鉴定。在非选择性培养基以及选择博德特氏菌 (*Bordetella*) 种 (Regan-Lowe; Remel, Lenexa, KS) 和支原体 (*Mycoplasma*) 种 (Remel) 的培养基上培养样品。在报告无生长前,所有培养物都保持了 21 天。在病毒学分析之前,未固定的组织也在 -80℃ 保存。

[0344] 免疫组织化学

[0345] 将脱石蜡并再水化的 5- μ m 气管和肺组织切片封固在 Bond-Rite[™] 载玻片 (Richard-Allan Scientific, Kalamazoo, MI) 上并随后用蛋白酶 K (DAKO Cytomation Inc., Carpinteria, CA) 处理,接着用过氧化物酶封闭试剂 (DAKO[®] EnVision[™] Peroxidase Kit, DAKO Corp., Carpinteria, CA) 处理。将切片用抗甲型流感 H3 的单克隆抗体 (Chemicon International, Inc., Temecula, CA) 的 1 : 500 稀释液在室温下温育 2 小时。对照包括用小鼠 IgG (1mg/mL, Serotec, Inc. Raleigh, NC) 温育相同的切片,和使用正常的犬肺切片与单克隆抗体温育。用一级抗体处理后,将切片与二级免疫过氧化物酶和过氧化物酶底物试剂 (DAKO[®] EnVision[™] Peroxidase Kit, DAKO Corp.) 根据生产商的使用说明处理。将切片用苏木精复染,用 Clarifier#2 和 Bluing 试剂 (Richard-Allan Scientific, Kalamazoo, MI) 处理,脱水,并用 Permount (ProSciTech, Queensland, Australia) 盖片。

[0346] 来自拭子和组织的 RNA 提取物

[0347] 将来自每条狗的肺和气管组织解冻并在补充 0.5% 牛血清白蛋白 (BSA) 和抗生素 (庆大霉素和环丙沙星) 的极限必需培养基 (MEM) 中, 使用一次性组织研磨机 (Kendall, Lifeline Medical Inc., Danbury, CT) 匀浆。使用商业试剂盒 (**RNeasy**[®] Mini Kit, QIAGEN Inc., Valencia, CA), 根据生产商的使用说明从组织匀浆以及咽和直肠拭子提取物提取总 RNA 并用最终体积 60 μ L 的缓冲液洗脱。

[0348] 实时 RT-PCR

[0349] 使用 **QuantiTect**[®] Probe RT-PCR 试剂盒 (QIAGEN Inc., Valencia, CA) 和引物-探针组对总的 RNA 进行一步定量实时 RT-PCR, 该试剂盒含有作为被动参照染料的 ROX, 所述引物-探针组靶定甲型流感病毒的基质 (M) 基因的高度保守区 (Payungporn S. et al., 2006a; Payungporn S. et al., 2006b)。对于每次实时 RT-PCR 反应, 向含有 12.5 μ L 2X **QuantiTect**[®] Probe RT-PCR Master Mix, 0.25 μ L **QuantiTect**[®] RT Mix, 正向和反向引物 (每种终浓度 0.4 μ M), 探针 (0.1 μ M 终浓度) 和无 RNA 酶的水的反应混合物中加入 5 μ L 提取的总 RNA, 终体积为 25 μ L。使用 **TaqMan**[®] GAPDHControl Reagents (Applied Biosystems, Foster City, CA) 根据生产商的使用说明检测 GAPDH, 其作为从拭子和组织样品提取的 RNA 存在的内源性内部对照和作为归一化对照。

[0350] 对 **Mx3000P**[®] QPCR 系统 (Stratagene, La Jolla, CA) 中的反应混合物进行定量一步实时 RT-PCR。循环条件包括 50°C 30 分钟的反转录步骤, 95°C 15 分钟以活化 **HotStarTaq**[®] DNA 聚合酶的最初变性步骤, 和 40 个循环的扩增。每个扩增循环包括 94°C 变性 15 秒, 接着 60°C 下退火/延伸 1 分钟。在每个循环结束时记录 FAM (发射波长 518nm) 和 VIC (发射波长 554nm) 荧光信号。通过在每个单独的实验中设置阈值荧光 (dR) 为 1000, 确定阈值循环数 (Ct)。用 **Mx3000P**[®] 版本 2.0 软件程序 (Stratagene, La Jolla, CA) 进行数据采集和分析。阳性对照由从 A/canine/FL/242/03 (H3N8) 病毒提取的 RNA 的扩增组成。对于每个样品, 通过将 M Ct 值除以对应的 GAPDH Ct 值对结果归一化。

[0351] 从组织再次分离病毒

[0352] 解冻来自接种病毒的狗的冷冻的肺和气管组织并在 10 倍体积的补充 0.5% (BSA) 和抗生素的 DMEM 中匀浆。离心除去固体残渣并将上清液接种到在补充 1 μ g/mL TPCK-处理的胰蛋白酶 (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO) 和如上述抗生素的 DMEM 中培养的 MDCK 细胞上。细胞在含有 5% CO₂ 的湿润空气中 37°C 下在 25cm² 瓶中生长。每天观察培养物的形态学改变并在接种后 5 天收获。通过离心澄清收获的培养物并如对于最初接种所述的将上清液接种到新鲜的 MDCM 细胞上; 对通过血细胞凝集或者 RT-PCR 没有显示流感病毒证据的样品进行两次额外的传代。使用 0.5% 火鸡细胞如以前描述 (Crawford et al., 2005) 的测定经澄清的上清液中的血细胞凝集活性。如下述进行 RT-PCR。

[0353] RT-PCR、核苷酸测序和系统进化分析

[0354] 使用 **QIAamp**[®] Viral RNA Mini 试剂盒 (QIAGEN Inc., Valencia, CA) 根据生产商的使用说明从 MDCK 上清液提取病毒 RNA。使用 **QIAGEN**[®] OneStep RT-PCR 试剂盒 (QIAGEN Inc., Valencia, CA) 根据生产商的使用说明将病毒 RNA 反转录成 cDNA。如以

前描述的 (Crawford et al., 2005), 使用通用的基因特异性引物组 (根据请求可以得到引物序列) 进行 cDNA 中 8 种流感病毒基因的编码区的 PCR 扩增。所得的 DNA 扩增子用作 ABI **PRISM**[®] 3100 自动化 DNA 测序仪中自动化测序的模板, 使用循环测序染料终止化学 (Applied Biosystems, Foster City, CA)。使用 Lasergene 6 **Package**[®] (DNASTAR, Inc., Madison, WI) 分析核苷酸序列。将从受感染的狗回收的病毒的核苷酸序列与接种物中病毒的序列比较以确定在呼吸道中复制期间是否已经发生了改变。

[0355] 实施例 12- 临床疾病

[0356] 所有 6 条接种病毒的狗在接种后前 2 天都产生了暂时发热 (直肠温度 $\geq 39^{\circ}\text{C}$), 但是没有一只在 6 天的观察期内显示出呼吸系统病征如咳嗽或者鼻涕。假接种的狗保持临床上健康。

[0357] 实施例 13- 病毒脱落

[0358] 对接种后 24 小时从一条接种病毒的狗收集的口咽拭子检测甲型流感核蛋白。通过定量实时 RT-PCR, 在接种后 72、84 和 120 小时从一条狗和接种后 108、120 和 132 小时从另一条狗收集的口咽拭子是病毒阳性的 (表 11)。每 μL 拭子提取物中流感 M 基因拷贝的绝对数目从接种后第 3 天到第 6 天随时间增加。在直肠拭子中没有检测到病毒。

[0359] 实施例 14- 尸体剖检

[0360] 与以前使用特定无病原体的小猎兔犬的实验感染 (Crawford et al., 2005) 相比, 接种病毒的杂种狗患有肺炎, 如通过来自接种后 1 到 6 天的肺的总体的和组织学分析所证明。除了肺炎外, 狗还患有类似于自然感染的狗中所描述的鼻炎、气管炎、支气管炎和细支气管炎 (Crawford et al., 2005)。在呼吸道和支气管腺层中存在上皮坏死和糜烂, 在粘膜下层组织中有嗜酸性粒细胞和巨噬细胞浸润 (图 5, 上图)。免疫组织化学在支气管、细支气管和支气管腺的上皮细胞中检测到病毒 H3 抗原 (图 5, 下图)。不存在细菌超感染。来自 2 条假接种的狗的呼吸系统组织是正常的。

[0361] 实施例 15- 气管和肺中的病毒复制

[0362] 通过定量实时 RT-PCR, 从接种后第 1 天到第 6 天, 所有狗中的气管和肺都是病毒阳性的 (表 12)。每 μL 气管匀浆的流感 M 基因拷贝的绝对数目从接种后第 1 天到第 5 天增加, 然后在第 6 天下降。每 μL 肺匀浆的 M 基因拷贝的绝对数目从接种后第 1 天到第 6 天下降。通常, 在接种后 6 天的每天, 气管含有比肺多 $\geq 1 \log_{10}$ 的病毒。

[0363]

表 11. 通过定量实时 RT-PCR 检测用犬流感病毒接种的杂种狗的口咽中的病毒脱落

狗 ID	接种后时间 (小时) ^a	M/GAPDH 比 ^b	基质基因 (拷贝 / μ L) ^c
860	72	1.20	1.57E+02
	84	1.30	8.25E+02
	120	1.23	1.47E+03
894	108	1.17	1.17E+02
	120	1.41	1.37E+02
	132	1.27	3.74E+02

[0364] ^a 用 A/canine/FL/43/04 (H3N8) 病毒接种后从狗收集口咽拭子的时间。

[0365] ^b 通过将 M(Ct) 除以每个拭子提取物的 GAPDH(Ct) 计算归一化比。

[0366] ^c 每 μ L 拭子提取物的基质基因拷贝的绝对数目。

[0367]

表 12. 通过定量实时 RT-PCR 检测用犬流感病毒接种的杂种狗的气管和肺中病毒复制

狗 ID	接种后时间 (小时) ^a	M/GAPDH 比 ^b		基质基因(拷贝 / μ L) ^c	
		肺	气管	肺	气管
797	24	1.20	1.43	8.22E+05	3.11E+04
801	48	1.33	0.99	1.15E+05	6.52E+06
789	72	1.44	1.12	2.39E+04	1.56E+05
819	96	1.40	1.27	3.19E+04	1.43E+05
860	120	1.59	1.04	3.48E+03	1.17E+06
894	144	1.70	1.15	4.78E+02	1.50E+03

[0369] ^a 用 A/canine/FL/43/04 (H3N8) 病毒接种后从狗收集组织的时间。

[0370] ^b 通过将 M(Ct) 除以每个组织匀浆的 GAPDH(Ct) 计算归一化比。

[0371] ^c 每 μ L 组织匀浆的基质基因拷贝的绝对数目。

[0372] 实施例 16 的材料和实施例方法

[0373] 病毒毒株

[0374] 在含胚的卵或者 MDCK 细胞中增殖犬流感病毒毒株以及鸟、马和人来源的那些流感病毒毒株(表 15 中所列),并通过鸡胚中的终点稀释或者噬斑测定法滴定它们的感染力。使用火鸡血红细胞通过血细胞凝集测定法进行快速病毒定量。

[0375] 诊断样品

[0376] 对 2005 年期间病毒呼吸系统疾病的疑似病例收集的共 60 条犬的肺组织测试犬流感病毒的存在。

[0377] 从犬组织样品提取 RNA

[0378] 将重量为 20 到 30mg 的肺组织块在一次性组织研磨机(Kendal)中匀浆。按照生产商的推荐,使用商业试剂盒(RNeasy Mini Kit, Qiagen, Valencia, CA)提取总 RNA 并用终体积 60 μ L 稀释。

[0379] 引物和探针设计

[0380] 使用 CLUSTAL X 程序(版本 1.8)进行来自多种亚型和来自多种物种的 H3 和 M 基因的多序列比对。从对应于甲型流感病毒的不同亚型的已知序列的保守区选择基质(M)引物和探针,而选择 H3 血凝素基因特异引物和探针组以特别匹配马和犬甲型流感病毒基因和错配同源的鸟和人基因(表 13)。用引物设计软件(OLIGOS 版本 9.1)和 EXIQON(<http://lnatools.com>)提供的基于网络的分析工具进行 Tm 计算和预测二级结构以及自身杂交。18S rRNA 基因的保守区用作从犬组织样品的提取的 RNA 的存在的内源性内部对照。Pre-Developed TaqMan[®] Assay Reagents for Eukaryotic 18SrRNA(VIC/TAMRA)(Applied Biosystems)用于实时检测组织样品中的 18S rRNA。

[0381] 实时 RT-PCR 条件

[0382] 通过使用含有作为被动参照染料的 ROX 的 Quantitect Probe RT-PCR 试剂盒(Qiagen, Valencia, CA)进行一步实时 RT-PCR。在每次实时 RT-PCR 反应中,5 μ L RNA 样品用作模板与反应混合物组合,所述反应混合物含有 10 μ L 2X QuantiTech Probe RT-PCR Master Mix,0.2 μ L QuantiTech RT Mix,引物(0.4 μ M 终浓度的 H3 基因或者 0.6 μ M 终浓度的 M 基因),探针(0.1 μ M 终浓度的 H3 基因或者 0.2 μ M 终浓度的 M 基因)和无 RNA 酶的水,最终体积为 20 μ L。在 Mx3005P Real-Time QPCR 系统(Stratagene)中进行一步实时 RT-PCR。循环条件包括 50 $^{\circ}$ C 30 分钟的反转录步骤。95 $^{\circ}$ C 15 分钟以便活化 HotStarTaq DNA 聚合酶的初步变性步骤后,在 40 个循环中进行扩增,每个循环包括变性(94 $^{\circ}$ C 15 秒)和退火/延伸(60 $^{\circ}$ C 30 秒)。在每个循环延伸步骤结束时得到 FAM(发射波长 516nm,用于 H3 和 M 检测)和 VIC(发射波长 555nm,用于 18S rRNA 检测)荧光信号一次。使用 Mx3005P 软件版本 2.02(Stratagene)进行实时 PCR 测定的数据采集和分析。

[0383] H3 引物/探针组对于犬流感(H3N8)的特异性和 M 引物/探针组对于甲型流感病毒的通用性

[0384] 为了测试每种引物/探针组的特异性,从甲型流感病毒的几种已知的亚型提取的 RNA 用作实时 RT-PCR 测定中的模板(表 15)。

[0385] 用于确定实时 RT-PCR 性能的 RNA 标准

[0386] 通过使用与 T7 启动子连接的引物,用犬甲型流感病毒(A/canine/Florida/242/2003(H3N8))的基因产生 H3(nt 1-487)和 M(nt1-276)的 PCR 扩增子(表 13)。然后通过使用 Riboprobe 体外转录系统-T7(Promega),按照生产商的推荐,将 H3 和

M 基因的纯化的 PCR 扩增子用作体外转录的模板。通过测量 260nm 的吸光度计算所转录的 RNA 的浓度。然后将 RNA 连续稀释 10 倍,从 10^8 到 10 个拷贝 / μL 以进行灵敏度测试。此外,通过将最初的 RNA 模板浓度 (拷贝 / μL) 的对数对为每次稀释得到的阈值循环数 (Ct) 作图产生标准曲线,以便确定实时 RT-PCR 的总体性能。

[0387] 实时 RT-PCR 和 Directigen Flu A 测试试剂盒之间的比较灵敏度测试

[0388] 将包括 $10^{6.67}$ EID₅₀/mL (HA = 64) 的 A/Wyoming/3/2003 (H3N2) 和 $10^{7.17}$ EID₅₀/mL (HA = 16) 的 A/canine/Florida/242/2003 (H3N8) 的两种病毒毒株的原种病毒用于检测阈值测定法。按照生产商的使用说明,在快速甲型流感病毒抗原检测试剂盒 Directigen Flu A, (Becton, Dickinson and Company) 中使用磷酸缓冲盐水 (PBS) (125 μL) 中样品的对数稀释度。每个 Directigen Flu A 测试装置在膜中央具有一个 H1N1 流感抗原点,其显影为紫色点并且指出该测试的完整性,该测试是基于抗核蛋白 (NP) 的单克隆抗体。在所述点周围紫色三角形的显影表明在测试的样品中存在流感 NP。将来自三角形的紫色信号的强度打分为 +(三角形轮廓), ++ (浅色三角形), +++ (深紫色三角形) 和 ++++ (极深紫色三角形)。使用 QIAamp Viral RNA Mini 试剂盒 (Qiagen, Valencia, CA) 从每种病毒稀释液的 125 μL 等分试样提取病毒 RNA 并以最终体积 50 μL 稀释。通过实时 RT-PCR 测试 5 μL 体积提取的病毒 RNA 用于与 Directigen Flu A 试剂盒的比较灵敏度测试。

[0389] 实施例 16

[0390] 犬流感病毒的实时 RT-PCR 测定依赖于来自三种分子探针的信息,所述探针靶定来自宿主细胞的 18S rRNA 以及来自甲型流感病毒基因组的 M 和 H3 (表 14)。宿主基因的扩增报告样品质量和完整性。预期含有犬流感 (H3N8) 病毒的临床的、尸体剖检或实验室样品用三种探针产生扩增信号。用 M 和 18S rRNA 探针产生扩增信号但是对于 H3 阴性的样品将表明来自人、猪或者鸟来源的流感病毒亚型 H3 或者来自非 H3 亚型的流感病毒。这些罕见的情况可以通过 RT-PCR 解决,其使用 HA 通用引物以产生扩增子 cDNA,可以通过测序分析所述 cDNA。适当收集和处理的缺少甲型流感病毒的样品仅仅产生 18S rRNA 扩增信号。仅仅 18S rRNA 探针和 H3 探针产生扩增信号的情况表明有缺点的技术,除非证明相反;需要阐明使用 M 探针的假阴性或者对于 H3 的假阳性。最后,用这三种探针不能产生扩增信号的样品表明有缺陷的样品收集、降解、错误的 RNA 提取或者存在 PCR 中使用的聚合酶的抑制剂。

[0391] 为了测试犬甲型流感病毒 (H3N8) 的 H3 引物 / 探针组的特异性和甲型流感的 M 引物 / 探针组的通用性,通过实时 RT-PCR 测试甲型流感病毒的几种亚型。结果表明 H3 引物 / 探针组仅仅用犬流感 (H3N8) 产生阳性扩增信号。在其他亚型或者人 H3 毒株中没有观察到显著的假阳性或者非特异性扩增信号。M 引物 / 探针组对测试的所有毒株产生了阳性扩增信号 (表 15)。这些结果表明 H3 引物 / 探针特异检测犬甲型流感病毒 (H3N8),而 M 引物 / 探针检测甲型流感病毒的多种亚型。

[0392] 通过 M 和 H3 体外转录的 RNA 的终点稀释评估实时 RT-PCR 测定法的性能。如所预期的,阈值循环数 (Ct) 与 RNA 标准品的稀释度以正相关增加。可以在 M 和 H3 的分别低至 10^3 和 10^2 个拷贝 / μL 的 RNA 标准品稀释度下检测到荧光信号 (图 6A 和 6B)。通过将起始 RNA 浓度的对数对从每个稀释度得到的阈值循环数 (Ct) 作图,构建 M 和 H3 基因的标准曲线 (图 6C 和 6D)。用标准曲线的斜率确定 PCR 反应效率,其在理论上是指数的;100% 扩增效率将意味着每个循环的扩增子浓度的加倍。具有约 -3.1 到 -3.6 之间斜率的标准曲线通

常适于多数需要准确定量的应用 (90-110% 反应效率)。Rs_q 值是所有数据对标准曲线图的拟合。如果所有数据都精确地位于曲线上, 那么 Rs_q 将为 1.00。随着数据从该曲线进一步下降, Rs_q 降低。Rs_q ≥ 0.985 是多数测定法可接受的。M 标准曲线揭示了 -3.576 的斜率 (效率 = 90.4%) 和 Rs_q = 1.00, 而 H3 标准曲线产生了 -3.423 的斜率 (效率 = 95.9%) 和 Rs_q = 0.999。这些值表明实时 RT-PCR 测定法的满意的扩增效率和总体性能。我们将 M 引物 / 探针组与 H3 引物 / 探针组相比较低的效率和灵敏度规因于 M 引物序列的 N 倍简并性, 需要该简并性来确保 M 基因序列变异性在多种亚型、宿主和谱系的病毒之间的宽覆盖度。

[0393] 还将实时 RT-PCR 测定法的灵敏度与商业的快速抗原检测测定法 (Directigen Flu A) 相比较。用 Directigen Flu A 和通过实时 RT-PCR 分析了 A/Wyoming/3/2003 (H3N2) 和 A/canine/Florida/242/2003 (H3N8) 的对数稀释度。Directigen Flu A 的结果表明对两种病毒毒株的灵敏度为用于这些实验的原种病毒的约 100 倍稀释度 (图 7)。犬病毒 (A/canine/Florida/242/2003:10^{6.5} PFU/ml) 样品产生的信号 (紫色) 比在人病毒 (A/Wyoming/3/2003:10^{7.5} PFU/ml) 中发现的弱得多, 与这些样品中较低的病毒浓度相一致。备选地, 犬流感的较低信号可以规因于单克隆抗体对 NP 的分子特异性; 即在犬甲型流感病毒的 NP 表位中氨基酸的保守性很差。

[0394] A/canine/Florida/242/2003 和 A/Wyoming/3/2003 的每次反应分别使用病毒 10 和 30PFU 当量, M 基因的实时 RT-PCR 产生了高于阈值的 Ct 值 (表 16)。两种病毒毒株的灵敏度值的差异是因为最初的病毒效价的不同。没有进行犬和人流感病毒之间的 H3 基因检测比较, 是因为我们的实时 RT-PCR 测定中的 H3 引物 / 探针唯一地扩增犬甲型流感病毒。RT-PCR 比快速抗原检测试剂盒灵敏 10⁵ 倍。

[0395] 为了评估 RT-PCR 测试在来自患有急性呼吸系统疾病的狗的尸体剖检样品中的性能, 通过实时 RT-PCR 测试了在 2005 年送交的 60 个犬肺组织样品中犬甲型流感病毒的存在。60 个样品中总共 12 个 (20%) 对于 M 和 H3 基因是阳性的, 而剩下的 48 个样品对于 M 和 H3 基因都产生了阴性结果。通过蛋和 MDCK 细胞接种进行病毒分离尝试, 以评估实时测定法的特异性; 根据 RT-PCR, 12 个样品中对犬流感阳性的两个样品产生了犬流感病毒 (数据未显示, 手稿准备中)。尽管所有组织都从具有严重呼吸系统疾病史的狗中收集, 但是通过实时 PCR 或者常规分离, 多数样品都没有产生犬流感病毒, 提示其他呼吸系统病原体如支气管博德特氏菌 (*Bordetella bronchiseptica*)、犬瘟热或者副流感病毒的高发生率。本文的一步实时 RT-PCR 测定法提供了犬甲型流感病毒 (H3N8) 检测的快速、灵敏和划算的方法。该疾病的早期中, 犬甲型流感病毒 (H3N8) 感染的快速实验室诊断可以得到与临床患者和设施管理相关的信息。

[0396]

表 13: 用于实时 RT-PCR 检测和体外转录的引物和探针

Oligo 名称	类型	靶标	序列 *	应用
Ca-H3-F387	正向引物	H3 (nt 387-406)	5'-taigcagctcgcgcatcat-3' (SEQ ID NO: 79)	实时 PCR
Ca-H3-R487	反向引物	H3 (nt 487-467)	5'-gctccactcttcctgtttga-3' (SEQ ID NO: 80)	
Ca-H3-P430	TaqMan 探针	H3 (nt 430-459)	FAM-aattcacagcagaggattcacatggacag-BHQ1 (SEQ ID NO: 81)	
FluA-M-F151	正向引物	M (nt 151-174)	5'-catggartggctaaagacaagacc-3' (SEQ ID NO: 82)	实时 PCR
FluA-M-R276	反向引物	M (nt 276-253)	5'-agggcatttggacaaakcgicta-3' (SEQ ID NO: 83)	
FluA-M-P218	LNA TaqMan 探针	M (nt 218-235)	FAM-acgcTcaecgTgccAgt-BHQ1 (SEQ ID NO: 84)	
H3-F1	正向引物	H3 (nt 1-14)	5'-tattgctcaggaggcaaaagcagggg-3' (SEQ ID NO: 85)	体外转录
T7/H3-R490	反向引物	T7 / H3 (nt 487-467)	5'-tgtaatacgaactcactataggggctccactcttcctgtttga-3' (SEQ ID NO: 86)	
M-F1	正向引物	M (nt 1-15)	5'-gategctcttcaggaggcaaaagcaggtag-3' (SEQ ID NO: 87)	体外转录
T7/M-R276	反向引物	M (nt 276-253)	5'-tgtaatacgaactcactataggggcatttggacaaagcgtc-3' (SEQ ID NO: 88)	

* 注释: 大写 = LNA (锁定核酸) 残基, r = a 或 g, k = g 或 t, 下划线 = T7 启动子序列

表 14:实时 RT-PCR 测定法的解释

解释	结果		
	M	H3	18S rRNA
犬甲型流感病毒(H3N8)阳性	+	+	+
甲型流感病毒(未知亚型)阳性	+	-	+
甲型流感病毒阴性	-	-	+
RNA 提取错误或存在 PCR 抑制剂	-	-	-

[0398]

表 15:用甲型流感病毒的几种亚型对犬 H3 引物/探针组的特异性测试和 M 引物/探针组的通用性测试

亚型	毒株名称	宿主	实时 RT-PCR 检测	
			H3 基因 (Ct)	M 基因 (Ct)
H1	A/Ohio/1983	人	无 Ct	15.40
	A/WSN/1933	人	无 Ct	20.09
H3	A/Wyoming/3/2003	人	无 Ct	28.85
	A/Victoria/3/1975	人	无 Ct	16.62
	A/canine/FL/242/2003	犬	28.43	29.25
H4	Turkey/MN/1066/1980	鸟	无 Ct	17.49
	临床样品*	鸟	无 Ct	20.87
H5	AChicken/Thailand/CUK2/2004	鸟	无 Ct	20.13
	A/Pheasant/NJ/1335/1998	鸟	无 Ct	16.64
H6	临床样品*	鸟	无 Ct	19.52
H10	临床样品*	鸟	无 Ct	25.64

[0399]

	临床样品*	鸟	无 Ct	19.59
	临床样品*	鸟	无 Ct	15.72
H11	临床样品*	鸟	无 Ct	24.55

[0400] *注意通过核苷酸测序证实临床样品的亚型。

[0401]

表 16: 实时 RT-PCR 和 Directigen Flu A 之间对甲型流感病毒检测的
比较灵敏度测试

病毒稀释度	Directigen Flu A		M (Ct)的实时 RT-PCR	
	A/canine/242/03	A/Wyoming/3/03	A/canine/242/03	A/Wyoming/3/2003
10 ⁻¹	++	++++	22.42	19.48
10 ⁻²	+	+++	25.85	22.66
10 ⁻³	-	-	29.27	25.76
10 ⁻⁴	未做	未做	32.66	28.66
10 ⁻⁵	未做	未做	35.48	33.14
10 ⁻⁶	未做	未做	37.51	35.06
10 ⁻⁷	未做	未做	39.09	36.44
10 ⁻⁸	未做	未做	无 Ct	38.93

[0402]

表 17.

氨基酸类型	氨基酸的例子
非极性的	Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Met, Phe, Trp
不带电极性的	Gly, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn, Gln
酸性的	Asp, Glu
碱性的	Lys, Arg, His

[0403]

表 18.

字母符号	氨基酸	字母符号	氨基酸
A	丙氨酸	M	甲硫氨酸
B	天冬酰胺或天冬氨酸	N	天冬酰胺
C	半胱氨酸	P	脯氨酸
D	天冬氨酸	Q	谷氨酰胺
E	谷氨酸	R	精氨酸
F	苯丙氨酸	S	丝氨酸
G	甘氨酸	T	苏氨酸
H	组氨酸	V	缬氨酸
I	异亮氨酸	W	色氨酸
K	赖氨酸	Y	酪氨酸
L	亮氨酸	Z	谷氨酰胺或谷氨酸

[0404]

表 19. H3N8 马和犬流感病毒的 PB2 蛋白质之间的氨基酸差异

位置	马共有的 *	Canine/FL/03	Canine/FL/04
5	K	K	E
12	S	L	L
37	G	G	E
175	R	R	I
374	L	I	I
375	R	R	K
447	Q	Q	H

[0405]

表 20. H3N8 马和犬流感病毒的 PB1 蛋白质之间的氨基酸差异

位置	马共有的*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
114	V	I	I
154	D	G	G
221	A	T	T
317	M	I	I
459	I	I	V
682	I	I	V

[0406]

表 21. H3N8 马和犬流感病毒的 PA 蛋白质之间的氨基酸差异

位置	马共有的*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
27	D	N	N
62	I	V	V
213	R	K	K
337	A	T	T
343	A	E	E
345	L	I	I
353	K	R	R
400	T	T	A
450	V	I	I
460	M	M	I
673	R	R	K
675	N	D	D

[0407] *基于 1963 和 1998 年间分离的病毒的可利用的基因。

[0408]

表 22. H3N8 马和犬流感病毒的 NP 蛋白质之间的氨基酸差异

位置	马共有的*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
16	G	D	D
157	A	T	T
214	R	R	K
285	V	V	I
286	A	T	T
359	A	T	T
375	D	D	N
384	R	K	K
452	R	K	K

[0409]

表 23. H3N8 马和犬流感病毒的 NA 蛋白质之间的氨基酸差异			
位置	马共有的*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
9	A/T	T	A
12	S	F	F
20	L	I	I
40	G	R	R
42	G	D	D
46	N	K	K
52	E	E	K
61	R	K	K
69	N	S	S
72	E	K	K
201	V	I	I
261	I	V	V
301	I	I	V
396	N	D	D
397	L	P	P

[0410]

表 24. H3N8 马和犬流感病毒的 M1 蛋白质之间的氨基酸差异			
位置	马共有的*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
M1 161	S	S	A
M1 208	K/Q	R	R

[0411] *基于 1963 和 1998 年间分离的病毒的可利用的基因。

[0412]

表 25. H3N8 马和犬流感病毒的 NS1 蛋白质之间的氨基酸差异

位置	马共有的*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
44	K	R	R
59	R	H	H
71	E	K	K
86	A	T	T
88	R	R	L
140	R	G	G
216	P	S	S

[0413] *基于 1963 和 1998 年间分离的病毒的可利用的基因。

[0414] 实施例 17- 犬科动物流感攻击模型开发

[0415] 观察到从 Florida 的流感爆发分离的犬科动物流感（犬科动物流感）病毒是 H3N8 型流感病毒，并且与马流感病毒毒株 A/equine/Ohio/03 非常接近（Crawford et al., SCIENCE Vol. 309, 2005 年 9 月，将其完整引入本专利作为参考）。在本研究中研究了使用马流感病毒毒株 A/equine/Ohio/03 在狗中诱导流感样疾病的潜力。

[0416] 步骤：

[0417] 从供应商得到 13 周龄的混合性别的小猎犬，并圈在 BSL-2 设施中的各个笼子中。将狗随机分配成两组，每组 5 只狗。如表 26 所示，将一组进行气管内攻击，另一组进行口鼻攻击。在 14 周龄时对狗进行攻击。

[0418]

表 26: 实验设计

组	狗数目	攻击途径
1	5	气管内
2	5	口鼻

[0419] 将细胞培养生长的马流感病毒 A/equine/Ohio/03 用作攻击病毒。对于气管内攻击，通过递送试管施用攻击病毒，该试管由具有胶管管头的气管导管（大小 4.0/4.5, Sheridan, USA）和饲管（大小 5Fr, 1.7mm, /16 英寸长, Kendall, USA）组成，体积为 0.5 到 1.0ml。对于口鼻攻击，使用雾化器（**DeVilbiss Ultra-Neb®99** 超声雾化器, Sunrise Medical, USA）以 2 到 3ml 的体积以喷雾施用攻击病毒（每只狗 $10^{7.0}$ 到 $10^{8.0}$ TCID₅₀）。

[0420] 攻击后观察狗的流感相关临床病征 14 天。在第 0 天（攻击前）、和攻击后第 7 天和 14 天从每只狗收集血清样品用于用 H3N8 马流感病毒以标准方案（SAM 124, CVB, USDA, Ames, IA）测定 HI 效价。将所有狗实施人道的安乐死并用 10% 缓冲的福尔马林收集肺组织

用于组织病理学评估。

[0421] 结果：

[0422] 该实验的结果在表 27 中总结。攻击后在几只狗中观察到流感相关的临床病征。这些病征包括发热 ($> 103^{\circ}\text{F}$; $> 39.4^{\circ}\text{C}$) 和咳嗽。在组 1 中 5 只狗中的 2 只 (即 40%) 发热 ($> 103^{\circ}\text{F}$; $> 39.4^{\circ}\text{C}$)，相比组 2 中为 5 只狗中的 1 只 (即, 20%)。来自口鼻攻击组的一只狗打喷嚏, 另一种在攻击后咳嗽。为组 1 观察到 HI 效价为 10 到 80, 几何平均效价 (GMT) 为 20。为组 2 观察到效价范围为 40 到 160, GMT 为 86。每组的一只狗具有与流感相容或其特有的组织病理损伤。

[0423]

表 27. 犬科动物流感攻击—临床病征、病毒分离、组织病理学结果和血清学结果									
狗* ID	攻击方 法*	临床病 征	病毒分离			显微损伤 (组织病理 学)	血清学 (HI 效价)		
			鼻 / 口 拭子	气 管 刮片	肺 组 织		攻 击 前	攻 击 后 7 天	攻击后 14 天
AAH	气管内	无	阴性	阴性	阴性	阴性	10	10	20
ADB	气管内	无	阴性	阴性	阴性	阴性	10	80	20
ADC	气管内	发热*	阴性	阴性	阴性	阴性	10	20	20
AEB	气管内	发热	阴性	阴性	阴性	阳性	10	40	20
AEE	气管内	无	阴性	阴性	阴性	不确定	10	20	10
AAE	口鼻的	无	阴性	阴性	阴性	阴性	10	80	80
AAG	口鼻的	无	阴性	阴性	阴性	阴性	10	40	80
ABY	口鼻的	偶尔打 喷嚏, 偶尔咳 嗽	阴性	阴性	阴性	阳性	10	80	160
ADY	口鼻的	发热, 偶尔打 喷嚏	阴性	阴性	阴性	阴性	10	80	80
ADZ	口鼻的	无	阴性	阴性	阴性	阴性	10	80	160

* 用马流感隔离群 Ohio 03 攻击动物。

**直肠温度 $\geq 103^{\circ}\text{F}$; $\geq 39.4^{\circ}\text{C}$

[0424] 实施例 18- 马流感病毒疫苗对狗的功效

[0425] 观察到从 Florida 的流感爆发分离的犬科动物流感是 H3N8 型流感病毒, 并且基于序列相似性与马流感病毒 A/equine/Ohio/03 非常接近。进行下面的研究以确定实验灭活的马流感病毒疫苗的功效。

[0426] 步骤：

[0427] 从供应商得到 9 只 7 周龄的混合性别的小猎犬, 并圈在 BSL-2 设施的各个笼子中。将这些狗随机分成两组, 如表 28 概述：

[0428]

表 28:实验设计

组	狗数目	处理
1	5	疫苗
2	4	对照

[0429] 第一组由 5 只狗组成,在 8 和 12 周龄时用皮下 (SQ) 途径对它们用灭活的 CARBIGEN™ 佐剂化的马流感病毒 A/equine/Ohio/03 疫苗接种。使用标准方法通过二元氮丙啶 (" BEI ") 灭活 A/equine/Ohio/03。每剂疫苗含有按重量计 5% 的 CARBIGEN™、4096 HA 单位灭活病毒、足够的 PBS 以使得剂量的总体积为 1ml,并用足够的 NaOH 调节 pH 到 7.2 和 7.4 之间。在第一次和第二次接种当天和第一次和第二次接种后 7 和 14 天和在攻击前从所有狗收集血清样品,用于测定 HI 效价,该测定使用 H3N8 马流感病毒和标准方案 (SAM 124, CVB, USDA, Ames, IA)。在第二次接种后 3 周时,用细胞培养生长的马流感病毒 A/equine/Ohio/03 (每只狗 $10^{7.0}$ 到 $10^{8.0}$ TCID₅₀) 以每剂 1-2ml 体积经口鼻攻击 5 只接种的狗和由 4 只年龄匹配的狗组成的第二组 (即,对照组)。将攻击病毒用雾化器 (DeVilbiss **Ultra-Neb®99** 超声雾化器, Sunrise Medical, USA) 以喷雾施用于狗。在攻击后 14 天观察狗的流感相关的临床病征。将攻击后 7 天的 5 只狗 (3 只接种, 2 只对照) 和攻击后 14 天的 4 只狗 (2 只对照和 2 只接种) 实施人道 的安乐死用于用 10% 缓冲的福尔马林收集肺组织用于组织病理学评估。

[0430] 结果 :

[0431] 该实验的结果在表 29 和 30 中概述。所有接种的狗在接种后发生血清转变。在用马流感病毒 A/equine/Ohio/03 进行的接种后期间内观察到 HI 效价范围为 40 到 640, GMT 为 129。使用犬科动物流感隔离群 A/canine/Florida/242/03 观察到 HI 效价为 160 到 320, 几何平均效价为 211。6 只接种狗的两只在 1 天内具有 $> 103^{\circ} F (> 39.4^{\circ} C)$ 的发热,在攻击后的任何狗中没有观察到其他临床病征。

[0432] 结论 :

[0433] 所有接种的狗都应答灭活的 CARBIGEN™ 佐剂化的马流感疫苗。使用犬科动物流感病毒隔离群的 HI 效价提示灭活的马流感疫苗诱导了对犬科动物流感病毒的可检测水平的交叉反应抗体。尽管基于犬科动物流感病毒隔离群的 HI 效价,用于该实验的攻击病毒在小猎犬狗中没有诱导任何可注意到的临床疾病,但是断定灭活的马疫苗可以用于在狗中诱导交叉反应抗体,其可以潜在保护狗抵抗 H3N8 型犬科动物流感病毒引起的“犬科动物流感”病。

[0434]

表 29. 血清学 - 接种前和接种后和攻击后 HI 效价												
狗*	组	HI 效价										
		接种前	第一次接种后		第二次接种后			攻击后*				
			7-d	14-d	7-d	14-d	21-d	7-d	14-d	14-d		
AKT	接种**	<10	40	80	640	640	640	320	320	320	320	
ALH	接种**	<10	40	80	320	160	160	80	80	***	***	
ALU	接种**	<10	40	80	320	160	160	80	80	80	80	
ANJ	接种**	<10	40	80	320	160	80	320	320	***	***	
ANU	接种**	<10	40	80	320	160	80	320	160	***	***	
AJW	对照	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	10	***	***	
AKR	对照	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	10	***	***	
ALZ	对照	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	20	20	20	
ARC	对照	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	10	10	10	

* 用马流感隔离群 Ohio 03 攻击动物

** CARBIGEN™ 佐剂化的灭活的马流感病毒 Ohio 03 疫苗用于接种

*** 攻击后 7 天安乐死

[0435]

表 30. 犬科动物流感攻击* – 临床病征、病毒分离、病理组织学结果

狗 ID	处理组	临床病征	病毒分离			显微损伤 (病理组织学)
			鼻拭子	气管刮片	肺组织	
AKT	接种**	无	阴性	阴性	阴性	阴性
ALH	接种**	无	阴性	阴性	阴性	阴性
ALU	接种**	无	阴性	阴性	阴性	阴性
ANJ	接种**	无	阴性	阴性	阴性	阴性
ANU	接种**	无	阴性	阴性	阴性	阴性
AJW	对照	无	阴性	阴性	阴性	阴性
AKR	对照	无	阴性	阴性	阴性	阴性
ALZ	对照	无	阴性	阴性	阴性	阴性
ARC	对照	无	阴性	阴性	阴性	阴性

[0436] *用马流感隔离群 Ohio 03 攻击动物

[0437] ** CARBIGEN™ 佐剂化的马流感病毒 Ohio 03 疫苗用于接种

[0438] 实施例 19- 马流感病毒疫苗对狗的功效

[0439] 从 Florida 流感爆发分离的犬科动物流感病毒经表征与许多 H3N8 型马流感病毒隔离群密切相关。通过 DNA 和氨基酸相似性分析,表明该犬科动物流感病毒与马流感病毒 A/equine/Ohio/03 非常相似。在狗中进行下面的研究以确定通过商业途径可获得的马流感疫苗在狗中的功效。

[0440] 步骤:

[0441] 月龄时通过皮下 (SQ) 途径用可商购的灭活的佐剂化马流感疫苗 (EQUICINE™ Intervet Inc., Millsboro, DE) 接种。组 2 和 5 中的狗通过鼻内途径 (单鼻孔) 用 1ml 体积的修饰的活的 equine/Kentucky/91 流感疫苗接种。在接种当天、第一次接种后 (组 1、2、4 和 5) 和第二次接种后 (组 1 和 4) 7 和 14 天收集血样,用于用 H3N8 马流感病毒和犬科动物流感病毒,按照标准方案 (SAM 124, CVB, USDA, Ames, IA) 测定 HI 效价。

[0442] 用细胞培养生长的马流感病毒毒株 A/equine/Ohio/03 (每只狗 $10^{7.0}$ 到 $10^{8.0}$ TCID₅₀) 以 1-2ml 体积经口鼻攻击接种的狗 (最后接种后 72 天) 和对照。将攻击病毒用雾化器 (DeVilbiss Ultra-Neb®99 超声波雾化器, Sunrise Medical, USA) 作为喷雾施用于狗。攻击后观察狗的流感相关的临床病征 12 天。从攻击后 -1 到 12 天每天用含有抗生

素（新霉素和多粘菌素 B）的 Earl's MEM 培养基收集鼻和口咽拭子用于病毒分离。拭子中病毒的存在表明动物在鼻 / 口分泌物中分泌病毒。在攻击后 12 天对所有狗实施人道安乐死并用 10% 缓冲的福尔马林收集肺组织用于组织病理学评估。

[0443]

表 31. 实验设计					
组	狗数目	品种	处理	剂量数目	接种途径
1	7	小猎犬	EQUICINE II™**	2	皮下
2	7	小猎犬	A/KY/91***	1	鼻内
3	6	小猎犬	对照	N/A*	N/A*
4	7	杂种狗	EQUICINE II™	2	皮下
5	7	杂种狗	A/KY/91	1	鼻内
6	6	杂种狗	对照	N/A*	N/A*

[0444] * 不适用

[0445] ** EQUICINE II™ 由 Intervet Inc. 作为液体疫苗上市。EQUICINE II™ 含有灭活的 A/Pennsylvania/63 流感（或“ A/Pa/63”）病毒和 A/equine/Kentucky/93 流感（或“ A/KY/93”）病毒与卡波姆（即，HAVLOGEN® (Intervet Inc.))。更具体地，一剂 EQUICINE II™ 含有： $10^{6.0} \text{EID}_{50}$ 的灭活的 A/Pa/63， $10^{6.7} \text{EID}_{50}$ 灭活的 A/KY/93，0.25% 体积的卡波姆，和足够的 PBS 以产生总体积 1ml。

[0446] *** A/KY/91 是冻干的疫苗，其用水重构。这种重构用足够使疫苗剂量达到 1ml 总体积的疫苗级水进行。该疫苗含有 equine/Kentucky/91 流感（或“ A/KY/91”）病毒，并且在例如美国专利号 6,436,408；6,398,774；和 6,177,082 中讨论，将其完整引入本专利作为参考。当重构时，一剂疫苗含有每 ml $10^{7.2} \text{TCID}_{50}$ 的 A/KY/91，每 ml 0.015 克 N-Z AMINE AS™，每 ml 0.0025 克明胶，和每 ml 0.04 克 D 乳糖。N-Z AMINE AS™ 是通过酪蛋白的酶促水解产生的氨基酸和肽的精炼来源。N-Z AMINE AS™ 由 KerryBio-Science (Norwich, NY, USA) 上市。

[0447] 结果：

[0448] 所有接种的狗在接种后都发生血清转变，并且使用马流感病毒 (H3N8 型)，HI 效价对于 EQUICINE II™ 疫苗组的狗为 10 到 80，对于 A/KY/91 疫苗组，为 10 到 40。

[0449] 将接种后（对于 EQUICINE II™ 疫苗，在第二次接种后）2 周收集的样品用犬科动物流感和马流感病毒 (H3N8 型) 测定 HI 效价。HI 结果在表 32 中显示。临床病征包括攻击后观察到的发热（ $> 103^{\circ} \text{F}$ ； $> 39.4^{\circ} \text{C}$ ），偶尔咳嗽，和轻微的鼻涕。

[0450]

表 32. 血清学 – 接种后 2 周的 HI 效价

组	狗数目	品种	处理	HI 效价			
				使用马流感病毒		使用犬科动物流感病毒	
				范围	GMT	范围	GMT
1	7	小猎犬	Equicine II™	10-80	36	10-80	33
2	7	小猎犬	A/KY/91	10-20	12	20-160	54
3	6	小猎犬	对照	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*
4	7	杂种狗	Equicine II™	40-80	54	40-80	50
5	7	杂种狗	A/KY/91	10-40	24	40-80	49
6	6	杂种狗	对照	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*

[0451] *不适用

[0452] 在小猎犬中, EQUICINE II™ 疫苗组 (组 1) 中 6 只狗的 2 只、A/KY/91 疫苗组 (组 2) 中 7 只狗的 1 只和对照组 (组 3) 中 6 只狗的 2 只具有发热。组 3 (对照组) 中 6 只狗的一只在使用 0.25% 鸡红细胞 (CRBC) 进行的血凝测定中对鼻拭子材料的细胞培养上清液中的病毒是阳性的。对照组 (组 3) 中 6 只狗的 1 只和 A/KY/91 疫苗组 (组 2) 中 7 只狗的 1 只在攻击后观察期具有轻微的流涕。对于小猎犬狗, 在对照和疫苗组之间没有统计学显著差异 ($P > 0.05$)。

[0453] 在杂种狗中, EQUICINE II™ 疫苗组 (组 4) 中 7 只狗的 5 只, A/KY/91 疫苗组 (组 5) 中 7 只狗的 1 只, 和对照组 (组 6) 中 6 只狗的 5 只具有发热。来自组 4 和 6 各有 1 只狗具有轻微流涕, 并且来自组 5 的一只狗具有偶尔的咳嗽。EQUICINE II™ 疫苗组 (组 4) 中 7 只狗的两只和对照组 (组 6) 中 6 只狗的 3 只在 HA 测定法中对于鼻拭子中流感病毒是阳性的。A/KY/91 组 (组 5) 中没有狗对于鼻拭子材料中的流感病毒是阳性的。

[0454] 结论 :

[0455] 通过血清学, 阐明用通过商业途径可获得的马流感疫苗接种狗刺激中等水平的流感抗体应答。在用 H3N8 型流感病毒攻击后, 在狗中流感相关的临床病征的发展中可以存在一定的品种差异。活的减毒马流感疫苗 (A/KY/91) 提供了杂种狗中对临床疾病发展 (直肠温度) 的显著 ($P < 0.05$) 保护。而且, 活的减毒的病毒疫苗防止鼻分泌物中流感病毒脱落。

[0456] 实施例 20- 犬科动物流感攻击模型开发

[0457] 考虑到为了研究目的在犬科动物中诱导疾病还没有被证明是成功的, 在下面的研究中使用犬科动物流感病毒 H3N8 开发狗中的犬科动物流感攻击模型的潜力。

[0458] 步骤 :

[0459] 从供应商得到 10 只混合性别的杂种狗, 并圈在 BSL-2 设施的笼子中。将狗随机分

成两组,每组 5 只狗。如表 33 所示,一组进行气管内 / 鼻内攻击,另一组进行口鼻攻击。

[0460]

表 33. 实验设计		
组	狗数目	攻击途径
1	5	气管内/鼻内
2	5	口鼻的

[0461] 在约 12 周龄时攻击狗。含胚的鸡蛋生长的犬科动物流感病毒 (A/canine/Florida/242/03) 用作攻击病毒。每只狗接受 2ml (用于口鼻途径) 或 4ml (气管内 / 鼻内途径) 体积的总共约 $10^{7.2}$ TCID₅₀ 病毒。

[0462] 对于气管内 / 鼻内攻击,首先将 3ml 攻击病毒施用于气管,然后使用递送试管施用 5ml PBS,该试管由具有胶管管头的气管导管 (大小 4.0/4.5, Sheridan, USA) 和饲管 (大小 5Fr, 1.7mm ;16 英寸 (41cm) 长, Kendall, USA) 和饲管 (大小 5Fr, 1.7mm ;16 英寸 (41cm) 长, Kendall, USA) 组成,并施用 1ml 攻击病毒,接着用注射器将 3ml 空气施用到鼻孔中。

[0463] 对于口鼻攻击,使用雾化器 (Nebulair™, DVM Pharmaceuticals, Inc., Miami, FL) 以大约 2ml 的体积以喷雾施用攻击病毒。在攻击后 14 天观察狗的流感相关的临床病征。在攻击后 14 天对狗实施安乐死,并用 10% 缓冲的福尔马林收集组织 (肺和气管) 样品用于组织病理学检查。

[0464] 结果 :

[0465] 组 1 和 2 中的所有狗在 24 到 48 小时内都发生了犬科动物流感临床病征。每只狗具有两种或多种下面的临床病征:发热 ($> 103.0^{\circ}\text{F}$; $> 39.4^{\circ}\text{C}$)、咳嗽、严重的或者粘液脓性的眼分泌物、浆液性或粘液脓性的鼻分泌物、呕吐、腹泻、抑郁、体重减轻、作呕、咯血,和听得见的啰音。来自组 1 的 5 只狗的 5 只和来自组 2 的 5 只狗中的 4 只的肺组织具有组织病理学损害,其包括下面的一种或多种:弥散化脓性支气管肺炎、支气管炎 / 毛细支气管炎,在腔中具有嗜中性粒细胞渗出物栓,和粘膜和细支气管周组织中显著的单核细胞聚集、肺泡内混合的渗出物,具有大量泡沫状巨噬细胞、淋巴细胞和浆细胞以及粒细胞渗入,和肺泡隔的增厚,具有 II 型肺细胞增殖,其与流感病毒感染相容或是流感病毒感染特有的。气管组织样品是正常的。

[0466] 结论 :

[0467] H3N8 犬科动物流感隔离群如在该研究中使用的隔离群可以用于使用本研究中描述的方法之一或者类似方法在狗中诱导犬科动物流感疾病。

[0468] 实施例 21- 犬科动物流感攻击模型开发

[0469] 在下面的研究中进一步研究使用犬科动物流感病毒 H3N8 开发狗中的犬科动物流感攻击模型的可能性。

[0470] 步骤 :

[0471] 从供应商得到 15 只 17 到 18 周龄杂种狗和 15 只 15 周龄小猎犬,并圈在 BSL-2 设施的笼子中。将杂种狗随机分成 3 组 (组 1 到 3),每组 5 只狗。将所有小猎犬分成一组 (组

4), 如表 34 所示:

[0472]

表 34. 实验设计			
组	品种	狗数目	攻击病毒剂量
1	杂种狗	5	$10^{6.8}$ TCID ₅₀
2	杂种狗	5	$10^{5.8}$ TCID ₅₀
3	杂种狗	5	$10^{4.8}$ TCID ₅₀
4	小猎犬	5	$10^{6.8}$ TCID ₅₀

[0473] 将狗用毒性犬科动物流感病毒 A/Canine/Florida/242/2003 (从患有犬科动物流感疾病的灵 **狻** 的肺分离 (University of Florida 的 Cynda Crawford 博士提供)) 经口鼻攻击。使用雾化器 (Nebulair™) 以约 2ml 体积作为喷雾施用攻击病毒。在攻击后观察狗的流感相关的临床病征 14 天。

[0474] 结果:

[0475] 组 1 和 4 中 80% (5 只中的 4 只) 狗、组 2 和 3 中的 100% 的狗在 48 小时内产生犬科动物流感临床病征。每只狗具有一种或多种下面的临床病征: 发热 ($> 103.0^{\circ}\text{F}$; $> 39.4^{\circ}\text{C}$)、咳嗽、浆液性或粘液脓性眼分泌物、浆液性或粘液脓性鼻分泌物、呕吐、腹泻、抑郁、体重减轻、作呕、和啰音。在小猎犬中观察到的临床病征与杂种狗相比通常更轻并且是短程的。

[0476] 结论:

[0477] H3N8 犬科动物流感隔离群, 如该研究中使用的隔离群可以用于使用该研究中描述的方法或者类似的方法以 $10^{4.8}$ 到 $10^{6.8}$ TCID₅₀ 的攻击剂量范围在狗中诱导犬科动物流感样或者狗窝咳嗽样疾病。在杂种狗和小猎犬中观察到的临床病征有一定的不同。通常, 小猎犬与杂种狗相比具有更轻微流感相关的临床病征。

[0478] 实施例 22- 犬科动物流感疫苗功效研究

[0479] 进行下面的研究以评估 H3N8 马流感疫苗在狗中抗犬科动物流感病毒的功效。

[0480] 步骤:

[0481] 从供应商得到 17 只 14 周龄杂种狗和 10 只 8 周龄小猎犬。将狗随机分成 5 组, 如表 35 所示, 并圈在研究设施中。

[0482]

表 35. 实验设计

组	年龄	狗数目	处理	剂量数	接种时年龄(周)
1	14 周	7	接种	2	14 & 18
2	14 周	5	接种	1	18
3	14 周	5	对照	--	--
4	8 周	5	接种	2	8 & 12
5	8 周	5	对照	--	--

[0483] 该研究中使用的疫苗是 HAVLOGEN[®] - 佐剂化的、失活的马流感病毒 (A/equine/KY/02) 疫苗。为了制备该疫苗,使用标准方法通过二元氮丙啶 (BEI) 灭活病毒。每个疫苗剂量含有 HAVLOGEN[®] (10% v/v)、6144HA 单位的灭活病毒、0.1% (v/v) 的 10% 硫柳汞、0.1% (v/v) 酚红,足够的 NaOH 以调节 pH 为 6.8 至 7.2,和足够的 PBS 用于使总剂量体积达到 1ml。

[0484] 将组 1 和 4 中的狗用 2 剂疫苗接种。在第一次剂量后 4 周施用第二次剂量 (即,加强剂量)。在 18 周龄时用 1 剂接种组 2 中的狗。收集血样以用标准方案评估 HI 效价,使用在第 0 天 (接种前)、第一次和第二次接种后 7 和 14 天的 H3N8 犬科动物流感隔离群。攻击前约 5 天,将狗转移到 BSL-2 设施并圈在单独的笼子中。

[0485] 在组 1 和 4 的第二次接种后和组 2 第一次接种后 2 周用毒性犬科动物流感病毒 (每只狗 $10^{7.7}$ TCID₅₀ A/Canine/Florida/242/2003) 经口鼻攻击所有接种的和年龄匹配的对照狗。使用雾化器 (Nebulair[™]) 以每只狗 2ml 作为喷雾施用攻击病毒。攻击后观察狗的流感相关的病征 17 天。从 -1 天 (即攻击前一天) 到攻击后 17 天用含有 2ml 病毒转移培养基的试管收集鼻和口咽拭子用于病毒分离。在攻击后 17 天对所有狗实施安乐死并用 10% 缓冲的福尔马林收集肺和气管样品用于组织病理学分析。在攻击后 7 和 14 天收集血样用于 HI 效价测定。用于攻击后观察的临床病征得分评估在表 36 中显示。

[0486] 结果 :

[0487] 2 剂量接种组 (组 1 和 4) 中的所有狗都发生了对犬科动物流感病毒分离物的 HI 抗体效价应答 (表 37)。攻击后,在所有组中攻击后 14 天时效价增加约 4 倍间接表明所有狗都暴露于攻击病毒。所有狗显示出一种或多种下面的犬科动物流感病征:发热 ($> 103.0^{\circ} \text{F}$; $> 39.4^{\circ} \text{C}$)、咳嗽、浆液性或粘液脓性眼分泌物、浆液性或粘液脓性的鼻分泌物、呕吐、腹泻、抑郁、体重减轻和呼吸困难。与年龄匹配的对照相比,接种具有较不严重的临床病征 (表 38)。由于 8 周龄 ($P = 0.040$) 和 14 周龄 ($P = 0.003$) 狗中的 2- 剂量接种,临床病征存在显著减轻 (分别为组 4 和组 1)。在该实验中,一次剂量接种没有提供临床病征 (组 2) 的显著减轻 ($P = 0.294$)。

[0488] 病毒分离结果在表 39 中显示。在 14 周龄狗中,从收集自 2 次剂量疫苗组 (组 1) 的 7 只狗中的 2 只 (29%)、1 次剂量疫苗组 (组 2) 的 5 只狗的 3 只 (60%),和对照组 (组 3) 的 5 只狗的 5 只 (100%) 的拭子样品分离到犬科动物流感病毒。在 8 周龄狗中,从 2

次剂量疫苗组（组 4）的 5 只狗的 1 只（20%）、对照组（组 5）的 5 只狗的 4 只（80%）分离到病毒。与未接种的对照（组 3 和 5）相比，由于 2 次剂量接种（组 1 和 4），在拭子样品中对于犬科动物流感病毒阳性的狗的数目显著减少（ $P = 0.003$ ）。尽管在 1 次剂量疫苗组（组 2）和对照组（组 3）之间拭子样品中对犬科动物流感病毒阳性的狗的数目减少（60% 对 100%），但是该差异不是统计学显著的（ $P = 0.222$ ）。

[0489] 进行肺和气管组织样品的损伤的组织病理学评估以鉴定与犬科动物流感疾病相容或其特有的损伤。这包括例如，测定是否存在下面的一种或多种：具有化脓性支气管炎的区域；具有单核细胞聚集（淋巴细胞、浆细胞）的支气管周围炎 / 细支气管周围炎；在腔中存在粒细胞细胞碎片栓；呼吸上皮增生；肺泡中混合的渗出物，具有大量粒细胞和细胞碎片；（泡沫状）巨噬细胞、浆细胞和淋巴细胞聚集；和肺泡隔增厚，具有 II 型肺细胞增生。

[0490] 表 40 提供了该实验中狗的损伤程度概述。在 14 周龄狗中，在 2 次剂量接种组（组 2）中 7 只狗的 5 只和 1 次剂量接种组（组 1）中 5 只狗的 4 只中肺损伤的范围和严重性较低。所有对照狗（组 3）都具有严重和广泛的损伤，提示没有受到保护。在 14 周龄狗中，1 或 2 次剂量接种引起的气管损伤没有差异。在 8 周龄狗中，在 2 次剂量接种和对照狗之间肺损伤没有差异。没有狗具有气管损伤。

[0491] 结论：

[0492] 该研究的结果表明：(1) 灭活的 H3N8 马流感病毒可以在接种的狗中诱导犬科动物流感病毒交叉反应性 HI 抗体应答，(2) 使用 H3N8 马流感病毒疫苗可以减轻狗中犬科动物流感病毒疾病的严重性，和 (3) 使用 H3N8 犬科动物流感病毒疫苗可以减少鼻和 / 或口分泌物中的病毒排泄。

[0493]

表 36. 临床病征和评分系统	
临床病征	每天分数
温度	
<103.0°F (<39.4°C)	0
103.0 – 103.9°F (39.4-39.9°C)	2
104.0-104.9°F (40.0-40.5°C)	3
>105.0°F (>40.6°C)	4
咳嗽	
无咳嗽	0
偶尔	2
阵发性	4
喷嚏	
无喷嚏	0
偶尔	1
阵发性	2
鼻分泌物	
无分泌物	0
浆液的-轻微	1
浆液的-大量	1
粘液脓性-轻微	2
粘液脓性-大量	3

[0494]

表 36. 临床病征和评分系统	
临床病征	每天分数
眼分泌物	
无分泌物	0
浆液的-轻微	1
浆液的-大量	1
粘液脓性-轻微	2
粘液脓性-大量	3
咯血	
否	0
是	5
抑郁	
否	0
是	1
厌食	
否	0
是	1
呼吸系统病征	
无	0
啰音	3
呼吸困难	4
喘息	5
粘液咳出	
否	0
是	2

[0495]

表 36. 临床病征和评分系统	
<u>临床病征</u>	<u>每天分数</u>
呕吐	
否	0
是	1
粪便异常	
否	0
是	1

[0496]

表 37. 血清学-血凝抑制效价													
组号	狗 ID	年龄(周)	处理	剂量次数	HI 效价							攻击后天数	
					组 1 和 4 的第一次接种后天数								
					0*	7	14	28**	35	42***	7	14	
1	921	14	接种	2	<10	<10	10	20	40	20	160	320	
1	926	14	接种	2	<10	<10	<10	40	40	80	80	> 640	
1	931	14	接种	2	<10	<10	<10	10	20	20	80	> 640	
1	955	14	接种	2	<10	<10	<10	10	40	40	160	320	
1	011	14	接种	2	<10	<10	<10	10	20	40	160	320	
1	013	14	接种	2	<10	<10	<10	20	40	40	160	320	
1	019	14	接种	2	<10	<10	<10	10	20	40	80	> 640	
2	922	14	接种	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	> 640	> 640	
2	953	14	接种	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	320	> 640	
2	015	14	接种	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	320	> 640	
2	016	14	接种	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	160	320	
2	017	14	接种	1	<10	<10	<10	<10	<10	<10	320	> 640	
3	923	14	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	40	160	
3	012	14	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	40	320	

[0497]

表 37. 血清学 - 血凝抑制效价											
组号	狗 ID	年龄(周)	处理	剂量次数	HI 效价						
					组 1 和 4 的第一次接种后天数						
					0*	7	14	28**	35	42***	攻击后天数
3	014	14	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	14
3	018	14	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	160
3	01A	14	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	160
4	406	8	接种	2	<10	<10	10	40	80	80	>640
4	407	8	接种	2	<10	20	20	40	40	40	>640
4	504	8	接种	2	<10	<10	10	20	20	80	>640
4	704	8	接种	2	<10	<10	10	40	80	160	>640
4	705	8	接种	2	<10	<10	<10	40	80	160	>640
5	404	8	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	160
5	405	8	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80
5	610	8	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	40
5	702	8	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	160

[0498]

表 37. 血清学-血凝抑制效价									
组号	狗 ID	年龄(周)	处理	剂量次数	HI 效价				
					组 1 和 4 的第一次接种后天数				
					0*	7	14	28**	35
5	703	8	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10
					0*	7	14	28**	35
								42***	7
									14
									40
									160

*第一次接种- 组 1 和 4
**第二次接种- 组 1 和 4; 第一次接种- 组 2
***攻击天数

表 38. 总的犬科动物流感疾病临床得分分析					
组	处理	疫苗剂量数	组 1 和 4 的第一次 接种时年龄	每只狗的平 均总分	P-值*
1	接种	2	14 周	8.7	0.003 (组 1 对 3)
2	接种	1	14 周 (这些狗在 18 周时 接种一次)	21.8	0.294 (组 2 对 3)
3	对照	--	14 周 (这些狗不接种)	25.4	--
4	接种	2	8 周	2.0	0.040 (组 4 对 5)
5	对照	--	8 周 (这些狗不接种)	5.4	--

*使用 SAS®版本 8.2 的 NPARIWAY 程序分析(使用 Wilcoxon 秩和检验比较疫苗组)

[0500]

表 39. 病毒脱落																
组号	狗 ID	年龄 (周)	处理	疫苗剂量数	攻击后天数											
					-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	921	14	接种	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	926	14	接种	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	931	14	接种	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	955	14	接种	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	011	14	接种	2	N	N	P	N	N	P	N	N	N	N	N	N
1	013	14	接种	2	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N
1	019	14	接种	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	922	14	接种	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	953	14	接种	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	015	14	接种	1	N	N	N	P	N	P	P	N	N	N	N	N
2	016	14	接种	1	N	N	N	P	N	P	P	N	N	N	N	N
2	017	14	接种	1	N	N	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N
3	923	14	对照	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	012	14	对照	N/A	N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N
3	014	14	对照	N/A	N	N	P	N	N	P	P	N	N	N	N	N
3	018	14	对照	N/A	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	N

[0501]

表 40. 组织样品的组织病理学评估						
组号	狗 ID	年 龄 (周)	处理	剂量数	显微损伤 (组织病理学)	
					肺	气管
1	921	14	接种	2	+/-	-
1	926	14	接种	2	-	+/-
1	931	14	接种	2	-	-
1	955	14	接种	2	+/-	-
1	011	14	接种	2	+/-	-
1	013	14	接种	2	+/-	+/-
1	019	14	接种	2	+/-	+/-
2	922	14	接种	1	+/-	-
2	953	14	接种	1	+/-	+/-
2	015	14	接种	1	+/-	+
2	016	14	接种	1	-	-
2	017	14	接种	1	+/-	+/-
3	923	14	对照	N/A	+	+/-
3	012	14	对照	N/A	+	-
3	014	14	对照	N/A	+	-
3	018	14	对照	N/A	+	-
3	01A	14	对照	N/A	+	+/-
4	406	8	接种	2	+/-	-
4	407	8	接种	2	-	-
4	504	8	接种	2	+/-	-
4	704	8	接种	2	-	-
4	705	8	接种	2	-	-
5	404	8	对照	N/A	-	-

[0503]

表 40. 组织样品的组织病理学评估

组号	狗 ID	年 龄 (周)	处理	剂量数	显微损伤 (组织病理学)	
					肺	气管
5	405	8	对照	N/A	-	-
5	610	8	对照	N/A	+/-	-
5	702	8	对照	N/A	+/-	-
5	703	8	对照	N/A	-	-

[0504] “+”与流感感染一致或其特有的严重损伤

[0505] “+/-”轻微损伤 (不确定)

[0506] “-”正常的

[0507] 实施例 23- 犬科动物流感疫苗功效研究

[0508] 进行下面的研究以确定在狗中多价 H3N8 马流感疫苗对犬科动物流感病毒的功
效。

[0509] 步骤：

[0510] 从供应商得到 17 只 15 周龄的小猎犬。将狗随机分成 3 组, 如表 41 中所示, 并圈
在研究设施中。

[0511]

表 41. 实验设计

组	狗数目	处理	剂量数目	接种时年 龄 (周)
1	7	接种	2	15 & 19
2	5	接种	1	19
3	5	对照	--	--

[0512] 在该研究中使用的疫苗是 **HAVLOGEN®** 佐剂化的灭活的马流感 (A/equine/KY/02、A/equine/KY/93, 和 A/equine/NM/2/93) 疫苗。为了制备该疫苗, 使用标准方法通过二元氮丙啶 (BEI) 灭活病毒。每个疫苗剂量含有 **HAVLOGEN® (10% v/v)**, 2048 HA 单位每种灭活的病毒, 0.1% (v/v) 10% 硫柳汞, 0.1% (v/v) 酚红, 足够的 NaOH 以调节 pH 到 6.8 至 7.2, 和足够的 PBS 用于使总剂量体积达到 1ml。

[0513] 将组 1 中的狗用 2 剂疫苗接种。在第一次剂量后 4 周施用第二次剂量 (即, 加强剂量)。在 19 周龄时用 1 剂疫苗接种组 2 中的狗。收集血样以用标准方案评估 HI 效价,

使用在第 0 天（接种前）、第一次和第二次接种后 7 和 14 天的 H3N8 犬科动物流感分离物。攻击前 7 天，将狗转移到 BSL-2 设施并圈在单独的笼子中。

[0514] 在组 1 第二次接种后和组 2 第一次接种后 2 周用毒性犬科动物流感病毒（每只狗 $10^{7.3}$ TCID₅₀ A/Canine/Florida/242/2003）经口鼻攻击所有接种的狗和年龄匹配的对照狗。使用雾化器（Nebulair™）以每只狗 2ml 作为喷雾施用攻击病毒。攻击后观察狗的流感相关的临床病征 14 天。在攻击后 14 天对所有狗实施安乐死并用 10% 缓冲的福尔马林收集肺和气管样品用于组织病理学分析。在攻击后 7 和 14 天收集血样用于 HI 效价测定。用于攻击后观察的临床病征得分分配在表 42 中显示。

[0515] 结果：

[0516] 所有接种的狗都发生了对犬科动物流感病毒分离物的 HI 抗体效价应答（表 43）。攻击后，在所有组中攻击后 14 天时 HI 效价与攻击前 HI 效价相比增加约 4 倍间接表明所有狗都暴露于攻击病毒。所有狗显示出犬科动物流感疾病病征，每只狗显示出一种或多种下面的临床病征：发热（ $> 103.0^{\circ}\text{F}$ ； $> 39.4^{\circ}\text{C}$ ）、咳嗽、浆液性或粘液脓性眼分泌物、浆液性或粘液脓性的鼻分泌物、呕吐、腹泻、抑郁、体重减轻和呼吸困难。与年龄匹配的对照相比，接种具有较不严重的临床病征（表 44）。由于狗（组 1）中的 2- 剂量接种，临床病征存在显著减轻（ $P = 0.028$ ）。一剂量接种没有提供临床病征（组 2）的显著减轻（ $P = 0.068$ ）。

[0517] 如在实施例 22 中，进行肺和气管组织样品损伤的病理组织学评估以鉴定与犬科动物流感疾病相容或者其特有的损伤。表 45 提供了该实验中狗的损伤程度概述。在 15 周龄的狗中，使用 1 剂或 2 剂接种狗在所有狗中预防了肺损伤。5 只对照狗中的 4 只（80%）具有与流感疾病一致的严重的化脓性支气管肺炎。来自 2 剂疫苗组（组 1）的 7 只狗的 1 只和来自对照组（组 3）的 5 只狗的 1 只具有轻微的气管损伤，提示为气管炎，其可以归因于流感疾病。

[0518] 结论：

[0519] 来自该研究的结果表明 1) 灭活的 H3N8 马流感病毒可以在接种的狗中诱导犬科动物流感病毒交叉反应性 HI 抗体应答，和 2) 使用 H3N8 马流感病毒疫苗可以降低狗中犬科动物流感病毒疾病的严重性。

[0520]

表 42. 临床病征和评分系统	
临床病征	每天的分数
温度	
<103.0°F (<39.4°C)	0
103.0 – 103.9°F (39.4-39.9°C)	2
104.0-104.9°F (40.0-40.5°C)	3
>105.0°F (>40.6°C)	4
咳嗽	
不咳嗽	0
偶尔	2
阵发性	4
喷嚏	
无喷嚏	0
偶尔	1
阵发性	2
鼻分泌物	
无分泌物	0
浆液的-轻微	1
浆液的-大量	1
粘液脓性 - 轻微	2
粘液脓性 - 大量	3

[0521]

表 42. 临床病征和评分系统	
临床病征	每天的分数
眼分泌物	
无分泌物	0
浆液的-轻微	1
浆液的-大量	1
粘液脓性 - 轻微	2
粘液脓性 - 大量	3
咯血	
否	0
是	5
抑郁	
否	0
是	1
厌食	
否	0
是	1
呼吸系统病征	
无	0
啰音	3
呼吸困难	4
喘息	5
粘液咳出	
否	0
是	2

[0522]

表 42. 临床病征和评分系统

临床病征	每天的分数
呕吐	
否	0
是	1
粪便异常	
否	0
是	1

[0523]

表 43. 血清学 - 凝血抑制效价

组号	狗 ID	处理	剂量数	HI 效价							
				组 1 的第一次接种后天数						攻击后天数	
				0*	7	14	28**	35	42***	7	14
1	ALK	接种	2	< 10	< 10	20	20	80	40	160	320
1	AMF	接种	2	< 10	< 10	10	20	20	40	160	320
1	AKY	接种	2	< 10	20	20	20	40	40	160	80
1	ALC	接种	2	< 10	10	10	10	40	40	160	160
1	ALL	接种	2	< 10	< 10	10	10	40	20	160	320
1	ALM	接种	2	< 10	< 10	10	20	40	40	80	160
1	AMU	接种	2	< 10	20	40	40	40	40	40	160
2	ALA	接种	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	10	320	160
2	AMA	接种	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	20	> 640	80
2	APD	接种	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	10	> 640	320
2	APG	接种	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	10	320	80
2	APT	接种	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	10	320	320
3	ALT	对照	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	160
3	AMS	对照	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160
3	AKX	对照	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	20	80
3	ALX	对照	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	80
3	AMI	对照	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	80

[0525] *第一次接种 - 组 1

[0526] **第二次接种 - 组 1 ; 第一次接种 - 组 2

[0527] ***攻击日

[0528]

表 44. 分析总的犬科动物流感感疾病临床得分						
组	处理	剂量数	组 1 第一次接种时年龄	每只狗的平均总分	P-值*	
1	接种	2	15 周	6.3	0.028 (组 1 对 3)	
2	接种	1	15 周 (这些狗在 19 周龄时接种一次)	14.2	0.068 (组 2 对 3)	
3	对照	--	15 周 (这些狗不接种)	24.4	--	

* 使用 SAS® 版本 8.2 的 NPARIWAY 程序分析 (使用 Wilcoxon 秩和检验比较疫苗组)

表 45. 组织样品的组织病理学评估					
组号	狗 ID	处理	剂量数	显微损害 (组织病理学)	
				肺	气管
1	ALK	接种	2	-	+/-
1	AMF	接种	2	-	-
1	AKY	接种	2	-	-
1	ALC	接种	2	-	-
1	ALL	接种	2	-	-
1	ALM	接种	2	-	-
1	AMU	接种	2	-	-
2	ALA	接种	1	-	-
2	AMA	接种	1	-	-
2	APD	接种	1	-	-
2	APG	接种	1	-	-
2	APT	接种	1	-	-
3	ALT	对照	N/A	+/-	-
3	AMS	对照	N/A	+	-
3	AKX	对照	N/A	+	-
3	ALX	对照	N/A	+	+/-
3	AMI	对照	N/A	-	-

[0530] “+”与流感感染一致或其特有的严重损害

[0531] “+/-”“轻微损伤（不确定）

[0532] “-”“正常的

[0533] 实施例 24- 犬科动物流感疫苗功效研究

[0534] 进行下面的研究以确定：(1) 在狗中单价对多价 H3N8 马流感疫苗对犬科动物流感病毒的药效，和 (2) 施用途对疫苗药效的影响。

[0535] 步骤：

[0536] 从供应商得到 30 只 10 周龄杂种狗。将狗随机分成 6 组，如表 46 所示，并圈在研究设施中。

[0537]

表 46. 实验设计

组	狗数目	处理	接种途径	剂量数	接种时年龄 (周)
1	5	VAX-1	IN	2	10 & 14
2	5	VAX-2	SQ	2	10 & 14
3	5	VAX-2	IN	2	10 & 14
4	5	VAX-3	SQ	2	10 & 14
5	5	VAX-3	IN	2	10 & 14
6	5	对照	--	--	--

[0538] 使用三种类型的疫苗 (VAX-1、VAX-2, 和 VAX-3)。VAX-1 为 HAVLOGEN® - 佐剂化的灭活马流感病毒 (A/equine/KY/02) 单价疫苗, 每剂含有 HAVLOGEN® (10% v/v)、6144HA 单位的灭活病毒、0.1% (v/v) 的 10% 硫柳汞、0.1% (v/v) 酚红, 足够的 NaOH 以调节 pH 到 6.8 至 7.2, 和足够的 PBS 用于使总剂量体积达到 1ml。VAX-2 是 HAVLOGEN® - 佐剂化的灭活马流感病毒 (A/equine/KY/02) 单价疫苗, 每剂疫苗含有 HAVLOGEN® (10% v/v)、4096HA 单位的灭活病毒、0.1% (v/v) 的 10% 硫柳汞、0.1% (v/v) 酚红, 足够的 NaOH 以调节 pH 到 6.8 至 7.2, 和足够的 PBS 用于使总剂量体积达到 1ml。VAX-3 是 HAVLOGEN® - 佐剂化的灭活马流感 (A/equine/KY/02、A/equine/KY/93 和 A/equine/NM/2/93) 多剂疫苗, 并且含有 HAVLOGEN® (10% v/v), 每种毒株 2048HA 单位灭活的病毒, 0.1% (v/v) 的 10% 硫柳汞、0.1% (v/v) 酚红, 足够的 NaOH 以调节 pH 到 6.8 至 7.2, 和足够的 PBS 用于使总剂量体积达到 1ml。通过二元氮丙啶 (BEI) 使用标准方法灭活用于疫苗制剂的所有流感病毒。

[0539] 每组的疫苗和施用途径在表 46 描述。通过鼻内 (IN) 或皮下 (SQ) 途径接种接种组中的所有狗, 并且每只狗接受 2 剂。第二剂 (即, 加强剂量) 在第一剂后 4 周施用。收集血样以用标准方案用 H3N8 犬科动物流感分离物在第 0 天 (接种前)、第一次和第二次接种后 7 和 14 天评估 HI 效价。攻击前 7 天, 将狗转移到 BSL-2 设施中并圈在单独的笼子中。

[0540] 在第二次接种后 2 周用毒性犬科动物流感病毒 (每只狗 $10^{7.4}$ TCID₅₀/Canine/Florida/242/2003) 经口鼻攻击所有接种的狗和年龄匹配的对照狗。使用雾化器 (Nebulair™) 以每天 2ml 体积作为喷雾施用攻击病毒。攻击后观察狗的流感相关的临床病征 14 天。攻击后 7 和 14 天收集血样用于 HI 效价测定。在攻击后 14 天对所有狗实施安乐死并用 10% 缓冲的福尔马林收集肺和气管样品用于组织病理学分析。用于攻击后观察的临床病征得分评估在表 47 中显示。

[0541] 结果:

[0542] 不管疫苗的类型如何, 所有通过 SQ 途径接种的狗都应答犬科动物流感病毒隔离群产生 HI 抗体效价 (表 48)。在接种后期间, 无论疫苗类型, 来自 IN 接种组 (即组 1、3 和 5) 的狗都没有应答犬科动物流感病毒隔离群而产生 HI 抗体效价。然而, 在所有狗中攻击后 14 天, 效价升高 4 倍, 间接表明所有狗都暴露于攻击病毒 (表 47)。

[0543] 所有狗显示出一种或多种下面的犬科动物流感临床病征：发热（ $> 103.0^{\circ}\text{F}$ ； $> 39.4^{\circ}\text{C}$ ）、咳嗽、浆液性或粘液脓性眼分泌物、浆液性或粘液脓性的鼻分泌物、呕吐、腹泻、抑郁、体重减轻和呼吸困难。与年龄匹配的对照相比，接种具有较不严重的临床病征（表 49）。在通过 SQ 途径用 VAX-3 接种的狗中临床病征显著减轻（组 4）。在该实验中，IN 施用 VAX-1、VAX-2 或 VAX-3 没有提供犬科动物流感病毒临床病征的显著减轻。

[0544] 如实施例 22 和 23 中，进行肺和气管组织样品的损伤的组织病理学评估以鉴定与犬科动物流感疾病相容或其特有的损伤。表 50 提供了该实验中对于狗的损伤程度概述。5 只对照狗（组 6）中的 5 只具有与流感感染一致的肺损伤。通过 SC 途径用 VAX-2 接种（组 2）的 5 只狗的 2 只和通过 SC 途径用 VAX-3 接种（组 4）的 5 只狗的 3 只没有任何流感相关的肺损伤。不管疫苗类型如何，通过鼻内途径接受疫苗的所有狗都具有与流感感染相一致的严重肺损伤。在该研究中观察到的气管损伤非常轻微。

[0545] 结论：

[0546] 来自该研究的结果表明：(1) 灭活的 H3N8 马流感病毒可以在通过 SQ 途径接种的狗中诱导犬科动物流感病毒交叉反应性 HI 抗体应答，(2) 鼻内施用单价（VAX-1 和 VAX-2）或多价疫苗（VAX-3）在狗中不是有效的，和 (3) 皮下施用多价疫苗（VAX-3）提供了狗中犬科动物流感病毒疾病严重性的显著（ $P = 0.016$ ）减轻。

[0547]

表 47. 临床病征和评分系统	
临床病征	每天分数
温度	
<103.0°F (<39.4°C)	0
103.0 – 103.9°F (39.4-39.9°C)	2
104.0-104.9°F (40.0-40.5°C)	3
>105.0°F (>40.6°C)	4
咳嗽	
不咳嗽	0
偶尔	2
阵发性	4
喷嚏	
无喷嚏	0
偶尔	1
阵发性	2
鼻分泌物	
无分泌物	0
浆液的-轻微	1
浆液的-大量	1
粘液脓性 - 轻微	2
粘液脓性 - 大量	3

[0548]

表 47. 临床病征和评分系统	
临床病征	每天分数
眼分泌物	
无分泌物	0
浆液的-轻微	1
浆液的-大量	1
粘液脓性 - 轻微	2
粘液脓性 - 大量	3
咯血	
否	0
是	5
抑郁	
否	0
是	1
厌食	
否	0
是	1
呼吸系统病征	
无	0
啰音	3
呼吸困难	4
喘息	5
粘液咳出	
否	0
是	2
呕吐	
否	0
是	1
粪便异常	
否	0
是	1

[0549]

表 48. 血清学 - 血凝抑制效价											
组号	狗 ID	处理	接种途径	剂量数	HI 效价						
					接种后天数						
					0*	7	14	28**	35	42***	攻击后天数
1	248	接种	IN	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	7
1	501	接种	IN	2	<10	10	<10	<10	<10	<10	14
1	502	接种	IN	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	40
1	469	接种	IN	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80
1	46A	接种	IN	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	160
2	232	接种	SQ	2	<10	<10	<10	20	20	40	160
2	511	接种	SQ	2	<10	10	10	20	20	20	80
2	514	接种	SQ	2	<10	<10	40	40	80	40	320
2	461	接种	SQ	2	<10	10	10	20	20	20	>640
2	463	接种	SQ	2	<10	10	40	80	80	40	320
3	246	接种	IN	2	<10	10	<10	<10	<10	<10	40
3	505	接种	IN	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80
3	506	接种	IN	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	160
3	464	接种	IN	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80

[0550]

表 48. 血清学 - 血凝抑制效价												
组号	狗 ID	处理	接种途径	剂量数	HI 效价							
					接种后天数							
					0*	7	14	28**	35	42***	攻击后天数	
3	465	接种	IN	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	7	14
4	23B	接种	SQ	2	<10	10	10	40	40	20	160	160
4	247	接种	SQ	2	<10	<10	<10	20	20	20	160	320
4	508	接种	SQ	2	<10	10	40	40	80	80	320	320
4	512	接种	SQ	2	<10	<10	20	20	80	80	320	160
4	516	接种	SQ	2	<10	10	10	20	80	80	160	> 640
5	503	接种	IN	2	<10	10	<10	<10	<10	<10	80	160
5	513	接种	IN	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80	80
5	462	接种	IN	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80	320
5	466	接种	IN	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80	80
5	46B	接种	IN	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80	160
6	236	对照	--	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80	160
6	504	对照	--	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	160	160
6	507	对照	--	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80	160

[0551]

表 48. 血清学 - 血凝抑制效价													
组号	狗 ID	处理	接种途径	剂量数	HI 效价								
					接种后天数							攻击后天数	
					0*	7	14	28**	35	42***	7		14
6	515	对照	--	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80	160
6	468	对照	--	2	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80	160

* 第一次接种
** 第二次接种
*** 攻击日

[0552]

表 49. 总的犬科动物流感感疾病临床得分分析				
组	处理	接种途径	每只狗的平均总分	P-值*
1	VAX-1	IN	35.2	0.500 (组 1 对 6)
2	VAX-2	SQ	31.0	0.345 (组 2 对 6)
3	VAX-2	IN	39.4	0.631 (组 3 对 6)
4	VAX-3	SQ	13.0	0.016 (组 4 对 6)
5	VAX-3	IN	42.6	0.790 (组 4 对 6)
6	对照	--	36.8	--

* 使用 SAS® 版本 8.2 的 NPARIWAY 程序分析 (使用 Wilcoxon 秩和检验比较疫苗组)

[0553]

表 50. 组织样品的组织病理学评估

组号	狗 ID	处理	接种途径	剂量数	显微损伤 (组织病理学)	
					肺	气管
1	248	接种	IN	2	+	-
1	501	接种	IN	2	+	-
1	502	接种	IN	2	+	-
1	469	接种	IN	2	+	+
1	46A	接种	IN	2	+	+
2	232	接种	SQ	2	+	-
2	511	接种	SQ	2	+	-
2	514	接种	SQ	2	-	-
2	461	接种	SQ	2	+	-
2	463	接种	SQ	2	-	-
3	246	接种	IN	2	+	-
3	505	接种	IN	2	+	-
3	506	接种	IN	2	+	+
3	464	接种	IN	2	+	-
3	465	接种	IN	2	+	+
4	23B	接种	SQ	2	-	-
4	247	接种	SQ	2	+/-	-
4	508	接种	SQ	2	-	-
4	512	接种	SQ	2	-	+/-
4	516	接种	SQ	2	+	+
5	503	接种	IN	2	+	+/-
5	513	接种	IN	2	+	+
5	462	接种	IN	2	+	+/-

[0554]

表 50. 组织样品的组织病理学评估

组号	狗 ID	处理	接种途径	剂量数	显微损伤 (组织病理学)	
					肺	气管
5	466	接种	IN	2	+	+
5	46B	接种	IN	2	+	-
6	236	对照	--	2	+	-
6	504	对照	--	2	+	+
6	507	对照	--	2	+	+
6	515	对照	--	2	+	+/-
6	468	对照	--	2	+	+

[0555] “+”与流感感染一致或其特有的严重损伤

[0556] “+/-”轻微损伤（不确定）

[0557] “-”正常的

[0558] 实施例 25- 犬科动物流感疫苗功效研究

[0559] 犬科动物流感疾病由 H3N8 流感病毒 (CIV) 引起。CIV 非常接近马 H3N8 病毒 (Crawford et al., 2005) 并且感染所有接触的狗。约 80% 的被接触的狗发生临床病征。在下面的研究中, 确定灭活的 H3N8 马流感病毒疫苗和犬科动物流感病毒疫苗的功效。

[0560] 步骤:

[0561] 在该研究中使用 35 只小猎犬和 5 只杂种狗。将小猎犬随机分成 3 组 (表 51)。将所有杂种狗都分配到对照组 (组 3)。对所有狗都饲以标准生长饮食并且无限制地获取水。

[0562]

表 51. 实验设计

组	处理	接种途径	狗数目	接种时年龄 (周)	攻击
1	VAX-1	IM	15	8 & 12	是
2	VAX-2	SC	5	8 & 12	是
3	对照	N/A	20	N/A	是

[0563] 对组 1 和 2 中的狗用 VAX-1 或 VAX-2 接种 (表 51)。VAX-1 是 **HAVLOGEN®** 佐剂化的灭活的马流感病毒 (A/equine/KY/02) 疫苗。为了疫苗制备, 使用标准方法通过二

元氮丙啶 (BEI) 灭活疫苗病毒。每剂疫苗含有 **HAVLOGEN® (10% v/v)**、6144 HA 单位的灭活病毒、0.1% (v/v) 10% 的硫柳汞、0.1% (v/v) 的酚红和足够使总剂量体积达到 1ml 的 PBS 和用于调节 pH 到 6.8 到 7.2 的 NaOH。

[0564] VAX-2 是灭活的 CARBIGENTM 佐剂化的犬科动物流感抗原疫苗 (A/canine/F1/43/2004)。使用标准方法通过二元氮丙啶 ("BEI") 灭活 A/canine/F1/43/2004。每剂量疫苗含有按质量计 5% 的 CARBIGENTM, 约 1280 HA 单位灭活病毒, 足够使剂量总体积达到 1ml 的 PBS, 和足够调节 pH 到 7.2 至 7.4 的 NaOH。在第一次和第二次接种当天、第一次和第二次接种后 7 和 14 天, 和攻击前从所有狗收集血清样品以使用 H3N8 马流感病毒标准方案 (SAM 124, CVB, USDA, Ames, IA) 测定 HI 效价。攻击前 7 天, 将狗转移到 ABSL-2 设施并圈在单独的笼子中。

[0565] 将所有接种的狗和年龄匹配的对照狗在第二次接种后 2 周用毒性犬科动物流感病毒 (每只狗 $10^{7.2}$ TCID₅₀ A/Canine/Florida/242/2003) 经口鼻攻击。使用雾化器 (Nebulair™) 以喷雾 (2ml/狗) 施用攻击病毒。攻击后观察狗的流感相关的临床病征 14 天。从 -1 天 (即攻击前 1 天) 到攻击后 14 天每天用含有 2ml 用于病毒分离的病毒转移培养基的试管收集鼻和口咽拭子。在攻击后第 7 和 14 天收集血样用于 HI 效价测定。在表 52 中显示了用于攻击后观察的临床病征分数赋值。

[0566] 结果:

[0567] 所有接种的狗 (组 1 和 2) 都应答犬科动物流感病毒隔离群而产生了 HI 抗体效价 (表 53)。所有的狗显示出一种或多种下面的犬科动物流感病征: 发热 ($> 103.0^{\circ} \text{F}$; $> 39.4^{\circ} \text{C}$)、咳嗽、浆液性或粘液脓性眼分泌物、浆液性或粘液脓性的鼻分泌物、呕吐、腹泻、抑郁、和厌食。与年龄匹配的对照相比, 接种具有较不严重的临床病征 (表 54)。用 VAX-1 (组 1) 或 VAX-2 (组 2) 接种的狗中临床病征有显著 ($P < 0.001$) 减轻。

[0568] 病毒分离结果在表 55 和 56 中显示。毒性犬科动物流感病毒攻击后, 从组 1 (VAX-1) 的 15 只狗的 5 只 (33%)、组 2 (VAX-2) 的 5 只狗的 0 只 (0%) 和对照 (组 3) 的 20 只的 17 只 (85%) 中分离到犬科动物流感病毒。灭活的马流感疫苗 (VAX-1) 和犬科动物流感病毒 (VAX-2) 接种都证明引起鼻或口分泌物或两者中的病毒脱落与对照相比显著 ($P = 0.004$) 减少 (表 55)。

[0569] 结论:

[0570] 来自该研究的结果表明: (1) 灭活的 H3N8 马流感病毒和犬科动物流感病毒疫苗可以在接种的狗中诱导犬科动物流感病毒反应性 HI 抗体应答, (2) 使用 H3N8 马流感病毒或犬科动物流感病毒疫苗可以降低狗中犬科动物流感病毒疾病的严重性, 和 (3) 使用 H3N8 马流感病毒或犬科动物流感病毒疫苗可以在鼻和 / 或口分泌物中减少病毒分泌。

[0571]

表 52. 临床病征和评分系统	
临床病征	每天的分數
温度	
<103.0°F (<39.4°C)	0
103.0 – 103.9°F (39.4-39.9°C)	2
104.0-104.9°F (40.0-40.5°C)	3
>105.0°F (>40.6°C)	4
咳嗽	
不咳嗽	0
偶尔	2
阵发性	4
喷嚏	
无喷嚏	0
偶尔	1
阵发性	2
鼻分泌物	
无分泌物	0
浆液的-轻微	1
浆液的-大量	1
粘液脓性 - 轻微	2
粘液脓性 - 大量	3
眼分泌物	
无分泌物	0
浆液的-轻微	1
浆液的-大量	1
粘液脓性 - 轻微	2
粘液脓性 - 大量	3

[0572]

表 52. 临床病征和评分系统	
临床病征	每天的分数
咯血	
否	0
是	5
抑郁	
否	0
是	1
厌食	
否	0
是	1
呼吸系统病征	
无	0
啰音	3
呼吸困难	4
喘息	5
粘液咳出	
否	0
是	2
呕吐	
否	0
是	1
粪便异常	
否	0
是	1

[0573]

表 53. 血清学 - 血凝抑制效价

组号	狗 ID	处理	接种途径	HI 效价		攻击后天数						
						接种后天数						
				0*	7	14	28**	35	42***	7	14	
1	AYS	接种	IM	<10	<10	<10	20	40	40	80	>640	
1	AZV	接种	IM	<10	<10	<10	20	40	40	160	>640	
1	BAD	接种	IM	<10	<10	<10	40	40	80	80	320	
1	BAE	接种	IM	<10	<10	10	20	20	20	40	320	
1	BAH	接种	IM	<10	<10	10	10	40	40	160	>640	
1	BAJ	接种	IM	<10	<10	10	20	80	80	40	320	
1	BAN	接种	IM	<10	10	10	20	40	40	40	320	
1	BBN	接种	IM	<10	10	10	20	80	80	40	320	
1	BBT	接种	IM	<10	<10	<10	20	40	40	40	160	
1	BBY	接种	IM	<10	<10	<10	20	80	80	160	>640	
1	BCS	接种	IM	<10	10	40	40	160	160	160	160	
1	BCZ	接种	IM	<10	10	10	20	80	40	160	160	
1	BDP	接种	IM	<10	<10	<10	20	40	40	80	>640	

[0574]

表 53. 血清学 - 血凝抑制效价

组号	狗 ID	处理	接种途径	HI 效价		攻击后天数						
						接种后天数						
				0*	7	14	28**	35	42***	7	14	
1	BEE	接种	IM	<10	10	20	40	80	80	160	320	
1	BEY	接种	IM	<10	<10	10	10	40	40	160	160	
2	AZH	接种	SC	<10	<10	10	20	80	80	160	160	
2	AZT	接种	SC	<10	<10	10	10	40	80	320	>640	
2	BBC	接种	SC	<10	<10	20	40	160	160	80	160	
2	BC M	接种	SC	<10	<10	10	20	80	40	80	160	
2	BEB	接种	SC	<10	<10	<10	10	20	40	80	160	
3	AYT	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	40	320	
3	AZJ	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	20	160	
3	AZL	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	40	160	
3	AZN	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	160	160	
3	BAB	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	40	320	

[0575]

表 53. 血清学 - 血凝抑制效价

组号	狗 ID	处理	接种途径	HI 效价									
				接种后天数					攻击后天数				
				0*	7	14	28**	35	42***	7	14		
3	BBD	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	320	>640		
3	BBU	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	160	160		
3	BBZ	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	20	160		
3	BCC	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	40	320		
3	BCD	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80	>640		
3	BCG	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	40	>640		
3	BCI	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	20	320		
3	BCL	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80	>640		
3	BCV	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	40	320		
3	BDU	对照	N/A	<10	<10	<10	<10	<10	<10	80	>640		
3	MFI	对照	N/A	NT	NT	NT	NT	<10	<10	80	320		
3	MFJ	对照	N/A	NT	NT	NT	NT	<10	<10	40	320		
3	MF	对照	N/A	NT	NT	NT	NT	<10	<10	80	320		

[0576]

表 53. 血清学 - 血凝抑制效价											
组号	狗 ID	处理	接种途径	HI 效价						攻击后天数	
				接种后天数							
				0*	7	14	28**	35	42***	7	14
3	MFR	对照	N/A	NT	NT	NT	NT	< 10	< 10	80	320
3	MFS	对照	N/A	NT	NT	NT	NT	< 10	< 10	160	≥ 640

* 第一次接种
** 第二次接种
*** 攻击日

[0577]

表 54. 总的犬科动物流感疾病临床分数分析

组	处理	每只狗的平均总分	P-值*
1	VAX-1	9.1	< 0.001 (组 1 对 3)
2	VAX-2	5.4	< 0.001 (组 2 对 3)
3	对照	24.1	--

[0578] *使用 SAS ®版本 9.1 的 NPARIWAY 程序分析 (使用 GLM 程序比较疫苗组)

[0579]

表 55. 攻击后病毒脱落

组	处理	分泌病毒的狗的百分比	P-值*
1	VAX-1	33% (5/15)	0.004 (组 1 对 3)
2	VAX-2	0% (0/5)	0.004 (组 2 对 3)
3	对照	85% (17/20)	--

[0580] *使用 SAS ® (版本 9.1) 的 FREQ 程序分析和与 Fisher 精确检验相关的 P 值

[0581]

表 56. 血清学 - 血凝抑制效价																				
组号	狗 ID	处理	接种途径	攻击后天数																
				-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
1	AYS	接种	IM	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	AZV	接种	IM	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BAD	接种	IM	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BAE	接种	IM	N	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BAH	接种	IM	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BAJ	接种	IM	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BAN	接种	IM	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BBN	接种	IM	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BBT	接种	IM	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BBY	接种	IM	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BCS	接种	IM	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BCZ	接种	IM	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BDP	接种	IM	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BEE	接种	IM	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BEY	接种	IM	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

[0582]

[illegible]

[0583]

表 57. 流感病毒之间血凝素、神经氨酸酶和核蛋白基因氨基酸序列相似性

基 因 (Canine /Florida/43/2004)	氨基酸序列相似性	用于比较的流感病毒的基因
血凝素	88	equine/Algiers/72
HA	90	equine/Sao paulo/6/69
HA	91	equine/Miami/1/63
HA	93	equine/Newmarket/79
HA	94	equine/Kentucky/1/81
HA	95	Equi-2/Ludhiana/87
HA	96	Equine/Alaska/1/91
HA	97	equine/Tennessee/5/86
HA	98	equine/Kentucky/5/02
HA	99	equine/Ohio/1/2003
HA	99	canine/Florida/242/2003
神经氨酸酶	88	Eq/Algiers/72
NA	90	equine/Sao Paulo/6/69
NA	91	equine/Miami/1/63
NA	93	equine/Newmarket/79
NA	94	equine/Kentucky/1/81
NA	95	Equi-2/Ludhiana/87
NA	96	equine/Santiago/85
NA	97	equine/Tennessee/5/86
NA	98	equine/Kentucky/5/2002
NA	99	equine/Ohio/1/2003
NA	99	canine/Florida/242/2003

[0585]

表 57. 流感病毒之间血凝素、神经氨酸酶和核蛋白基因氨基酸序列相似性

基 因 (Canine /Florida/43/2004)	氨基酸序 列相似性	用于比较的流感病毒的基因
核蛋白 ("NP")	94	equi/Miami/1/63
NP	97	equine/Kentucky/1/81
NP	99	equine/Kentucky/5/02
NP	99	equine/Ohio/1/2003
NP	99	canine/Florida/242/2003

[0586] 在本专利（包括权利要求）中的单词“包含”、“含有”和“包括”将被解释为包括在内而不是排他性的。该解释意在与这些单词在美国专利法中给出的解释相同。

[0587] 上面对优选实施方案的详细描述仅仅意在使本领域技术人员熟悉本发明、它的原理和它的实际应用，从而本领域技术人员可以改编和以多种形式应用本发明，使得它们可以最适于具体应用的需要。因此，本发明不限于上面的实施方案并且可以以多种形式修饰。

[0588] 应该理解本文描述的实施例和实施方案仅用于阐明目的，并且参照其的多种修饰或更改将是本领域技术人员可以想到的，并且包括在本申请的精神和范围内。

[0589] 参考文献

[0590] 美国专利号 5, 106, 739

[0591] 美国专利号 5, 034, 322

[0592] 美国专利号 6, 455, 760

[0593] 美国专利号 6, 696, 623

[0594] 美国专利号 4, 683, 202

[0595] 美国专利号 4, 683, 195

[0596] 美国专利号 4, 800, 159

[0597] 美国专利号 4, 965, 188

[0598] 美国专利号 5, 994, 056

[0599] 美国专利号 6, 814, 934

[0600] 美国专利号 6, 436, 408

[0601] 美国专利号 6, 398, 774

[0602] 美国专利号 6, 177, 082

[0603] 公布的美国专利申请号 20040078841

[0604] 公布的美国专利申请号 20040067506

[0605] 公布的美国专利申请号 20040019934

- [0606] 公布的美国专利申请号 20030177536
- [0607] 公布的美国专利申请号 20030084486
- [0608] 公布的美国专利申请号 20040123349
- [0609] Greyhound Daily News, 1/28/99. National Greyhound Association (NGA), Abilene, Kansas. <http://www.NGAgreyhounds.com>.
- [0610] Personal communication, Dr. William Duggar, veterinarian at Palm Beach Kennel Club, West Palm Beach, Florida.
- [0611] Altschul, S. F. et al. (1990) "Basic Local Alignment Search Tool" J. Mol. Biol. 215 :402-410.
- [0612] Altschul, S. F. et al. (1997) "Gapped BLAST and PSI-BLAST : A New Generation of Protein Database Search Programs" Nucl. Acids Res. 25 :3389-3402.
- [0613] An, G. (1987) "Binary Ti vectors for plant transformation and promoter analysis" Methods Enzymol. 153 :292-305.
- [0614] Beltz, G. A. , Jacobs, K. A. , Eickbush, T. H. , Cherbas, P. T. , Kafatos, F. C. (1983) "Isolation of multigene families and determination of homologies by filter hybridization methods" Methods of Enzymology, R. Wu, L. Grossman and K. Moldave [eds.] Academic Press, New York 100 :266-285.
- [0615] Burleson, F. et al. (1992) Virology : A Laboratory Manual (Academic Press).
- [0616] Byars, N. E. , A. C. Allison (1987) "Adjuvant formulation for use in vaccines to elicit both cell-mediated and humoral immunity" Vaccine 5 :223-228.
- [0617] Crawford, P. C. et al. (2005) "Transmission of equine influenza virus to dogs" Science 310 :482-485.
- [0618] Chang, C. P. et al. (1976) "Influenza virus isolations from dogs during a human epidemic in Taiwan" Int J Zoonoses 3 :61-64.
- [0619] Dacso, C. C. et al. (1984) "Sporadic occurrence of zoonotic swine influenza virus infections" J Clin Microbiol 20 :833-835.
- [0620] de Boer, H. A. , Comstock, L. J. , Vasser, M. (1983) "The tac promoter : a functional hybrid derived from the trp and lac promoters" Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80(1) :21-25.
- [0621] Felsenstein, J. (1989) Cladistics 5 :164.
- [0622] Fields et al. (1946) Fields Virology, 3rd ed. , Lippincott-Raven publishers.
- [0623] Ford, R. B. , Vaden, S. L. (1998) "Canine infectious tracheobronchitis" In Infectious Diseases of the Dog and Cat, 2nd edition, C. E. Greene, editor, W. B. Saunders Co. , Philadelphia, PA, pp. 33-38.
- [0624] Fouchier et al. , (2000) Journal of Clinical Microbiology 38(11) : 4096-4101.
- [0625] Good, X. et al. (1994) "Reduced ethylene synthesis by transgenic tomatoes expressing S-adenosylmethionine hydrolase" Plant Molec. Biol. 26 :781-790.
- [0626] Guan, Y. et al. (2004) "H5N1 influenza : a protean pandemic threat" Proc Natl

Acad Sci U S A 101 :8156-8161.

[0627] Guo, Y. et al. (1992) "Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China" *Virology* 188 :245-255.

[0628] Houser, R. E. et al. (1980) "Evidence of prior infection with influenza A/Texas/77(H3N2) virus in dogs with clinical parainfluenza" *Can J Comp Med* 44 :396-402.

[0629] Karasin, A. I. et al. (2000) "Isolation and characterization of H4N6 avian influenza viruses from pigs with pneumonia in Canada" *J Virol* 74 :9322-9327.

[0630] Karlin S. and Altschul, S. F. (1990) "Methods for Assessing the Statistical Significance of Molecular Sequence Features by Using General Scoring Schemes" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 :2264-2268.

[0631] Karlin S. and Altschul, S. F. (1993) "Applications and Statistics for Multiple High-Scoring Segments in Molecular Sequences" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90 :5873-5877.

[0632] Kawaoka, Y. et al., (1989) "Avian-to-human transmission of the PB1 gene of influenza A viruses in the 1957 and 1968 pandemics" *J Virol* 63 :4603-4608.

[0633] Keawcharoen, J. et al. (2004) "Avian influenza H5N1 in tigers and leopards" *Emerg Infect Dis* 10 :2189-2191.

[0634] Kendal, A. P. et al. (1982) In Concepts and Procedures for Laboratory-based Influenza Surveillance. A. P. Kendal, M. S. Pereira, J. J. Skehel, Eds. (U. S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention and Pan-American Health Organization, Atlanta, GA, United States) pp. B17-B35.

[0635] Kilbourne, E. D. et al. (1975) "Demonstration of antibodies to both hemagglutinin and neuraminidase antigens of H3N2 influenza A virus in domestic dogs" *Intervirology* 6 :315-318.

[0636] Kimura, K. et al. (1998) "Fatal case of swine influenza virus in an immunocompetent host" *Mayo Clin Proc* 73 :243-245.

[0637] Klimov, A. I. et al. (1992a) "Sequence changes in the live attenuated, cold-adapted variants of influenza A/Leningrad/134/57 (H2N2) virus" *Virology* 186 :795-797.

[0638] Klimov A. et al. (1992b) "Subtype H7 influenza viruses : comparative antigenic and molecular analysis of the HA-, M-, and NS-genes" *Arch Virol* 122 :143-161.

[0639] Kovacova, A. et al. (2002) "Sequence similarities and evolutionary relationships of influenza virus A hemagglutinins" *Virus Genes* 24 :57-63.

[0640] Kuiken, T. et al. (2004) "Avian H5N1 influenza in cats" *Science* 306 :241.

[0641] Kumar, S. et al. (2004) "MEGA3 : Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment" *Brief*

Bioinform5 :150-163.

[0642] Lee, L.G. et al. (1993) "Allelic discrimination by nick-translation PCR with fluorogenic probes" *Nucleic Acids Res.* 21(16) :3761-3766.

[0643] Lewin, B. (1985) *Genes II*, John Wiley & Sons, Inc., p. 96.

[0644] Lipatov, A.S. et al. (2004) "Influenza: emergence and 对照" *J Virol* 78 : 8951-8959.

[0645] Livak, K.J. et al. (1995) "Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization" *PCR Methods Appl.* 4(6) :357-362.

[0646] Maniatis, T., E.F. Fritsch, J. Sambrook (1982) "Nuclease Bal31" *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.

[0647] Matrosovich, M. et al. (2000) "Early alterations of the receptor-binding properties of H1, H2, and H3 avian influenza virus hemagglutinins after their introduction into mammals" *J Virol* 74 :8502-8512.

[0648] Maertzdorf et al., (2004) *Clin Microbiol.* 42(3) :981-986.

[0649] Merrifield, R.B. (1963) "Solid Phase Peptide Synthesis. I. The Synthesis of a Tetrapeptide" *J. Amer. Chem. Soc.* 85 :2149-2154.

[0650] Nikitin, A. et al. (1972) "Epidemiological studies of A-Hong Kong-68 virus infection in dogs" *Bull World Health Organ* 47 :471-479.

[0651] Nobusawa, E. et al. (1991) "Comparison of complete amino acid sequences and receptor-binding properties among 13 serotypes of hemagglutinins of influenza A viruses" *Virology* 182 :475-485.

[0652] Patriarca, P.A. et al. (1984) "Lack of significant person-to-person spread of swine influenza-like virus following fatal infection in an immunocompromised child" *Am J Epidemiol* 119 :152-158.

[0653] Payungporn S. et al. (2006a) "Detection of canine influenza A virus (H3N8) RNA by real-time RT-PCR" (in preparation for *Journal of Clinical Microbiology*).

[0654] Payungporn S. et al. (2006b) "Isolation and characterization of influenza A subtype H3N8 viruses from dogs with respiratory disease in a shelter and veterinary clinic in Florida" (in preparation for *Emerging Infectious Diseases*).

[0655] Peiris, M. et al. (1999) "Human infection with influenza H9N2" *Lancet* 354 : 916-917.

[0656] Peiris, J.S. et al. (2004) "Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease" *Lancet* 363 :617-619.

[0657] Posnett, D.N. et al. (1988) "A Novel Method for Producing Anti-peptide Antibodies" *J. Biol. Chem.* 263(4) :1719-1725.

[0658] Putnam, Bob (February 10, 1999) "Two illnesses seen in death of dogs" *St. Petersburg Times*.

- [0659] Reid, A. H. et al. (2004) "Evidence of an absence: the genetic origins of the 1918 pandemic influenza virus" *Nat Rev Microbiol* 2:909-914.
- [0660] Rowe, T. et al. (1999) "Detection of antibody to avian influenza A(H5N1) virus in human serum by using a combination of serologic assays" *J Clin Microbiol* 37:937-943.
- [0661] Saiki, R. (1985) "Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia" *Science* 230:1350-1354.
- [0662] Sambrook, J. et al. (1989) "Plasmid Vectors" In: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2d Edition, pp. 1.82-1.104. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- [0663] Subbarao, K. et al. (1998) "Characterization of an avian influenza A(H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness" *Science* 279:393-396.
- [0664] Suzuki, Y. et al. (2000) "Sialic acid species as a determinant of the host range of influenza A viruses" *J Virol* 74:11825-11831.
- [0665] Tam, J. P. (1988) "Synthetic Peptide Vaccine Design: Synthesis and Properties of a High-Density Multiple Antigenic Peptide System" *PNAS USA* 85(15):5409-5413.
- [0666] Top, Jr., F. H. et al. (1977) "Swine influenza A at Fort Dix, New Jersey (January-February 1976). IV. Summary and speculation" *J Infect Dis* 136 Suppl: S376-S380.
- [0667] Vines, A. et al. (1998) "The role of influenza A virus hemagglutinin residues 226 and 228 in receptor specificity and host range restriction" *J Virol* 72:7626-7631.
- [0668] Wagner, R. et al. (2002) "N-Glycans attached to the stem domain of haemagglutinin efficiently regulate influenza A virus replication" *J Gen Virol* 83:601-609.
- [0669] Webby, R. et al. (2004) "Molecular constraints to interspecies transmission of viral pathogens" *Nat Med* 10:S77-S81.
- [0670] Webster, R. G. (1998) "Influenza: an emerging disease" *Emerg Infect Dis.* 4:436-441.
- [0671] Webster, R. G. et al. (1992) "Evolution and ecology of influenza A viruses" *Microbiol Rev.* 56:152-179.
- [0672] Weis, W. et al. (1988) "Structure of the influenza virus haemagglutinin complexed with its receptor, sialic acid" *Nature* 333:426-431.
- [0673] Womble, D. D. (2000) "GCG: The Wisconsin Package of sequence analysis programs" *Methods Mol Biol* 132:3-22.
- [0674] Xu, D., McElroy, D., Thornburg, R. W., Wu, R. et al. (1993) "Systemic induction

of a potato pin2 promoter by wounding, methyl jasmonate, and abscisic acid in transgenic rice plants” Plant Molecular Biology 22 :573-588.

[0675] Yang, T.T. et al. (1996) “Optimized Codon Usage and Chromophore Mutations Provide Enhanced Sensitivity with the Green Fluorescent Protein” Nucleic Acid Research 24(22) :4592-4593.

[0676] Yoon K-Y. et al. (2005) “Influenza virus infection in racing greyhounds” Emerg Infect Dis. 11 :1974-1975.

[0001]

序列表

- <110> 佛罗里达大学研究基金公司
疾病控制和预防中心, 健康公共事业部部长所代表的美国政府
康乃尔研究基金会有限公司
因特韦特国际有限公司
- <120> 能够感染犬科动物的流感病毒及其用途
- <130> UF-445XC2
- <150> US 11/409, 416
<151> 2006-04-21
- <150> US 60/728, 449
<151> 2005-10-19
- <150> US 60/754, 881
<151> 2005-12-29
- <150> US 60/759, 162
<151> 2006-01-14
- <150> US 60/761, 451
<151> 2006-01-23
- <150> US 60/779, 080
<151> 2006-03-03
- <160> 88
- <170> PatentIn 版本 3.3
- <210> 1
<211> 2277
<212> DNA
<213> 流感病毒
- <220>
<221> CDS
<222> (1).. (2277)

[0002]

<400> 1	
atg gag aga ata gaa gaa ctg aga gat ctg atg tta caa tcc cgc acc	48
Met Glu Arg Ile Glu Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr	
1 5 10 15	
cgc gag ata cta aca aaa act act gtg gac cac atg gcc ata atc aag	96
Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys	
20 25 30	
aaa tac aca tca gaa aga caa gag aag aac cct gca ctt agg atg aaa	144
Lys Tyr Thr Ser Glu Arg Gln Glu Lys Asn Pro Ala Leu Arg Met Lys	
35 40 45	
tgg atg atg gca atg aaa tac cca att aca gca gat aag agg ata atg	192
Trp Met Met Ala Met Lys Tyr Pro Ile Thr Ala Asp Lys Arg Ile Met	
50 55 60	
gag atg att cct gag aga aat gaa cag ggt caa acc ctt tgg agc aaa	240
Glu Met Ile Pro Glu Arg Asn Glu Gln Gly Gln Thr Leu Trp Ser Lys	
65 70 75 80	
acg aac gat gct ggc tca gac cgc gta atg gta tca cct ctg gca gtg	288
Thr Asn Asp Ala Gly Ser Asp Arg Val Met Val Ser Pro Leu Ala Val	
85 90 95	
aca tgg tgg aat agg aat gga cca aca acg agc aca att cat tat cca	336
Thr Trp Trp Asn Arg Asn Gly Pro Thr Thr Ser Thr Ile His Tyr Pro	
100 105 110	
aaa gtc tac aaa act tat ttt gaa aag gtt gaa aga ttg aaa cac gga	384
Lys Val Tyr Lys Thr Tyr Phe Glu Lys Val Glu Arg Leu Lys His Gly	
115 120 125	
act ttt ggc ccc gtt cat ttt agg aat caa gtc aag ata aga cga aga	432
Thr Phe Gly Pro Val His Phe Arg Asn Gln Val Lys Ile Arg Arg Arg	
130 135 140	
gtt gat gta aac cct ggt cac gcg gac ctc agt gcc aaa gaa gca caa	480
Val Asp Val Asn Pro Gly His Ala Asp Leu Ser Ala Lys Glu Ala Gln	
145 150 155 160	
gat gtg atc atg gaa gtt gtt ttc cca aat gaa gtg gga gcc ata att	528
Asp Val Ile Met Glu Val Val Phe Pro Asn Glu Val Gly Ala Ile Ile	
165 170 175	

[0003]

cta aca tcg gaa tca caa cta aca ata acc aaa gag aaa aag gaa gaa Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu 180 185 190	576
ctt cag gac tgc aaa att gct ccc ttg atg gta gca tac atg cta gaa Leu Gln Asp Cys Lys Ile Ala Pro Leu Met Val Ala Tyr Met Leu Glu 195 200 205	624
aga gag ttg gtc cga aaa aca agg ttc ctc cca gta gca ggc gga aca Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Ala Gly Gly Thr 210 215 220	672
agc agt gta tac att gaa gtg ttg cat ctg act cag gga aca tgc tgg Ser Ser Val Tyr Ile Glu Val Leu His Leu Thr Gln Gly Thr Cys Trp 225 230 235 240	720
gag caa atg tac acc cca gga gga gaa gtt aga aac gat gat att gat Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Glu Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp 245 250 255	768
caa agt tta att att gca gcc cgg aac ata gtg aga aga gcg aca gta Gln Ser Leu Ile Ile Ala Ala Arg Asn Ile Val Arg Arg Ala Thr Val 260 265 270	816
tca gca gat cca cta gca tcc cta ctg gaa atg tgc cac agt aca cag Ser Ala Asp Pro Leu Ala Ser Leu Leu Glu Met Cys His Ser Thr Gln 275 280 285	864
att ggt gga ata agg atg gta gac atc ctt aag cag aat cca aca gag Ile Gly Gly Ile Arg Met Val Asp Ile Leu Lys Gln Asn Pro Thr Glu 290 295 300	912
gaa caa gct gtg gat ata tgc aaa gca gca atg gga ttg aga att agc Glu Gln Ala Val Asp Ile Cys Lys Ala Ala Met Gly Leu Arg Ile Ser 305 310 315 320	960
tca tca ttc agc ttt ggt gga ttc acc ttc aaa aga aca agt gga tca Ser Ser Phe Ser Phe Gly Gly Phe Thr Phe Lys Arg Thr Ser Gly Ser 325 330 335	1008
tca gtc aag aga gaa gaa gaa atg ctt acg ggc aac ctt caa aca ttg Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu 340 345 350	1056

[0004]

aaa ata aga gtg cat gag ggc tat gaa gaa ttc aca atg gtc gga aga Lys Ile Arg Val His Glu Gly Tyr Glu Glu Phe Thr Met Val Gly Arg 355 360 365	1104
aga gca aca gcc att atc aaa aag gca acc aga aga ttg att caa ttg Arg Ala Thr Ala Ile Ile Lys Lys Ala Thr Arg Arg Leu Ile Gln Leu 370 375 380	1152
ata gta agt ggg aga gat gaa caa tca att gct gaa gca ata att gta Ile Val Ser Gly Arg Asp Glu Gln Ser Ile Ala Glu Ala Ile Ile Val 385 390 395 400	1200
gcc atg gtg ttt tgc caa gaa gat tgc atg ata aaa gca gtt cga ggc Ala Met Val Phe Ser Gln Glu Asp Cys Met Ile Lys Ala Val Arg Gly 405 410 415	1248
gat ttg aac ttt gtt aat aga gca aat cag cgt ttg aac ccc atg cat Asp Leu Asn Phe Val Asn Arg Ala Asn Gln Arg Leu Asn Pro Met His 420 425 430	1296
caa ctc ttg agg cat ttc caa aaa gat gca aaa gtg ctt ttc cac aat Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe His Asn 435 440 445	1344
tgg gga att gaa ccc atc gac aat gta atg ggg atg att gga ata ttg Trp Gly Ile Glu Pro Ile Asp Asn Val Met Gly Met Ile Gly Ile Leu 450 455 460	1392
cct gac atg acc cca agc acc gag atg tca ttg aga gga gtg aga gtc Pro Asp Met Thr Pro Ser Thr Glu Met Ser Leu Arg Gly Val Arg Val 465 470 475 480	1440
agc aaa atg gga gtg gat gag tac tcc agc act gag aga gtg gtg gtg Ser Lys Met Gly Val Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Glu Arg Val Val Val 485 490 495	1488
agc att gac cgt ttt tta aga gtt cgg gat caa agg gga aac ata cta Ser Ile Asp Arg Phe Leu Arg Val Arg Asp Gln Arg Gly Asn Ile Leu 500 505 510	1536
ctg tcc cct gaa gaa gtc agt gaa aca caa gga acg gaa aag ctg aca Leu Ser Pro Glu Glu Val Ser Glu Thr Gln Gly Thr Glu Lys Leu Thr 515 520 525	1584

[0005]

ata att tat tcg tca tca atg atg tgg gag att aat ggt ccc gaa tca Ile Ile Tyr Ser Ser Ser Met Met Trp Glu Ile Asn Gly Pro Glu Ser 530 535 540	1632
gtg ttg gtc aat act tat caa tgg atc atc agg aac tgg gaa att gta Val Leu Val Asn Thr Tyr Gln Trp Ile Ile Arg Asn Trp Glu Ile Val 545 550 555 560	1680
aaa att cag tgg tca cag gac ccc aca atg tta tac aat aag ata gaa Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu 565 570 575	1728
ttt gag cca ttc caa tcc ctg gtc cct agg gcc acc aga agc caa tac Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr 580 585 590	1776
agc ggt ttc gta aga acc ctg ttt cag caa atg cga gat gta ctt gga Ser Gly Phe Val Arg Thr Leu Phe Gln Gln Met Arg Asp Val Leu Gly 595 600 605	1824
aca ttt gat act gct caa ata ata aaa ctc ctc cct ttt gcc gct gct Thr Phe Asp Thr Ala Gln Ile Ile Lys Leu Leu Pro Phe Ala Ala Ala 610 615 620	1872
cct ccg gaa cag agt agg atg cag ttc tct tct ttg act gtt aat gta Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val 625 630 635 640	1920
aga ggt tcg gga atg agg ata ctt gta aga ggc aat tcc cca gtg ttc Arg Gly Ser Gly Met Arg Ile Leu Val Arg Gly Asn Ser Pro Val Phe 645 650 655	1968
aac tac aat aaa gcc act aaa agg ctc aca gtc ctc gga aag gat gca Asn Tyr Asn Lys Ala Thr Lys Arg Leu Thr Val Leu Gly Lys Asp Ala 660 665 670	2016
ggc ggc ctt act gag gac cca gat gaa ggt acg gct gga gta gaa tct Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser 675 680 685	2064
gct gtt cta aga ggg ttt ctc att tta ggt aaa gag aac aag aga tat Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr 690 695 700	2112

[0006]

ggc cca gca cta agc atc aat gaa cta agc aaa ctt gca aaa ggg gag 2160
Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu
705 710 715 720

aaa gcc aat gta cta att ggg caa ggg gac gta gtg ttg gta atg aaa 2208
Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Val Val Leu Val Met Lys
725 730 735

cgg aaa cgt gac tct agc ata ctt act gac agc cag aca gcg acc aaa 2256
Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys
740 745 750

agg att cgg atg gcc atc aat 2277
Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn
755

<210> 2

<211> 759

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 2

Met Glu Arg Ile Glu Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr
1 5 10 15

Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys
20 25 30

Lys Tyr Thr Ser Glu Arg Gln Glu Lys Asn Pro Ala Leu Arg Met Lys
35 40 45

Trp Met Met Ala Met Lys Tyr Pro Ile Thr Ala Asp Lys Arg Ile Met
50 55 60

Glu Met Ile Pro Glu Arg Asn Glu Gln Gly Gln Thr Leu Trp Ser Lys
65 70 75 80

[0007]

Thr Asn Asp Ala Gly Ser Asp Arg Val Met Val Ser Pro Leu Ala Val
85 90 95

Thr Trp Trp Asn Arg Asn Gly Pro Thr Thr Ser Thr Ile His Tyr Pro
100 105 110

Lys Val Tyr Lys Thr Tyr Phe Glu Lys Val Glu Arg Leu Lys His Gly
115 120 125

Thr Phe Gly Pro Val His Phe Arg Asn Gln Val Lys Ile Arg Arg Arg
130 135 140

Val Asp Val Asn Pro Gly His Ala Asp Leu Ser Ala Lys Glu Ala Gln
145 150 155 160

Asp Val Ile Met Glu Val Val Phe Pro Asn Glu Val Gly Ala Ile Ile
165 170 175

Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu
180 185 190

Leu Gln Asp Cys Lys Ile Ala Pro Leu Met Val Ala Tyr Met Leu Glu
195 200 205

Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Ala Gly Gly Thr
210 215 220

Ser Ser Val Tyr Ile Glu Val Leu His Leu Thr Gln Gly Thr Cys Trp
225 230 235 240

Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Glu Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp
245 250 255

[0008]

Gln Ser Leu Ile Ile Ala Ala Arg Asn Ile Val Arg Arg Ala Thr Val
260 265 270

Ser Ala Asp Pro Leu Ala Ser Leu Leu Glu Met Cys His Ser Thr Gln
275 280 285

Ile Gly Gly Ile Arg Met Val Asp Ile Leu Lys Gln Asn Pro Thr Glu
290 295 300

Glu Gln Ala Val Asp Ile Cys Lys Ala Ala Met Gly Leu Arg Ile Ser
305 310 315 320

Ser Ser Phe Ser Phe Gly Gly Phe Thr Phe Lys Arg Thr Ser Gly Ser
325 330 335

Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu
340 345 350

Lys Ile Arg Val His Glu Gly Tyr Glu Glu Phe Thr Met Val Gly Arg
355 360 365

Arg Ala Thr Ala Ile Ile Lys Lys Ala Thr Arg Arg Leu Ile Gln Leu
370 375 380

Ile Val Ser Gly Arg Asp Glu Gln Ser Ile Ala Glu Ala Ile Ile Val
385 390 395 400

Ala Met Val Phe Ser Gln Glu Asp Cys Met Ile Lys Ala Val Arg Gly
405 410 415

Asp Leu Asn Phe Val Asn Arg Ala Asn Gln Arg Leu Asn Pro Met His
420 425 430

[0009]

Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe His Asn
435 440 445

Trp Gly Ile Glu Pro Ile Asp Asn Val Met Gly Met Ile Gly Ile Leu
450 455 460

Pro Asp Met Thr Pro Ser Thr Glu Met Ser Leu Arg Gly Val Arg Val
465 470 475 480

Ser Lys Met Gly Val Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Glu Arg Val Val Val
485 490 495

Ser Ile Asp Arg Phe Leu Arg Val Arg Asp Gln Arg Gly Asn Ile Leu
500 505 510

Leu Ser Pro Glu Glu Val Ser Glu Thr Gln Gly Thr Glu Lys Leu Thr
515 520 525

Ile Ile Tyr Ser Ser Ser Met Met Trp Glu Ile Asn Gly Pro Glu Ser
530 535 540

Val Leu Val Asn Thr Tyr Gln Trp Ile Ile Arg Asn Trp Glu Ile Val
545 550 555 560

Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu
565 570 575

Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr
580 585 590

Ser Gly Phe Val Arg Thr Leu Phe Gln Gln Met Arg Asp Val Leu Gly
595 600 605

[0010]

Thr Phe Asp Thr Ala Gln Ile Ile Lys Leu Leu Pro Phe Ala Ala Ala
610 615 620

Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val
625 630 635 640

Arg Gly Ser Gly Met Arg Ile Leu Val Arg Gly Asn Ser Pro Val Phe
645 650 655

Asn Tyr Asn Lys Ala Thr Lys Arg Leu Thr Val Leu Gly Lys Asp Ala
660 665 670

Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser
675 680 685

Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr
690 695 700

Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu
705 710 715 720

Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Val Val Leu Val Met Lys
725 730 735

Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys
740 745 750

Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn
755

<210> 3

<211> 2274

<212> DNA

[0011]

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2274)

<400> 3

atg gat gtc aat ccg act cta ctc ttc tta aag gtg cca gcg cag aat	48
Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn	
1 5 10 15	

gct ata agc aca aca ttc cct tat act gga gat cct ccc tac agt cat	96
Ala Ile Ser Thr Thr Phe Pro Tyr Thr Gly Asp Pro Pro Tyr Ser His	
20 25 30	

gga aca ggg aca gga tac acc atg gat act gtc aac aga aca cac caa	144
Gly Thr Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Thr Val Asn Arg Thr His Gln	
35 40 45	

tat tca gaa aaa ggg aaa tgg aca aca aac act gag att gga gca cca	192
Tyr Ser Glu Lys Gly Lys Trp Thr Thr Asn Thr Glu Ile Gly Ala Pro	
50 55 60	

caa ctt aat cca atc gat gga cca ctt cct gaa gac aat gaa cca agc	240
Gln Leu Asn Pro Ile Asp Gly Pro Leu Pro Glu Asp Asn Glu Pro Ser	
65 70 75 80	

ggg tac gcc caa aca gat tgt gta ttg gaa gca atg gct ttc ctt gaa	288
Gly Tyr Ala Gln Thr Asp Cys Val Leu Glu Ala Met Ala Phe Leu Glu	
85 90 95	

gaa tcc cat cca gga atc ttt gaa aat tcg tgt ctt gaa acg atg gag	336
Glu Ser His Pro Gly Ile Phe Glu Asn Ser Cys Leu Glu Thr Met Glu	
100 105 110	

gtg att cag cag aca aga gtg gac aaa cta aca caa ggc cga caa act	384
Val Ile Gln Gln Thr Arg Val Asp Lys Leu Thr Gln Gly Arg Gln Thr	
115 120 125	

tat gat tgg acc ttg aat agg aat caa cct gcc gca aca gca ctt gct	432
Tyr Asp Trp Thr Leu Asn Arg Asn Gln Pro Ala Ala Thr Ala Leu Ala	
130 135 140	

[0012]

aat acg att gaa gta ttc aga tca aat ggt ctg act tcc aat gaa tcg Asn Thr Ile Glu Val Phe Arg Ser Asn Gly Leu Thr Ser Asn Glu Ser 145 150 155 160	480
ggg aga ttg atg gac ttc ctc aaa gat gtc atg gag tcc atg aac aag Gly Arg Leu Met Asp Phe Leu Lys Asp Val Met Glu Ser Met Asn Lys 165 170 175	528
gaa gaa atg gaa ata aca aca cac ttc caa cgg aag aga aga gta aga Glu Glu Met Glu Ile Thr Thr His Phe Gln Arg Lys Arg Arg Val Arg 180 185 190	576
gac aac atg aca aag aga atg gta aca cag aga acc ata ggg aag aaa Asp Asn Met Thr Lys Arg Met Val Thr Gln Arg Thr Ile Gly Lys Lys 195 200 205	624
aaa caa cga tta aac aga aag agc tat cta atc aga aca tta acc cta Lys Gln Arg Leu Asn Arg Lys Ser Tyr Leu Ile Arg Thr Leu Thr Leu 210 215 220	672
aac aca atg acc aag gac gct gag aga ggg aaa ttg aaa cga cga gca Asn Thr Met Thr Lys Asp Ala Glu Arg Gly Lys Leu Lys Arg Arg Ala 225 230 235 240	720
atc gct acc cca ggg atg cag ata aga ggg ttt gta tat ttt gtt gaa Ile Ala Thr Pro Gly Met Gln Ile Arg Gly Phe Val Tyr Phe Val Glu 245 250 255	768
aca cta gct cga aga ata tgt gaa aag ctt gaa caa tca gga ttg cca Thr Leu Ala Arg Arg Ile Cys Glu Lys Leu Glu Gln Ser Gly Leu Pro 260 265 270	816
gtt ggc ggt aat gag aaa aag gcc aaa ctg gct aat gtc gtc aga aaa Val Gly Gly Asn Glu Lys Lys Ala Lys Leu Ala Asn Val Val Arg Lys 275 280 285	864
atg atg act aat tcc caa gac act gaa ctc tcc ttc acc atc act ggg Met Met Thr Asn Ser Gln Asp Thr Glu Leu Ser Phe Thr Ile Thr Gly 290 295 300	912
gac aat acc aaa tgg aat gaa aat cag aac cca cgc ata ttc ctg gca Asp Asn Thr Lys Trp Asn Glu Asn Gln Asn Pro Arg Ile Phe Leu Ala 305 310 315 320	960

[0013]

atg atc aca tac ata act aga aac cag cca gaa tgg ttc aga aat gtt	1008
Met Ile Thr Tyr Ile Thr Arg Asn Gln Pro Glu Trp Phe Arg Asn Val	
325 330 335	
cta agc att gca ccg att atg ttc tca aat aaa atg gca aga ctg ggg	1056
Leu Ser Ile Ala Pro Ile Met Phe Ser Asn Lys Met Ala Arg Leu Gly	
340 345 350	
aaa gga tat atg ttt gaa agc aaa agt atg aaa ttg aga act caa ata	1104
Lys Gly Tyr Met Phe Glu Ser Lys Ser Met Lys Leu Arg Thr Gln Ile	
355 360 365	
cca gca gaa atg cta gca agc att gac cta aaa tat ttc aat gat tca	1152
Pro Ala Glu Met Leu Ala Ser Ile Asp Leu Lys Tyr Phe Asn Asp Ser	
370 375 380	
aca aaa aag aaa att gag aag ata cga cca ctt ctg gtt gac ggg act	1200
Thr Lys Lys Lys Ile Glu Lys Ile Arg Pro Leu Leu Val Asp Gly Thr	
385 390 395 400	
gct tca ctg agt cct ggc atg atg atg gga atg ttc aac atg ttg agc	1248
Ala Ser Leu Ser Pro Gly Met Met Met Gly Met Phe Asn Met Leu Ser	
405 410 415	
act gtg ctg ggt gta tcc ata tta aac ctg ggc cag agg aaa tac aca	1296
Thr Val Leu Gly Val Ser Ile Leu Asn Leu Gly Gln Arg Lys Tyr Thr	
420 425 430	
aag acc aca tac tgg tgg gat ggt ctg caa tca tcc gat gac ttt gct	1344
Lys Thr Thr Tyr Trp Trp Asp Gly Leu Gln Ser Ser Asp Asp Phe Ala	
435 440 445	
ttg ata gtg aat gcg cct aat cat gaa gga gta caa gct gga gta gac	1392
Leu Ile Val Asn Ala Pro Asn His Glu Gly Val Gln Ala Gly Val Asp	
450 455 460	
aga ttc tat aga act tgc aaa ctg gtc ggg atc aac atg agc aaa aag	1440
Arg Phe Tyr Arg Thr Cys Lys Leu Val Gly Ile Asn Met Ser Lys Lys	
465 470 475 480	
aag tcc tac ata aat aga act gga aca ttc gaa ttc aca agc ttt ttc	1488
Lys Ser Tyr Ile Asn Arg Thr Gly Thr Phe Glu Phe Thr Ser Phe Phe	
485 490 495	

[0014]

tac cgg tat ggt ttt gta gcc aat ttc agc atg gaa cta ccc agt ttt Tyr Arg Tyr Gly Phe Val Ala Asn Phe Ser Met Glu Leu Pro Ser Phe 500 505 510	1536
ggg gtt tcc gga ata aat gaa tct gca gac atg agc att gga gtg aca Gly Val Ser Gly Ile Asn Glu Ser Ala Asp Met Ser Ile Gly Val Thr 515 520 525	1584
gtc atc aaa aac aac atg ata aat aat gat ctc ggt cct gcc acg gca Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala 530 535 540	1632
caa atg gca ctc caa ctc ttc att aag gat tat cgg tac aca tac cgg Gln Met Ala Leu Gln Leu Phe Ile Lys Asp Tyr Arg Tyr Thr Tyr Arg 545 550 555 560	1680
tgc cat aga ggt gat acc cag ata caa acc aga aga tct ttt gag ttg Cys His Arg Gly Asp Thr Gln Ile Gln Thr Arg Arg Ser Phe Glu Leu 565 570 575	1728
aag aaa ctg tgg gaa cag act cga tca aag act ggt cta ctg gta tca Lys Lys Leu Trp Glu Gln Thr Arg Ser Lys Thr Gly Leu Leu Val Ser 580 585 590	1776
gat ggg ggt cca aac cta tat aac atc aga aac cta cac atc ccg gaa Asp Gly Gly Pro Asn Leu Tyr Asn Ile Arg Asn Leu His Ile Pro Glu 595 600 605	1824
gtc tgt tta aaa tgg gag cta atg gat gaa gat tat aag ggg agg cta Val Cys Leu Lys Trp Glu Leu Met Asp Glu Asp Tyr Lys Gly Arg Leu 610 615 620	1872
tgc aat cca ttg aat cct ttc gtt agt cac aaa gaa att gaa tca gtc Cys Asn Pro Leu Asn Pro Phe Val Ser His Lys Glu Ile Glu Ser Val 625 630 635 640	1920
aac agt gca gta gta atg cct gcg cat ggc cct gcc aaa agc atg gag Asn Ser Ala Val Val Met Pro Ala His Gly Pro Ala Lys Ser Met Glu 645 650 655	1968
tat gat gct gtt gca aca aca cat tct tgg atc ccc aag agg aac cgg Tyr Asp Ala Val Ala Thr Thr His Ser Trp Ile Pro Lys Arg Asn Arg 660 665 670	2016

[0015]

tcc ata ttg aac aca agc caa agg gga gta ctc gaa gat gag cag atg 2064
Ser Ile Leu Asn Thr Ser Gln Arg Gly Val Leu Glu Asp Glu Gln Met
675 680 685

tat cag aaa tgc tgc aac ctg ttt gaa aaa ttc ttc ccc agc agc tca 2112
Tyr Gln Lys Cys Cys Asn Leu Phe Glu Lys Phe Phe Pro Ser Ser Ser
690 695 700

tac aga aga cca gtc gga att tct agt atg gtt gag gcc atg gtg tcc 2160
Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser
705 710 715 720

agg gcc cgc att gat gca cga att gac ttc gaa tct gga cgg ata aag 2208
Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys
725 730 735

aag gat gag ttc gct gag atc atg aag atc tgt tcc acc att gaa gag 2256
Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu
740 745 750

ctc aga cgg caa aaa tag 2274
Leu Arg Arg Gln Lys
755

<210> 4

<211> 757

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 4

Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn
1 5 10 15

Ala Ile Ser Thr Thr Phe Pro Tyr Thr Gly Asp Pro Pro Tyr Ser His
20 25 30

Gly Thr Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Thr Val Asn Arg Thr His Gln
35 40 45

[0016]

Tyr Ser Glu Lys Gly Lys Trp Thr Thr Asn Thr Glu Ile Gly Ala Pro
50 55 60

Gln Leu Asn Pro Ile Asp Gly Pro Leu Pro Glu Asp Asn Glu Pro Ser
65 70 75 80

Gly Tyr Ala Gln Thr Asp Cys Val Leu Glu Ala Met Ala Phe Leu Glu
85 90 95

Glu Ser His Pro Gly Ile Phe Glu Asn Ser Cys Leu Glu Thr Met Glu
100 105 110

Val Ile Gln Gln Thr Arg Val Asp Lys Leu Thr Gln Gly Arg Gln Thr
115 120 125

Tyr Asp Trp Thr Leu Asn Arg Asn Gln Pro Ala Ala Thr Ala Leu Ala
130 135 140

Asn Thr Ile Glu Val Phe Arg Ser Asn Gly Leu Thr Ser Asn Glu Ser
145 150 155 160

Gly Arg Leu Met Asp Phe Leu Lys Asp Val Met Glu Ser Met Asn Lys
165 170 175

Glu Glu Met Glu Ile Thr Thr His Phe Gln Arg Lys Arg Arg Val Arg
180 185 190

Asp Asn Met Thr Lys Arg Met Val Thr Gln Arg Thr Ile Gly Lys Lys
195 200 205

Lys Gln Arg Leu Asn Arg Lys Ser Tyr Leu Ile Arg Thr Leu Thr Leu
210 215 220

[0017]

Asn Thr Met Thr Lys Asp Ala Glu Arg Gly Lys Leu Lys Arg Arg Ala
225 230 235 240

Ile Ala Thr Pro Gly Met Gln Ile Arg Gly Phe Val Tyr Phe Val Glu
245 250 255

Thr Leu Ala Arg Arg Ile Cys Glu Lys Leu Glu Gln Ser Gly Leu Pro
260 265 270

Val Gly Gly Asn Glu Lys Lys Ala Lys Leu Ala Asn Val Val Arg Lys
275 280 285

Met Met Thr Asn Ser Gln Asp Thr Glu Leu Ser Phe Thr Ile Thr Gly
290 295 300

Asp Asn Thr Lys Trp Asn Glu Asn Gln Asn Pro Arg Ile Phe Leu Ala
305 310 315 320

Met Ile Thr Tyr Ile Thr Arg Asn Gln Pro Glu Trp Phe Arg Asn Val
325 330 335

Leu Ser Ile Ala Pro Ile Met Phe Ser Asn Lys Met Ala Arg Leu Gly
340 345 350

Lys Gly Tyr Met Phe Glu Ser Lys Ser Met Lys Leu Arg Thr Gln Ile
355 360 365

Pro Ala Glu Met Leu Ala Ser Ile Asp Leu Lys Tyr Phe Asn Asp Ser
370 375 380

Thr Lys Lys Lys Ile Glu Lys Ile Arg Pro Leu Leu Val Asp Gly Thr
385 390 395 400

[0018]

Ala Ser Leu Ser Pro Gly Met Met Met Gly Met Phe Asn Met Leu Ser
405 410 415

Thr Val Leu Gly Val Ser Ile Leu Asn Leu Gly Gln Arg Lys Tyr Thr
420 425 430

Lys Thr Thr Tyr Trp Trp Asp Gly Leu Gln Ser Ser Asp Asp Phe Ala
435 440 445

Leu Ile Val Asn Ala Pro Asn His Glu Gly Val Gln Ala Gly Val Asp
450 455 460

Arg Phe Tyr Arg Thr Cys Lys Leu Val Gly Ile Asn Met Ser Lys Lys
465 470 475 480

Lys Ser Tyr Ile Asn Arg Thr Gly Thr Phe Glu Phe Thr Ser Phe Phe
485 490 495

Tyr Arg Tyr Gly Phe Val Ala Asn Phe Ser Met Glu Leu Pro Ser Phe
500 505 510

Gly Val Ser Gly Ile Asn Glu Ser Ala Asp Met Ser Ile Gly Val Thr
515 520 525

Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala
530 535 540

Gln Met Ala Leu Gln Leu Phe Ile Lys Asp Tyr Arg Tyr Thr Tyr Arg
545 550 555 560

Cys His Arg Gly Asp Thr Gln Ile Gln Thr Arg Arg Ser Phe Glu Leu
565 570 575

[0019]

Lys Lys Leu Trp Glu Gln Thr Arg Ser Lys Thr Gly Leu Leu Val Ser
580 585 590

Asp Gly Gly Pro Asn Leu Tyr Asn Ile Arg Asn Leu His Ile Pro Glu
595 600 605

Val Cys Leu Lys Trp Glu Leu Met Asp Glu Asp Tyr Lys Gly Arg Leu
610 615 620

Cys Asn Pro Leu Asn Pro Phe Val Ser His Lys Glu Ile Glu Ser Val
625 630 635 640

Asn Ser Ala Val Val Met Pro Ala His Gly Pro Ala Lys Ser Met Glu
645 650 655

Tyr Asp Ala Val Ala Thr Thr His Ser Trp Ile Pro Lys Arg Asn Arg
660 665 670

Ser Ile Leu Asn Thr Ser Gln Arg Gly Val Leu Glu Asp Glu Gln Met
675 680 685

Tyr Gln Lys Cys Cys Asn Leu Phe Glu Lys Phe Phe Pro Ser Ser Ser
690 695 700

Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser
705 710 715 720

Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys
725 730 735

Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu
740 745 750

[0020]

Leu Arg Arg Gln Lys
755

<210> 5
<211> 2151
<212> DNA
<213> 流感病毒

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(2151)

<400> 5
atg gaa gac ttt gtg cga cag tgc ttc aat cca atg atc gtc gag ctt 48
Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu
1 5 10 15

gcg gaa aag gca atg aaa gaa tat gga gag aac ccg aaa atc gaa aca 96
Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr
20 25 30

aac aaa ttt gca gca ata tgc act cac ttg gaa gtc tgc ttc atg tac 144
Asn Lys Phe Ala Ala Ile Cys Thr His Leu Glu Val Cys Phe Met Tyr
35 40 45

tcg gat ttt cac ttt att aat gaa ctg ggt gag tca gtg gtc ata gag 192
Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu
50 55 60

tct ggt gac cca aat gct ctt ttg aaa cac aga ttt gaa atc att gag 240
Ser Gly Asp Pro Asn Ala Leu Leu Lys His Arg Phe Glu Ile Ile Glu
65 70 75 80

ggg aga gat cga aca atg gca tgg aca gta gta aac agc atc tgc aac 288
Gly Arg Asp Arg Thr Met Ala Trp Thr Val Val Asn Ser Ile Cys Asn
85 90 95

acc aca aga gct gaa aaa cct aaa ttt ctt cca gat tta tac gac tat 336
Thr Thr Arg Ala Glu Lys Pro Lys Phe Leu Pro Asp Leu Tyr Asp Tyr
100 105 110

aag gag aac aga ttt gtt gaa att ggt gtg aca agg aga gaa gtt cac 384

[0021]

Lys Glu Asn Arg Phe Val Glu Ile Gly Val Thr Arg Arg Glu Val His			
115	120	125	
ata tac tac ctg gag aag gcc aac aaa ata aag tct gag aaa aca cat	432		
Ile Tyr Tyr Leu Glu Lys Ala Asn Lys Ile Lys Ser Glu Lys Thr His			
130	135	140	
atc cac att ttc tca ttt aca gga gag gaa atg gct aca aaa gcg gac	480		
Ile His Ile Phe Ser Phe Thr Gly Glu Glu Met Ala Thr Lys Ala Asp			
145	150	155	160
tat act ctt gat gaa gag agt aga gcc agg atc aag acc aga cta ttc	528		
Tyr Thr Leu Asp Glu Glu Ser Arg Ala Arg Ile Lys Thr Arg Leu Phe			
165	170	175	
acc ata aga caa gaa atg gcc agt aga ggc ctc tgg gat tcc ttt cgt	576		
Thr Ile Arg Gln Glu Met Ala Ser Arg Gly Leu Trp Asp Ser Phe Arg			
180	185	190	
cag tcc gag aga ggc gaa gag aca att gaa gaa aga ttt gaa ata aca	624		
Gln Ser Glu Arg Gly Glu Glu Thr Ile Glu Glu Arg Phe Glu Ile Thr			
195	200	205	
ggg acg atg cgc aag ctt gcc aat tac agt ctc cca ccg aac ttc tcc	672		
Gly Thr Met Arg Lys Leu Ala Asn Tyr Ser Leu Pro Pro Asn Phe Ser			
210	215	220	
agc ctt gaa aat ttt aga gtc tat gtg gat gga ttc gaa ccg aac ggc	720		
Ser Leu Glu Asn Phe Arg Val Tyr Val Asp Gly Phe Glu Pro Asn Gly			
225	230	235	240
tgc att gag agt aag ctt tct caa atg tcc aaa gaa gta aat gcc aga	768		
Cys Ile Glu Ser Lys Leu Ser Gln Met Ser Lys Glu Val Asn Ala Arg			
245	250	255	
atc gaa cca ttt tca aag aca aca ccc cga cca ctc aaa atg cca ggt	816		
Ile Glu Pro Phe Ser Lys Thr Thr Pro Arg Pro Leu Lys Met Pro Gly			
260	265	270	
ggt cca ccc tgc cat cag cga tct aaa ttc ttg cta atg gat gct ctg	864		
Gly Pro Pro Cys His Gln Arg Ser Lys Phe Leu Leu Met Asp Ala Leu			
275	280	285	
aaa ctg agc att gag gac cca agt cac gag gga gag gga ata cca cta	912		

[0022]

Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu	
290 295 300	
tat gat gca atc aaa tgc atg aaa act ttc ttt gga tgg aaa gag ccc	960
Tyr Asp Ala Ile Lys Cys Met Lys Thr Phe Phe Gly Trp Lys Glu Pro	
305 310 315 320	
agt att gtt aaa cca cat gaa aag ggt ata aac ccg aac tat ctc caa	1008
Ser Ile Val Lys Pro His Glu Lys Gly Ile Asn Pro Asn Tyr Leu Gln	
325 330 335	
act tgg aag caa gta tta gaa gaa ata caa gac ctt gag aac gaa gaa	1056
Thr Trp Lys Gln Val Leu Glu Glu Ile Gln Asp Leu Glu Asn Glu Glu	
340 345 350	
agg acc ccc aag acc aag aat atg aaa aaa aca agc caa ttg aaa tgg	1104
Arg Thr Pro Lys Thr Lys Asn Met Lys Lys Thr Ser Gln Leu Lys Trp	
355 360 365	
gca cta ggt gaa aat atg gca cca gag aaa gtg gat ttt gag gat tgt	1152
Ala Leu Gly Glu Asn Met Ala Pro Glu Lys Val Asp Phe Glu Asp Cys	
370 375 380	
aaa gac atc aat gat tta aaa caa tat gac agt gat gag cca gaa gca	1200
Lys Asp Ile Asn Asp Leu Lys Gln Tyr Asp Ser Asp Glu Pro Glu Ala	
385 390 395 400	
agg tct ctt gca agt tgg att caa agt gag ttc aac aaa gct tgt gag	1248
Arg Ser Leu Ala Ser Trp Ile Gln Ser Glu Phe Asn Lys Ala Cys Glu	
405 410 415	
ctg aca gat tca agc tgg ata gag ctc gat gaa att ggg gag gat gtc	1296
Leu Thr Asp Ser Ser Trp Ile Glu Leu Asp Glu Ile Gly Glu Asp Val	
420 425 430	
gcc cca ata gaa tac att gcg agc atg agg aga aat tat ttt act gct	1344
Ala Pro Ile Glu Tyr Ile Ala Ser Met Arg Arg Asn Tyr Phe Thr Ala	
435 440 445	
gag att tcc cat tgt aga gca aca gaa tat ata ata aaa gga gtg tac	1392
Glu Ile Ser His Cys Arg Ala Thr Glu Tyr Ile Ile Lys Gly Val Tyr	
450 455 460	
atc aac act gct cta ctc aat gca tcc tgt gct gcg atg gat gaa ttt	1440

[0023]

Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe			
465	470	475	480
caa tta att ccg atg ata agt aaa tgc agg acc aaa gaa ggg aga agg			1488
Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg			
	485	490	495
aaa aca aat tta tat gga ttc ata ata aag gga agg tcc cat tta aga			1536
Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg			
	500	505	510
aat gat act gac gtg gtg aac ttt gta agt atg gaa ttt tct ctc act			1584
Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr			
	515	520	525
gat cca aga ttt gag cca cac aaa tgg gaa aaa tac tgc gtt cta gaa			1632
Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu			
	530	535	540
att gga gac atg ctt cta aga act gct gta ggt caa gtg tca aga ccc			1680
Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro			
	545	550	555
atg ttt ttg tat gta agg aca aat gga acc tct aaa att aaa atg aaa			1728
Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys			
	565	570	575
tgg gga atg gaa atg agg cgc tgc ctc ctt cag tct ctg caa cag att			1776
Trp Gly Met Glu Met Arg Arg Cys Leu Leu Gln Ser Leu Gln Gln Ile			
	580	585	590
gaa agc atg atc gaa gct gag tcc tca gtc aaa gaa aag gac atg acc			1824
Glu Ser Met Ile Glu Ala Glu Ser Ser Val Lys Glu Lys Asp Met Thr			
	595	600	605
aaa gaa ttt ttt gag aac aaa tca gag aca tgg cct ata gga gag tcc			1872
Lys Glu Phe Phe Glu Asn Lys Ser Glu Thr Trp Pro Ile Gly Glu Ser			
	610	615	620
ccc aaa gga gtg gaa gag ggc tca atc ggg aag gtt tgc agg acc tta			1920
Pro Lys Gly Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Lys Val Cys Arg Thr Leu			
	625	630	635
tta gca aaa tct gtg ttt aac agt tta tat gca tct cca caa ctg gaa			1968

[0024]

Leu Ala Lys Ser Val Phe Asn Ser Leu Tyr Ala Ser Pro Gln Leu Glu
645 650 655

ggg ttt tca gct gaa tct agg aaa tta ctt ctc att gtt cag gct ctt 2016
Gly Phe Ser Ala Glu Ser Arg Lys Leu Leu Leu Ile Val Gln Ala Leu
660 665 670

aag gat gac ctg gaa cct gga acc ttt gat att ggg ggg tta tat gaa 2064
Lys Asp Asp Leu Glu Pro Gly Thr Phe Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Glu
675 680 685

tca att gag gag tgc ctg att aat gat ccc tgg gtt ttg ctt aat gca 2112
Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala
690 695 700

tct tgg ttc aac tcc ttc ctt aca cat gca ctg aag tag 2151
Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys
705 710 715

<210> 6
<211> 716
<212> PRT
<213> 流感病毒

<400> 6

Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu
1 5 10 15

Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr
20 25 30

Asn Lys Phe Ala Ala Ile Cys Thr His Leu Glu Val Cys Phe Met Tyr
35 40 45

Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu
50 55 60

Ser Gly Asp Pro Asn Ala Leu Leu Lys His Arg Phe Glu Ile Ile Glu

[0025]

65	70	75	80
Gly Arg Asp Arg Thr Met Ala Trp Thr Val Val Asn Ser Ile Cys Asn			
85	90	95	
Thr Thr Arg Ala Glu Lys Pro Lys Phe Leu Pro Asp Leu Tyr Asp Tyr			
100	105	110	
Lys Glu Asn Arg Phe Val Glu Ile Gly Val Thr Arg Arg Glu Val His			
115	120	125	
Ile Tyr Tyr Leu Glu Lys Ala Asn Lys Ile Lys Ser Glu Lys Thr His			
130	135	140	
Ile His Ile Phe Ser Phe Thr Gly Glu Glu Met Ala Thr Lys Ala Asp			
145	150	155	160
Tyr Thr Leu Asp Glu Glu Ser Arg Ala Arg Ile Lys Thr Arg Leu Phe			
165	170	175	
Thr Ile Arg Gln Glu Met Ala Ser Arg Gly Leu Trp Asp Ser Phe Arg			
180	185	190	
Gln Ser Glu Arg Gly Glu Glu Thr Ile Glu Glu Arg Phe Glu Ile Thr			
195	200	205	
Gly Thr Met Arg Lys Leu Ala Asn Tyr Ser Leu Pro Pro Asn Phe Ser			
210	215	220	
Ser Leu Glu Asn Phe Arg Val Tyr Val Asp Gly Phe Glu Pro Asn Gly			
225	230	235	240
Cys Ile Glu Ser Lys Leu Ser Gln Met Ser Lys Glu Val Asn Ala Arg			

[0026]

245	250	255
Ile Glu Pro Phe Ser Lys Thr Thr Pro Arg Pro Leu Lys Met Pro Gly		
260	265	270
Gly Pro Pro Cys His Gln Arg Ser Lys Phe Leu Leu Met Asp Ala Leu		
275	280	285
Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu		
290	295	300
Tyr Asp Ala Ile Lys Cys Met Lys Thr Phe Phe Gly Trp Lys Glu Pro		
305	310	315 320
Ser Ile Val Lys Pro His Glu Lys Gly Ile Asn Pro Asn Tyr Leu Gln		
325	330	335
Thr Trp Lys Gln Val Leu Glu Glu Ile Gln Asp Leu Glu Asn Glu Glu		
340	345	350
Arg Thr Pro Lys Thr Lys Asn Met Lys Lys Thr Ser Gln Leu Lys Trp		
355	360	365
Ala Leu Gly Glu Asn Met Ala Pro Glu Lys Val Asp Phe Glu Asp Cys		
370	375	380
Lys Asp Ile Asn Asp Leu Lys Gln Tyr Asp Ser Asp Glu Pro Glu Ala		
385	390	395 400
Arg Ser Leu Ala Ser Trp Ile Gln Ser Glu Phe Asn Lys Ala Cys Glu		
405	410	415
Leu Thr Asp Ser Ser Trp Ile Glu Leu Asp Glu Ile Gly Glu Asp Val		

[0027]

420	425	430
Ala Pro Ile Glu Tyr Ile Ala Ser Met Arg Arg Asn Tyr Phe Thr Ala		
435	440	445
Glu Ile Ser His Cys Arg Ala Thr Glu Tyr Ile Ile Lys Gly Val Tyr		
450	455	460
Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe		
465	470	475 480
Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg		
485	490	495
Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg		
500	505	510
Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr		
515	520	525
Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu		
530	535	540
Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro		
545	550	555 560
Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys		
565	570	575
Trp Gly Met Glu Met Arg Arg Cys Leu Leu Gln Ser Leu Gln Gln Ile		
580	585	590
Glu Ser Met Ile Glu Ala Glu Ser Ser Val Lys Glu Lys Asp Met Thr		

[0028]

595

600

605

Lys Glu Phe Phe Glu Asn Lys Ser Glu Thr Trp Pro Ile Gly Glu Ser
610 615 620

Pro Lys Gly Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Lys Val Cys Arg Thr Leu
625 630 635 640

Leu Ala Lys Ser Val Phe Asn Ser Leu Tyr Ala Ser Pro Gln Leu Glu
645 650 655

Gly Phe Ser Ala Glu Ser Arg Lys Leu Leu Leu Ile Val Gln Ala Leu
660 665 670

Lys Asp Asp Leu Glu Pro Gly Thr Phe Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Glu
675 680 685

Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala
690 695 700

Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys
705 710 715

<210> 7

<211> 838

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (657)

<400> 7

atg gat tcc aac act gtg tca agc ttt cag gta gac tgt ttt ctt tgg
Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp

48

[0029]

1	5	10	15	
cat gtc cgc aaa cga ttc gca gac caa gaa ctg ggt gat gcc cca ttc				96
His Val Arg Lys Arg Phe Ala Asp Gln Glu Leu Gly Asp Ala Pro Phe				
20	25	30		
ctt gac cgg ctt cgc cga gac cag aag tcc cta agg gga aga ggt agc				144
Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser				
35	40	45		
act ctt ggt ctg gac atc gaa aca gcc act cat gca gga aag cag ata				192
Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr His Ala Gly Lys Gln Ile				
50	55	60		
gtg gag cag att ctg gaa aag gaa tca gat gag gca ctt aaa atg acc				240
Val Glu Gln Ile Leu Glu Lys Glu Ser Asp Glu Ala Leu Lys Met Thr				
65	70	75	80	
att gcc tct gtt cct act tca ctc tac tta act gac atg act ctt gat				288
Ile Ala Ser Val Pro Thr Ser Leu Tyr Leu Thr Asp Met Thr Leu Asp				
85	90	95		
gag atg tca aga gac tgg ttc atg ctc atg ccc aag caa aaa gta aca				336
Glu Met Ser Arg Asp Trp Phe Met Leu Met Pro Lys Gln Lys Val Thr				
100	105	110		
ggc tcc cta tgt ata aga atg gac cag gca atc atg gat aag aac atc				384
Gly Ser Leu Cys Ile Arg Met Asp Gln Ala Ile Met Asp Lys Asn Ile				
115	120	125		
ata ctt aaa gca aac ttt agt gtg att ttc gaa ggg ctg gaa aca cta				432
Ile Leu Lys Ala Asn Phe Ser Val Ile Phe Glu Gly Leu Glu Thr Leu				
130	135	140		
ata cta ctt aga gcc ttc acc gaa gaa gga gca gtc gtt ggc gaa att				480
Ile Leu Leu Arg Ala Phe Thr Glu Glu Gly Ala Val Val Gly Glu Ile				
145	150	155	160	
tca cca tta cct tct ctt cca gga cat act aat gag gat gtc aaa aat				528
Ser Pro Leu Pro Ser Leu Pro Gly His Thr Asn Glu Asp Val Lys Asn				
165	170	175		
gca att ggg gtc ctc atc gga gga ctt aaa tgg aat gat aat acg gtt				576
Ala Ile Gly Val Leu Ile Gly Gly Leu Lys Trp Asn Asp Asn Thr Val				

[0030]

180	185	190	
aga atc tct gaa act cta cag aga ttc gct tgg aga agc agt cat gag			624
Arg Ile Ser Glu Thr Leu Gln Arg Phe Ala Trp Arg Ser Ser His Glu			
195	200	205	
aat ggg aga cct tca ttc cct tca aag cag aaa tgaaaaatgg agagaacaat			677
Asn Gly Arg Pro Ser Phe Pro Ser Lys Gln Lys			
210	215		
taagccagaa atttgaagaa ataagatggt tgattgaaga agtgcgacat agattgaaaa			737
atacagaaaa tagttttgaa caaataacat ttatgcaagc cttacaacta ttgcttgaag			797
tagaacaaga gataagaact ttctcgtttc agcttattta a			838
<210> 8			
<211> 219			
<212> PRT			
<213> 流感病毒			
<400> 8			
Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp			
1	5	10	15
His Val Arg Lys Arg Phe Ala Asp Gln Glu Leu Gly Asp Ala Pro Phe			
20	25	30	
Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser			
35	40	45	
Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr His Ala Gly Lys Gln Ile			
50	55	60	
Val Glu Gln Ile Leu Glu Lys Glu Ser Asp Glu Ala Leu Lys Met Thr			
65	70	75	80

[0031]

Ile Ala Ser Val Pro Thr Ser Leu Tyr Leu Thr Asp Met Thr Leu Asp
85 90 95

Glu Met Ser Arg Asp Trp Phe Met Leu Met Pro Lys Gln Lys Val Thr
100 105 110

Gly Ser Leu Cys Ile Arg Met Asp Gln Ala Ile Met Asp Lys Asn Ile
115 120 125

Ile Leu Lys Ala Asn Phe Ser Val Ile Phe Glu Gly Leu Glu Thr Leu
130 135 140

Ile Leu Leu Arg Ala Phe Thr Glu Glu Gly Ala Val Val Gly Glu Ile
145 150 155 160

Ser Pro Leu Pro Ser Leu Pro Gly His Thr Asn Glu Asp Val Lys Asn
165 170 175

Ala Ile Gly Val Leu Ile Gly Gly Leu Lys Trp Asn Asp Asn Thr Val
180 185 190

Arg Ile Ser Glu Thr Leu Gln Arg Phe Ala Trp Arg Ser Ser His Glu
195 200 205

Asn Gly Arg Pro Ser Phe Pro Ser Lys Gln Lys
210 215

<210> 9

<211> 1497

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

[0032]

Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser	
165 170 175	
gga gcc gct ggt gct gca gta aaa ggt gtt gga aca atg gta atg gaa	576
Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu	
180 185 190	
ctc atc aga atg atc aaa cgc gga ata aat gat cgg aat ttc tgg aga	624
Leu Ile Arg Met Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg	
195 200 205	
ggt gaa aat ggt cga aaa acc aga att gct tat gaa aga atg tgc aat	672
Gly Glu Asn Gly Arg Lys Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn	
210 215 220	
atc ctc aaa ggg aaa ttt cag aca gca gca caa cgg gct atg atg gac	720
Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp	
225 230 235 240	
cag gtg agg gaa ggc cgc aat cct gga aac gct gag att gag gat ctc	768
Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu	
245 250 255	
att ttc ttg gca cga tca gca ctt att ttg aga gga tca gta gcc cat	816
Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His	
260 265 270	
aaa tca tgc cta cct gcc tgt gtt tat ggc ctt gca ata acc agt ggg	864
Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Ile Thr Ser Gly	
275 280 285	
tat gac ttt gag aag gaa gga tac tct ctg gtt gga att gat cct ttc	912
Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe	
290 295 300	
aaa cta ctc cag aac agt caa att ttc agt cta atc aga cca aaa gaa	960
Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu	
305 310 315 320	
aac cca gca cac aag agc cag ttg gtg tgg atg gca tgc cat tct gca	1008
Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala	
325 330 335	
gca ttt gag gac ctg aga gtt tta aat ttc att aga gga acc aaa gta	1056

[0034]

Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val	
340 345 350	
atc cca aga gga cag tta aca acc aga gga gtt caa att gct tca aat	1104
Ile Pro Arg Gly Gln Leu Thr Thr Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn	
355 360 365	
gaa aac atg gag aca ata aat tct agc aca ctt gaa ctg aga agc aaa	1152
Glu Asn Met Glu Thr Ile Asn Ser Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Lys	
370 375 380	
tat tgg gca ata agg acc aga agc gga gga aac acc agt caa cag aga	1200
Tyr Trp Ala Ile Arg Thr Arg Ser Gly Gly Asn Thr Ser Gln Gln Arg	
385 390 395 400	
gca tct gca gga cag ata agt gtg caa cct act ttc tca gta cag aga	1248
Ala Ser Ala Gly Gln Ile Ser Val Gln Pro Thr Phe Ser Val Gln Arg	
405 410 415	
aat cta ccc ttt gag aga gcg acc att atg gct gca ttc act ggt aac	1296
Asn Leu Pro Phe Glu Arg Ala Thr Ile Met Ala Ala Phe Thr Gly Asn	
420 425 430	
act gaa ggg agg act tcc gac atg aga acg gaa atc ata agg atg atg	1344
Thr Glu Gly Arg Thr Ser Asp Met Arg Thr Glu Ile Ile Arg Met Met	
435 440 445	
gaa aat gcc aaa tca gaa gat gtg tct ttc cag ggg cgg gga gtc ttc	1392
Glu Asn Ala Lys Ser Glu Asp Val Ser Phe Gln Gly Arg Gly Val Phe	
450 455 460	
gag ctc tcg gac gaa aag gca acg aac ccg atc gtg cct tcc ttt gac	1440
Glu Leu Ser Asp Glu Lys Ala Thr Asn Pro Ile Val Pro Ser Phe Asp	
465 470 475 480	
atg agc aat gaa ggg tct tat ttc ttc gga gac aat gct gag gag ttt	1488
Met Ser Asn Glu Gly Ser Tyr Phe Phe Gly Asp Asn Ala Glu Glu Phe	
485 490 495	
gac agt taa	1497
Asp Ser	

[0035]

<210> 10
<211> 498
<212> PRT
<213> 流感病毒

<400> 10

Met Ala Ser Gln Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Asp
1 5 10 15

Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met
20 25 30

Val Gly Gly Ile Gly Arg Phe Tyr Val Gln Met Cys Thr Glu Leu Lys
35 40 45

Leu Asn Asp His Glu Gly Arg Leu Ile Gln Asn Ser Ile Thr Ile Glu
50 55 60

Arg Met Val Leu Ser Ala Phe Asp Glu Arg Arg Asn Lys Tyr Leu Glu
65 70 75 80

Glu His Pro Ser Ala Gly Lys Asp Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Ile
85 90 95

Tyr Arg Arg Lys Asp Gly Lys Trp Met Arg Glu Leu Ile Leu His Asp
100 105 110

Lys Glu Glu Ile Met Arg Ile Trp Arg Gln Ala Asn Asn Gly Glu Asp
115 120 125

Ala Thr Ala Gly Leu Thr His Met Met Ile Trp His Ser Asn Leu Asn
130 135 140

Asp Thr Thr Tyr Gln Arg Thr Arg Ala Leu Val Arg Thr Gly Met Asp

[0036]

145	150	155	160
Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser			
	165	170	175
Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu			
	180	185	190
Leu Ile Arg Met Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg			
	195	200	205
Gly Glu Asn Gly Arg Lys Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn			
	210	215	220
Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp			
225	230	235	240
Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu			
	245	250	255
Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His			
	260	265	270
Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Ile Thr Ser Gly			
	275	280	285
Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe			
	290	295	300
Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu			
305	310	315	320
Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala			

[0037]

325	330	335
Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val		
340	345	350
Ile Pro Arg Gly Gln Leu Thr Thr Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn		
355	360	365
Glu Asn Met Glu Thr Ile Asn Ser Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Lys		
370	375	380
Tyr Trp Ala Ile Arg Thr Arg Ser Gly Gly Asn Thr Ser Gln Gln Arg		
385	390	395
400		
Ala Ser Ala Gly Gln Ile Ser Val Gln Pro Thr Phe Ser Val Gln Arg		
405	410	415
Asn Leu Pro Phe Glu Arg Ala Thr Ile Met Ala Ala Phe Thr Gly Asn		
420	425	430
Thr Glu Gly Arg Thr Ser Asp Met Arg Thr Glu Ile Ile Arg Met Met		
435	440	445
Glu Asn Ala Lys Ser Glu Asp Val Ser Phe Gln Gly Arg Gly Val Phe		
450	455	460
Glu Leu Ser Asp Glu Lys Ala Thr Asn Pro Ile Val Pro Ser Phe Asp		
465	470	475
480		
Met Ser Asn Glu Gly Ser Tyr Phe Phe Gly Asp Asn Ala Glu Glu Phe		
485	490	495
Asp Ser		

[0038]

<210> 11

<211> 1413

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1413)

<400> 11

atg aat cca aat caa aag ata ata gca att gga ttt gca tca ttg ggg 48

Met Asn Pro Asn Gln Lys Ile Ile Ala Ile Gly Phe Ala Ser Leu Gly

1

5

10

15

ata tta atc att aat gtc att ctc cat gta gtc agc att ata gta aca 96

Ile Leu Ile Ile Asn Val Ile Leu His Val Val Ser Ile Ile Val Thr

20

25

30

gta ctg gtc ctc aat aac aat aga aca gat ctg aac tgc aaa ggg acg 144

Val Leu Val Leu Asn Asn Asn Arg Thr Asp Leu Asn Cys Lys Gly Thr

35

40

45

atc ata aga aag tac aat gaa aca gta aga gta gaa aaa att act caa 192

Ile Ile Arg Lys Tyr Asn Glu Thr Val Arg Val Glu Lys Ile Thr Gln

50

55

60

tgg tat aat acc agt aca att aag tac ata gag aga cct tca aat gaa 240

Trp Tyr Asn Thr Ser Thr Ile Lys Tyr Ile Glu Arg Pro Ser Asn Glu

65

70

75

80

tac tac atg aac aac act gaa cca ctt tgt gag gcc caa ggc ttt gca 288

Tyr Tyr Met Asn Asn Thr Glu Pro Leu Cys Glu Ala Gln Gly Phe Ala

85

90

95

cca ttt tcc aaa gat aat gga ata cga att ggg tcg aga ggc cat gtt 336

Pro Phe Ser Lys Asp Asn Gly Ile Arg Ile Gly Ser Arg Gly His Val

100

105

110

ttt gtg ata aga gaa cct ttt gta tca tgt tcg ccc tca gaa tgt aga 384

Phe Val Ile Arg Glu Pro Phe Val Ser Cys Ser Pro Ser Glu Cys Arg

[0039]

115	120	125	
acc ttt ttc ctc aca cag ggc tca tta ctc aat gac aaa cat tct aac			432
Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn			
130	135	140	
ggc aca gta aag gac cga agt ccg tat agg act ttg atg agt gtc aaa			480
Gly Thr Val Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys			
145	150	155	160
ata ggg caa tca cct aat gta tat caa gct aga ttt gaa tcg gta gca			528
Ile Gly Gln Ser Pro Asn Val Tyr Gln Ala Arg Phe Glu Ser Val Ala			
165	170	175	
tgg tca gca aca gca tgc cat gat gga aaa aaa tgg atg aca gtt gga			576
Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly			
180	185	190	
gtc aca ggg ccc gac aat caa gca att gca gta gtg aac tat gga ggt			624
Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly			
195	200	205	
gtt ccg gtt gat att att aat tca tgg gca ggg gat att tta aga acc			672
Val Pro Val Asp Ile Ile Asn Ser Trp Ala Gly Asp Ile Leu Arg Thr			
210	215	220	
caa gaa tca tca tgc acc tgc att aaa gga gac tgt tat tgg gta atg			720
Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met			
225	230	235	240
act gat gga ccg gca aat agg caa gct aaa tat agg ata ttc aaa gca			768
Thr Asp Gly Pro Ala Asn Arg Gln Ala Lys Tyr Arg Ile Phe Lys Ala			
245	250	255	
aaa gat gga aga gta att gga cag act gat ata agt ttc aat ggg gga			816
Lys Asp Gly Arg Val Ile Gly Gln Thr Asp Ile Ser Phe Asn Gly Gly			
260	265	270	
cac ata gag gag tgt tct tgt tac ccc aat gaa ggg aag gtg gaa tgc			864
His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Asn Glu Gly Lys Val Glu Cys			
275	280	285	
ata tgc agg gac aat tgg act gga aca aat aga cca gtt ctg gta ata			912
Ile Cys Arg Asp Asn Trp Thr Gly Thr Asn Arg Pro Val Leu Val Ile			

[0040]

290	295	300	
tct tct gat cta tcg tac aca gtt gga tat ttg tgt gct ggc att ccc			960
Ser Ser Asp Leu Ser Tyr Thr Val Gly Tyr Leu Cys Ala Gly Ile Pro			
305	310	315	320
act gac act cct agg gga gag gat agt caa ttc aca ggc tca tgt aca			1008
Thr Asp Thr Pro Arg Gly Glu Asp Ser Gln Phe Thr Gly Ser Cys Thr			
325	330	335	
agt cct ttg gga aat aaa gga tac ggt gta aaa ggt ttc ggg ttt cga			1056
Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg			
340	345	350	
caa gga act gac gta tgg gcc gga agg aca att agt agg act tca aga			1104
Gln Gly Thr Asp Val Trp Ala Gly Arg Thr Ile Ser Arg Thr Ser Arg			
355	360	365	
tca gga ttc gaa ata ata aaa atc agg aat ggt tgg aca cag aac agt			1152
Ser Gly Phe Glu Ile Ile Lys Ile Arg Asn Gly Trp Thr Gln Asn Ser			
370	375	380	
aaa gac caa atc agg agg caa gtg att atc gat gac cca aat tgg tca			1200
Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser			
385	390	395	400
gga tat agc ggt tct ttc aca ttg ccg gtt gaa cta aca aaa aag gga			1248
Gly Tyr Ser Gly Ser Phe Thr Leu Pro Val Glu Leu Thr Lys Lys Gly			
405	410	415	
tgt ttg gtc ccc tgt ttc tgg gtt gaa atg att aga ggt aaa cct gaa			1296
Cys Leu Val Pro Cys Phe Trp Val Glu Met Ile Arg Gly Lys Pro Glu			
420	425	430	
gaa aca aca ata tgg acc tct agt agc tcc att gtg atg tgt gga gta			1344
Glu Thr Thr Ile Trp Thr Ser Ser Ser Ser Ile Val Met Cys Gly Val			
435	440	445	
gat cat aaa att gcc agt tgg tca tgg cac gat gga gct att ctt ccc			1392
Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro			
450	455	460	
ttt gac atc gat aag atg taa			1413
Phe Asp Ile Asp Lys Met			

[0041]

465

470

<210> 12

<211> 470

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 12

Met Asn Pro Asn Gln Lys Ile Ile Ala Ile Gly Phe Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Ile Leu Ile Ile Asn Val Ile Leu His Val Val Ser Ile Ile Val Thr
20 25 30

Val Leu Val Leu Asn Asn Asn Arg Thr Asp Leu Asn Cys Lys Gly Thr
35 40 45

Ile Ile Arg Lys Tyr Asn Glu Thr Val Arg Val Glu Lys Ile Thr Gln
50 55 60

Trp Tyr Asn Thr Ser Thr Ile Lys Tyr Ile Glu Arg Pro Ser Asn Glu
65 70 75 80

Tyr Tyr Met Asn Asn Thr Glu Pro Leu Cys Glu Ala Gln Gly Phe Ala
85 90 95

Pro Phe Ser Lys Asp Asn Gly Ile Arg Ile Gly Ser Arg Gly His Val
100 105 110

Phe Val Ile Arg Glu Pro Phe Val Ser Cys Ser Pro Ser Glu Cys Arg
115 120 125

Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn
130 135 140

[0042]

Gly Thr Val Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys
145 150 155 160

Ile Gly Gln Ser Pro Asn Val Tyr Gln Ala Arg Phe Glu Ser Val Ala
165 170 175

Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly
180 185 190

Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly
195 200 205

Val Pro Val Asp Ile Ile Asn Ser Trp Ala Gly Asp Ile Leu Arg Thr
210 215 220

Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met
225 230 235 240

Thr Asp Gly Pro Ala Asn Arg Gln Ala Lys Tyr Arg Ile Phe Lys Ala
245 250 255

Lys Asp Gly Arg Val Ile Gly Gln Thr Asp Ile Ser Phe Asn Gly Gly
260 265 270

His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Asn Glu Gly Lys Val Glu Cys
275 280 285

Ile Cys Arg Asp Asn Trp Thr Gly Thr Asn Arg Pro Val Leu Val Ile
290 295 300

Ser Ser Asp Leu Ser Tyr Thr Val Gly Tyr Leu Cys Ala Gly Ile Pro
305 310 315 320

[0043]

Thr Asp Thr Pro Arg Gly Glu Asp Ser Gln Phe Thr Gly Ser Cys Thr
325 330 335

Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg
340 345 350

Gln Gly Thr Asp Val Trp Ala Gly Arg Thr Ile Ser Arg Thr Ser Arg
355 360 365

Ser Gly Phe Glu Ile Ile Lys Ile Arg Asn Gly Trp Thr Gln Asn Ser
370 375 380

Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser
385 390 395 400

Gly Tyr Ser Gly Ser Phe Thr Leu Pro Val Glu Leu Thr Lys Lys Gly
405 410 415

Cys Leu Val Pro Cys Phe Trp Val Glu Met Ile Arg Gly Lys Pro Glu
420 425 430

Glu Thr Thr Ile Trp Thr Ser Ser Ser Ser Ile Val Met Cys Gly Val
435 440 445

Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro
450 455 460

Phe Asp Ile Asp Lys Met
465 470

<210> 13

<211> 982

[0044]

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (756)

<400> 13

atg agt ctt cta acc gag gtc gaa acg tac gtt ctc tct atc gta cca	48
Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro	
1 5 10 15	

tca ggc ccc ctc aaa gcc gag atc gcg cag aga ctt gaa gat gtc ttt	96
Ser Gly Pro Leu Lys Ala Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe	
20 25 30	

gca gga aag aac acc gat ctt gag gca ctc atg gaa tgg cta aag aca	144
Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr	
35 40 45	

aga cca atc ctg tca cct ctg act aaa ggg att tta gga ttt gta ttc	192
Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe	
50 55 60	

acg ctc acc gtg ccc agt gag cga gga ctg cag cgt aga cgc ttt gtc	240
Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val	
65 70 75 80	

caa aat gcc ctt agt gga aac gga gat cca aac aac atg gac aga gca	288
Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala	
85 90 95	

gta aaa ctg tac agg aag ctt aaa aga gaa ata aca ttc cat ggg gca	336
Val Lys Leu Tyr Arg Lys Leu Lys Arg Glu Ile Thr Phe His Gly Ala	
100 105 110	

aaa gag gta gca ctc agc tat tcc act ggt gca cta gcc agc tgc atg	384
Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met	
115 120 125	

gga ctc ata tac aac aga atg gga act gtt aca acc gaa gtg gca ttt	432
Gly Leu Ile Tyr Asn Arg Met Gly Thr Val Thr Thr Glu Val Ala Phe	
130 135 140	

[0045]

ggc ctg gta tgc gcc aca tgt gaa cag att gct gat tcc cag cat cga Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg 145 150 155 160	480
gct cac agg cag atg gtg aca aca acc aac cca ttg atc aga cat gaa Ala His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu 165 170 175	528
aac aga atg gta tta gcc agt acc acg gct aaa gcc atg gaa cag atg Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met 180 185 190	576
gca gga tgc agt gag cag gca gca gag gcc atg gag gtt gct agt agg Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Arg 195 200 205	624
gct agg cag atg gta cag gca atg aga acc att ggg acc cac cct agc Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser 210 215 220	672
tcc agt gcc ggt ttg aaa gat gat ctc ctt gaa aat tta cag gcc tac Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr 225 230 235 240	720
cag aaa cgg atg gga gtg caa atg cag cga ttc aag tgatcctctc Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys 245 250	766
gttattgcag caagtatcat tgggatcttg cacttgatat tgtggattct tgatcgtctt	826
ttcttcaaatt tcatttatcg tcgccttaaa tacgggttga aaagagggcc ttctacggaa	886
ggagtacctg agtctatgag ggaagaatat cggcaggaac agcagaatgc tgtggatgtt	946
gacgatggtc attttgtcaa catagagctg gagtaa	982

<210> 14

<211> 252

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 14

[0046]

Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro
1 5 10 15

Ser Gly Pro Leu Lys Ala Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe
20 25 30

Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr
35 40 45

Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe
50 55 60

Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val
65 70 75 80

Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala
85 90 95

Val Lys Leu Tyr Arg Lys Leu Lys Arg Glu Ile Thr Phe His Gly Ala
100 105 110

Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met
115 120 125

Gly Leu Ile Tyr Asn Arg Met Gly Thr Val Thr Thr Glu Val Ala Phe
130 135 140

Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg
145 150 155 160

Ala His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu
165 170 175

[0047]

Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met
180 185 190

Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Arg
195 200 205

Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser
210 215 220

Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr
225 230 235 240

Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys
245 250

<210> 15
<211> 1698
<212> DNA
<213> 流感病毒

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1698)

<400> 15
atg aag aca acc att att ttg ata cta cta acc cat tgg gcc tac agt 48
Met Lys Thr Thr Ile Ile Leu Ile Leu Leu Thr His Trp Ala Tyr Ser
1 5 10 15

caa aac cca atc agt ggc aac aac aca gcc aca ctg tgt ctg gga cac 96
Gln Asn Pro Ile Ser Gly Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His
20 25 30

cat gca gta gca aat gga aca ttg gta aaa aca atg agt gat gat caa 144
His Ala Val Ala Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Met Ser Asp Asp Gln
35 40 45

[0048]

att gag gtg aca aat gct aca gaa tta gtt cag agc att tca atg ggg Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly 50 55 60	192
aaa ata tgc aac aaa tca tat aga att cta gat gga aga aat tgc aca Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr 65 70 75 80	240
tta ata gat gca atg cta gga gac ccc cac tgt gac gcc ttt cag tat Leu Ile Asp Ala Met Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Ala Phe Gln Tyr 85 90 95	288
gag agt tgg gac ctc ttc ata gaa aga agc aac gct ttc agc aat tgc Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Asn Ala Phe Ser Asn Cys 100 105 110	336
tac cca tat gac atc cct gac tat gca tgc ctc cga tcc att gta gca Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Ile Val Ala 115 120 125	384
tcc tca gga aca ttg gaa ttc aca gca gag gga ttc aca tgg aca ggt Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly 130 135 140	432
gtc act caa aac gga aga agt gga gcc tgc aaa agg gga tca gcc gat Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp 145 150 155 160	480
agt ttc ttt agc cga ctg aat tgg cta aca aaa tct gga agc tct tac Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr 165 170 175	528
ccc aca ttg aat gtg aca atg cct aac aat aaa aat ttc gac aag cta Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu 180 185 190	576
tac atc tgg ggg att cat cac ccg agc tca aat caa gag cag aca aaa Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Ser Asn Gln Glu Gln Thr Lys 195 200 205	624
ttg tac atc caa gaa tca gga cga gta aca gtc tca aca aaa aga agt Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser 210 215 220	672

[0049]

caa caa aca ata atc cct aac atc gga tct aga ccg ttg gtc aga ggt	720
Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly	
225 230 235 240	
caa tca ggc agg ata agc ata tac tgg acc att gta aaa cct gga gat	768
Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp	
245 250 255	
atc cta atg ata aac agt aat ggc aac tta gtt gca ccg cgg gga tat	816
Ile Leu Met Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Val Ala Pro Arg Gly Tyr	
260 265 270	
ttt aaa ttg aaa aca ggg aaa agc tct gta atg aga tca gat gca ccc	864
Phe Lys Leu Lys Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Ala Pro	
275 280 285	
ata gac att tgt gtg tct gaa tgt att aca cca aat gga agc atc tcc	912
Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser	
290 295 300	
aac gac aag cca ttc caa aat gtg aac aaa gtt aca tat gga aaa tgc	960
Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys	
305 310 315 320	
cct aag tat atc agg caa aac act tta aag ctg gcc act ggg atg agg	1008
Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg	
325 330 335	
aat gta cca gaa aag caa acc aga gga atc ttt gga gca ata gcg gga	1056
Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly	
340 345 350	
ttc atc gaa aac ggc tgg gaa gga atg gtt gat ggg tgg tat ggg ttc	1104
Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe	
355 360 365	
cga tat caa aac tct gaa gga aca ggg caa gct gca gat cta aag agc	1152
Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser	
370 375 380	
act caa gca gcc atc gac cag att aat gga aag tta aac aga gtg att	1200
Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile	
385 390 395 400	

[0050]

gaa aga acc aat gag aaa ttc cat caa ata gag aag gaa ttc tca gaa Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu 405 410 415	1248
gta gaa gga aga att cag gac ctg gag aaa tat gta gaa gac acc aaa Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys 420 425 430	1296
ata gac cta tgg tcc tac aat gca gaa ttg ctg gtg gct cta gaa aat Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn 435 440 445	1344
caa cat aca att gac tta aca gat gca gaa atg aat aaa tta ttt gag Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu 450 455 460	1392
aag act aga cgc cag tta aga gaa aac gca gaa gac atg gga ggt gga Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly 465 470 475 480	1440
tgt ttc aag att tac cac aaa tgt gat aat gca tgc att gga tca ata Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser Ile 485 490 495	1488
aga act ggg aca tat gac cat tac ata tac aga gat gaa gca tta aac Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Arg Asp Glu Ala Leu Asn 500 505 510	1536
aac cga ttt cag atc aaa ggt gta gag ttg aaa tca ggc tac aaa gat Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp 515 520 525	1584
tgg ata ttg tgg att tca ttc gcc ata tca tgc ttc tta att tgc gtt Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val 530 535 540	1632
gtt cta ttg ggt ttc att atg tgg gct tgc caa aga ggc aac atc aga Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Arg Gly Asn Ile Arg 545 550 555 560	1680
tgc aac att tgc att tga Cys Asn Ile Cys Ile 565	1698

[0051]

<210> 16

<211> 565

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 16

Met Lys Thr Thr Ile Ile Leu Ile Leu Leu Thr His Trp Ala Tyr Ser
1 5 10 15

Gln Asn Pro Ile Ser Gly Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His
20 25 30

His Ala Val Ala Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Met Ser Asp Asp Gln
35 40 45

Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly
50 55 60

Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr
65 70 75 80

Leu Ile Asp Ala Met Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Ala Phe Gln Tyr
85 90 95

Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Asn Ala Phe Ser Asn Cys
100 105 110

Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Ile Val Ala
115 120 125

Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly
130 135 140

[0052]

Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp			
145	150	155	160
Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr			
	165	170	175
Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu			
	180	185	190
Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Ser Asn Gln Glu Gln Thr Lys			
	195	200	205
Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser			
	210	215	220
Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly			
	225	230	235
Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp			
	245	250	255
Ile Leu Met Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Val Ala Pro Arg Gly Tyr			
	260	265	270
Phe Lys Leu Lys Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Ala Pro			
	275	280	285
Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser			
	290	295	300
Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys			
	305	310	315
			320

[0053]

Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg
325 330 335

Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly
340 345 350

Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe
355 360 365

Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser
370 375 380

Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile
385 390 395 400

Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu
405 410 415

Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys
420 425 430

Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn
435 440 445

Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu
450 455 460

Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly
465 470 475 480

Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser Ile
485 490 495

[0054]

Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Arg Asp Glu Ala Leu Asn
500 505 510

Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp
515 520 525

Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val
530 535 540

Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Arg Gly Asn Ile Arg
545 550 555 560

Cys Asn Ile Cys Ile
565

<210> 17
<211> 2277
<212> DNA
<213> 流感病毒

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(2277)

<220>
<221> misc_feature
<222> (731)..(731)
<223> 731 位的'Xaa'代表 Val 或 Ile

<400> 17
atg gag aga ata aaa gaa ctg aga gat ctg atg tta caa tcc cgc acc 48
Met Glu Arg Ile Lys Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr
1 5 10 15

cgc gag ata cta aca aaa act act gtg gac cac atg gcc ata atc aag 96
Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys
20 25 30

[0055]

aaa tac aca tca gga aga caa gag aag aac cct gca ctt agg atg aaa Lys Tyr Thr Ser Gly Arg Gln Glu Lys Asn Pro Ala Leu Arg Met Lys 35 40 45	144
tgg atg atg gca atg aaa tac cca att aca gca gat aag agg ata atg Trp Met Met Ala Met Lys Tyr Pro Ile Thr Ala Asp Lys Arg Ile Met 50 55 60	192
gag atg att cct gag aga aat gaa cag gga caa acc ctt tgg agc aaa Glu Met Ile Pro Glu Arg Asn Glu Gln Gly Gln Thr Leu Trp Ser Lys 65 70 75 80	240
acg aac gat gct ggc tca gac cgc gta atg gta tca cct ctg gca gtg Thr Asn Asp Ala Gly Ser Asp Arg Val Met Val Ser Pro Leu Ala Val 85 90 95	288
aca tgg tgg aat agg aat gga cca aca acg agc aca att cat tat cca Thr Trp Trp Asn Arg Asn Gly Pro Thr Thr Ser Thr Ile His Tyr Pro 100 105 110	336
aaa gtc tac aaa act tat ttt gaa aag gtt gaa aga ttg aaa cac gga Lys Val Tyr Lys Thr Tyr Phe Glu Lys Val Glu Arg Leu Lys His Gly 115 120 125	384
acc ttt ggc ccc gtt cat ttt agg aat caa gtc aag ata aga cga aga Thr Phe Gly Pro Val His Phe Arg Asn Gln Val Lys Ile Arg Arg Arg 130 135 140	432
gtt gat gta aac cct ggt cac gcg gac ctc agt gcc aaa gaa gca caa Val Asp Val Asn Pro Gly His Ala Asp Leu Ser Ala Lys Glu Ala Gln 145 150 155 160	480
gat gtg atc atg gaa gtt gtt ttc cca aat gaa gtg gga gcc aga att Asp Val Ile Met Glu Val Val Phe Pro Asn Glu Val Gly Ala Arg Ile 165 170 175	528
cta aca tcg gaa tca caa cta aca ata acc aaa gag aaa aag gaa gaa Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu 180 185 190	576
ctt cag gac tgc aaa att gct ccc ttg atg gta gca tac atg cta gaa Leu Gln Asp Cys Lys Ile Ala Pro Leu Met Val Ala Tyr Met Leu Glu 195 200 205	624

[0056]

aga gag ttg gtc cga aaa aca agg ttc ctc cca gta gca ggc gga aca Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Ala Gly Gly Thr 210 215 220	672
agc agt gta tac att gaa gtg ttg cat ctg act cag gga aca tgc tgg Ser Ser Val Tyr Ile Glu Val Leu His Leu Thr Gln Gly Thr Cys Trp 225 230 235 240	720
gag caa atg tac acc cca gga gga gaa gtt aga aac gat gat att gat Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Glu Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp 245 250 255	768
caa agt tta att att gca gcc cgg aac ata gtg aga aga gcg aca gta Gln Ser Leu Ile Ile Ala Ala Arg Asn Ile Val Arg Arg Ala Thr Val 260 265 270	816
tca gca gat cca cta gca tcc cta ctg gaa atg tgc cac agt aca cag Ser Ala Asp Pro Leu Ala Ser Leu Leu Glu Met Cys His Ser Thr Gln 275 280 285	864
att ggt gga ata agg atg gta gac atc ctt aag cag aat cca aca gag Ile Gly Gly Ile Arg Met Val Asp Ile Leu Lys Gln Asn Pro Thr Glu 290 295 300	912
gaa caa gct gtg gat ata tgc aaa gca gca atg gga ttg aga att agc Glu Gln Ala Val Asp Ile Cys Lys Ala Ala Met Gly Leu Arg Ile Ser 305 310 315 320	960
tca tca ttc agc ttt ggt gga ttc acc ttc aaa aga aca agt gga tca Ser Ser Phe Ser Phe Gly Gly Phe Thr Phe Lys Arg Thr Ser Gly Ser 325 330 335	1008
tca gtc aag aga gaa gaa gaa atg ctt acg ggc aac ctt caa aca ttg Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu 340 345 350	1056
aaa ata aga gtg cat gag ggc tat gaa gaa ttc aca atg gtc gga aga Lys Ile Arg Val His Glu Gly Tyr Glu Glu Phe Thr Met Val Gly Arg 355 360 365	1104
aga gca aca gcc att atc aga aag gca acc aga aga ttg att caa ttg Arg Ala Thr Ala Ile Ile Arg Lys Ala Thr Arg Arg Leu Ile Gln Leu 370 375 380	1152

[0057]

ata gta agt ggg aga gat gaa caa tca att gct gaa gca ata att gta Ile Val Ser Gly Arg Asp Glu Gln Ser Ile Ala Glu Ala Ile Ile Val 385 390 395 400	1200
gcc atg gtg ttt tcg caa gaa gat tgc atg ata aaa gca gtt cga ggc Ala Met Val Phe Ser Gln Glu Asp Cys Met Ile Lys Ala Val Arg Gly 405 410 415	1248
gat ttg aac ttt gtt aat aga gca aat cag cgt ttg aac ccc atg cat Asp Leu Asn Phe Val Asn Arg Ala Asn Gln Arg Leu Asn Pro Met His 420 425 430	1296
caa ctc ttg agg cat ttc caa aaa gat gca aaa gtg ctt ttc caa aat Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe Gln Asn 435 440 445	1344
tgg gga att gaa ccc atc gac aat gta atg ggg atg att gga ata ttg Trp Gly Ile Glu Pro Ile Asp Asn Val Met Gly Met Ile Gly Ile Leu 450 455 460	1392
cct gac atg acc cca agc acc gag atg tca ttg aga gga gtg aga gtc Pro Asp Met Thr Pro Ser Thr Glu Met Ser Leu Arg Gly Val Arg Val 465 470 475 480	1440
agc aaa atg gga gtg gat gag tac tcc agc act gag aga gtg gtg gtg Ser Lys Met Gly Val Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Glu Arg Val Val Val 485 490 495	1488
agc att gac cgt ttt tta aga gtt cgg gat caa agg gga aac ata cta Ser Ile Asp Arg Phe Leu Arg Val Arg Asp Gln Arg Gly Asn Ile Leu 500 505 510	1536
ctg tcc cct gaa gaa gtc agt gaa aca caa gga acg gaa aag ctg aca Leu Ser Pro Glu Glu Val Ser Glu Thr Gln Gly Thr Glu Lys Leu Thr 515 520 525	1584
ata att tat tcg tca tca atg atg tgg gag att aat ggt ccc gaa tca Ile Ile Tyr Ser Ser Ser Met Met Trp Glu Ile Asn Gly Pro Glu Ser 530 535 540	1632
gtg ttg gtc aat act tat caa tgg atc atc agg aac tgg gaa att gta Val Leu Val Asn Thr Tyr Gln Trp Ile Ile Arg Asn Trp Glu Ile Val 545 550 555 560	1680

[0058]

aaa att cag tgg tca cag gac ccc aca atg tta tac aat aag ata gaa Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu 565 570 575	1728
ttt gag cca ttc caa tcc ctg gtc cct agg gcc acc aga agc caa tac Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr 580 585 590	1776
agc ggt ttc gta aga acc ctg ttt cag caa atg cga gat gta ctt gga Ser Gly Phe Val Arg Thr Leu Phe Gln Gln Met Arg Asp Val Leu Gly 595 600 605	1824
aca ttt gat act gct caa ata ata aaa ctc ctc cct ttt gcc gct gct Thr Phe Asp Thr Ala Gln Ile Ile Lys Leu Leu Pro Phe Ala Ala Ala 610 615 620	1872
cct ccg gaa cag agt agg atg cag ttc tct tct ttg act gtt aat gta Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val 625 630 635 640	1920
aga ggt tcg gga atg agg ata ctt gta aga ggc aat tcc cca gtg ttc Arg Gly Ser Gly Met Arg Ile Leu Val Arg Gly Asn Ser Pro Val Phe 645 650 655	1968
aac tac aat aaa gcc act aaa agg ctc aca gtc ctc gga aag gat gca Asn Tyr Asn Lys Ala Thr Lys Arg Leu Thr Val Leu Gly Lys Asp Ala 660 665 670	2016
ggt gcg ctt act gag gac cca gat gaa ggt acg gct gga gta gaa tct Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser 675 680 685	2064
gct gtt cta aga ggg ttt ctc att tta ggt aaa gaa aac aag aga tat Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr 690 695 700	2112
ggc cca gca cta agc atc aat gaa cta agc aaa ctt gca aaa ggg gag Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu 705 710 715 720	2160
aaa gcc aat gta cta att ggg caa ggg gac rta gtg ttg gta atg aaa Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Xaa Val Leu Val Met Lys 725 730 735	2208

[0059]

cgg aaa cgt gac tct agc ata ctt act gac agc cag aca gcg acc aaa 2256
Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys
740 745 750

agg att cgg atg gcc atc aat 2277
Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn
755

<210> 18

<211> 759

<212> PRT

<213> 流感病毒

<220>

<221> misc_feature

<222> (731)..(731)

<223> 731 位的' Xaa' 代表 Val 或 Ile

<400> 18

Met Glu Arg Ile Lys Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr
1 5 10 15

Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys
20 25 30

Lys Tyr Thr Ser Gly Arg Gln Glu Lys Asn Pro Ala Leu Arg Met Lys
35 40 45

Trp Met Met Ala Met Lys Tyr Pro Ile Thr Ala Asp Lys Arg Ile Met
50 55 60

Glu Met Ile Pro Glu Arg Asn Glu Gln Gly Gln Thr Leu Trp Ser Lys
65 70 75 80

Thr Asn Asp Ala Gly Ser Asp Arg Val Met Val Ser Pro Leu Ala Val
85 90 95

[0060]

Thr Trp Trp Asn Arg Asn Gly Pro Thr Thr Ser Thr Ile His Tyr Pro
100 105 110

Lys Val Tyr Lys Thr Tyr Phe Glu Lys Val Glu Arg Leu Lys His Gly
115 120 125

Thr Phe Gly Pro Val His Phe Arg Asn Gln Val Lys Ile Arg Arg Arg
130 135 140

Val Asp Val Asn Pro Gly His Ala Asp Leu Ser Ala Lys Glu Ala Gln
145 150 155 160

Asp Val Ile Met Glu Val Val Phe Pro Asn Glu Val Gly Ala Arg Ile
165 170 175

Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu
180 185 190

Leu Gln Asp Cys Lys Ile Ala Pro Leu Met Val Ala Tyr Met Leu Glu
195 200 205

Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Ala Gly Gly Thr
210 215 220

Ser Ser Val Tyr Ile Glu Val Leu His Leu Thr Gln Gly Thr Cys Trp
225 230 235 240

Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Glu Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp
245 250 255

Gln Ser Leu Ile Ile Ala Ala Arg Asn Ile Val Arg Arg Ala Thr Val
260 265 270

[0061]

Ser Ala Asp Pro Leu Ala Ser Leu Leu Glu Met Cys His Ser Thr Gln
275 280 285

Ile Gly Gly Ile Arg Met Val Asp Ile Leu Lys Gln Asn Pro Thr Glu
290 295 300

Glu Gln Ala Val Asp Ile Cys Lys Ala Ala Met Gly Leu Arg Ile Ser
305 310 315 320

Ser Ser Phe Ser Phe Gly Gly Phe Thr Phe Lys Arg Thr Ser Gly Ser
325 330 335

Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu
340 345 350

Lys Ile Arg Val His Glu Gly Tyr Glu Glu Phe Thr Met Val Gly Arg
355 360 365

Arg Ala Thr Ala Ile Ile Arg Lys Ala Thr Arg Arg Leu Ile Gln Leu
370 375 380

Ile Val Ser Gly Arg Asp Glu Gln Ser Ile Ala Glu Ala Ile Ile Val
385 390 395 400

Ala Met Val Phe Ser Gln Glu Asp Cys Met Ile Lys Ala Val Arg Gly
405 410 415

Asp Leu Asn Phe Val Asn Arg Ala Asn Gln Arg Leu Asn Pro Met His
420 425 430

Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe Gln Asn
435 440 445

[0062]

Trp Gly Ile Glu Pro Ile Asp Asn Val Met Gly Met Ile Gly Ile Leu
450 455 460

Pro Asp Met Thr Pro Ser Thr Glu Met Ser Leu Arg Gly Val Arg Val
465 470 475 480

Ser Lys Met Gly Val Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Glu Arg Val Val Val
485 490 495

Ser Ile Asp Arg Phe Leu Arg Val Arg Asp Gln Arg Gly Asn Ile Leu
500 505 510

Leu Ser Pro Glu Glu Val Ser Glu Thr Gln Gly Thr Glu Lys Leu Thr
515 520 525

Ile Ile Tyr Ser Ser Ser Met Met Trp Glu Ile Asn Gly Pro Glu Ser
530 535 540

Val Leu Val Asn Thr Tyr Gln Trp Ile Ile Arg Asn Trp Glu Ile Val
545 550 555 560

Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu
565 570 575

Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr
580 585 590

Ser Gly Phe Val Arg Thr Leu Phe Gln Gln Met Arg Asp Val Leu Gly
595 600 605

Thr Phe Asp Thr Ala Gln Ile Ile Lys Leu Leu Pro Phe Ala Ala Ala
610 615 620

[0063]

Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val
625 630 635 640

Arg Gly Ser Gly Met Arg Ile Leu Val Arg Gly Asn Ser Pro Val Phe
645 650 655

Asn Tyr Asn Lys Ala Thr Lys Arg Leu Thr Val Leu Gly Lys Asp Ala
660 665 670

Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser
675 680 685

Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr
690 695 700

Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu
705 710 715 720

Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Xaa Val Leu Val Met Lys
725 730 735

Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys
740 745 750

Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn
755

<210> 19
<211> 2274
<212> DNA
<213> 流感病毒

<220>

[0064]

<221> CDS

<222> (1)..(2274)

<400> 19

atg gat gtc aat ccg act cta ctt ttc tta aag gtg cca gcg caa aat 48
 Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn
 1 5 10 15

gct ata agc aca aca ttc cct tat act gga gat cct ccc tac agt cat 96
 Ala Ile Ser Thr Thr Phe Pro Tyr Thr Gly Asp Pro Pro Tyr Ser His
 20 25 30

gga aca ggg aca gga tac acc atg gat act gtc aac aga aca cac caa 144
 Gly Thr Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Thr Val Asn Arg Thr His Gln
 35 40 45

tat tca gaa aaa ggg aaa tgg aca aca aac act gag att gga gca cca 192
 Tyr Ser Glu Lys Gly Lys Trp Thr Thr Asn Thr Glu Ile Gly Ala Pro
 50 55 60

caa ctt aat cca atc gat gga cca ctt cct gaa gac aat gaa cca agt 240
 Gln Leu Asn Pro Ile Asp Gly Pro Leu Pro Glu Asp Asn Glu Pro Ser
 65 70 75 80

ggg tac gcc caa aca gat tgt gta ttg gaa gca atg gct ttc ctt gaa 288
 Gly Tyr Ala Gln Thr Asp Cys Val Leu Glu Ala Met Ala Phe Leu Glu
 85 90 95

gaa tcc cat ccc gga atc ttt gaa aat tcg tgt ctt gaa acg atg gag 336
 Glu Ser His Pro Gly Ile Phe Glu Asn Ser Cys Leu Glu Thr Met Glu
 100 105 110

gtg att cag cag aca aga gtg gac aaa cta aca caa ggc cga caa act 384
 Val Ile Gln Gln Thr Arg Val Asp Lys Leu Thr Gln Gly Arg Gln Thr
 115 120 125

tat gat tgg acc ttg aat agg aat caa cct gcc gca aca gca ctt gct 432
 Tyr Asp Trp Thr Leu Asn Arg Asn Gln Pro Ala Ala Thr Ala Leu Ala
 130 135 140

aat acg att gaa gta ttc aga tca aat ggt ctg act tcc aat gaa tcg 480
 Asn Thr Ile Glu Val Phe Arg Ser Asn Gly Leu Thr Ser Asn Glu Ser
 145 150 155 160

[0065]

ggg aga ttg atg gac ttc ctc aaa gat gtc atg gag tcc atg aac aag Gly Arg Leu Met Asp Phe Leu Lys Asp Val Met Glu Ser Met Asn Lys 165 170 175	528
gaa gaa atg gaa ata aca aca cac ttc caa cgg aag aga aga gta aga Glu Glu Met Glu Ile Thr Thr His Phe Gln Arg Lys Arg Arg Val Arg 180 185 190	576
gac aac atg aca aag aga atg gta aca cag aga acc ata ggg aag aaa Asp Asn Met Thr Lys Arg Met Val Thr Gln Arg Thr Ile Gly Lys Lys 195 200 205	624
aaa caa cga tta aac aga aag agc tat cta atc aga aca tta acc cta Lys Gln Arg Leu Asn Arg Lys Ser Tyr Leu Ile Arg Thr Leu Thr Leu 210 215 220	672
aac aca atg acc aag gac gct gag aga ggg aaa ttg aaa cga cga gca Asn Thr Met Thr Lys Asp Ala Glu Arg Gly Lys Leu Lys Arg Arg Ala 225 230 235 240	720
atc gct acc cca ggg atg cag ata aga ggg ttt gta tat ttt gtt gaa Ile Ala Thr Pro Gly Met Gln Ile Arg Gly Phe Val Tyr Phe Val Glu 245 250 255	768
aca cta gcc cga aga ata tgt gaa aag ctt gaa caa tca gga ttg cca Thr Leu Ala Arg Arg Ile Cys Glu Lys Leu Glu Gln Ser Gly Leu Pro 260 265 270	816
gtt ggc ggt aat gag aaa aag gcc aaa ctg gct aat gtc gtc aga aaa Val Gly Gly Asn Glu Lys Lys Ala Lys Leu Ala Asn Val Val Arg Lys 275 280 285	864
atg atg act aat tcc caa gac act gaa ctc tcc ttc acc atc act ggg Met Met Thr Asn Ser Gln Asp Thr Glu Leu Ser Phe Thr Ile Thr Gly 290 295 300	912
gac aat acc aaa tgg aat gaa aat cag aac cca cgc ata ttc ctg gca Asp Asn Thr Lys Trp Asn Glu Asn Gln Asn Pro Arg Ile Phe Leu Ala 305 310 315 320	960
atg atc aca tac ata act aga aac cag cca gaa tgg ttc aga aat gtt Met Ile Thr Tyr Ile Thr Arg Asn Gln Pro Glu Trp Phe Arg Asn Val 325 330 335	1008

[0066]

cta agc att gca ccg att atg ttc tca aat aaa atg gca aga ctg ggg	1056
Leu Ser Ile Ala Pro Ile Met Phe Ser Asn Lys Met Ala Arg Leu Gly	
340 345 350	
aaa gga tat atg ttt gaa agc aaa agt atg aaa ttg aga act caa ata	1104
Lys Gly Tyr Met Phe Glu Ser Lys Ser Met Lys Leu Arg Thr Gln Ile	
355 360 365	
cca gca gaa atg cta gca agc att gac cta aaa tat ttc aat gat tca	1152
Pro Ala Glu Met Leu Ala Ser Ile Asp Leu Lys Tyr Phe Asn Asp Ser	
370 375 380	
aca aaa aag aaa att gaa aag ata cga cca ctt ctg gtt gac ggg act	1200
Thr Lys Lys Lys Ile Glu Lys Ile Arg Pro Leu Leu Val Asp Gly Thr	
385 390 395 400	
gct tca ctg agt cct ggc atg atg atg gga atg ttc aac atg ttg agc	1248
Ala Ser Leu Ser Pro Gly Met Met Met Gly Met Phe Asn Met Leu Ser	
405 410 415	
act gtg ctg ggt gta tcc ata tta aac ctg ggc cag agg aaa tac aca	1296
Thr Val Leu Gly Val Ser Ile Leu Asn Leu Gly Gln Arg Lys Tyr Thr	
420 425 430	
aag acc aca tac tgg tgg gat ggt ctg caa tca tcc gat gac ttt gct	1344
Lys Thr Thr Tyr Trp Trp Asp Gly Leu Gln Ser Ser Asp Asp Phe Ala	
435 440 445	
ttg ata gtg aat gcg cct aat cat gaa gga ata caa gct gga gta gac	1392
Leu Ile Val Asn Ala Pro Asn His Glu Gly Ile Gln Ala Gly Val Asp	
450 455 460	
aga ttc tat aga act tgc aaa ctg gtc ggg atc aac atg agc aaa aag	1440
Arg Phe Tyr Arg Thr Cys Lys Leu Val Gly Ile Asn Met Ser Lys Lys	
465 470 475 480	
aaa tcc tac ata aat aga act gga aca ttc gaa ttc aca agc ttt ttc	1488
Lys Ser Tyr Ile Asn Arg Thr Gly Thr Phe Glu Phe Thr Ser Phe Phe	
485 490 495	
tac cgg tat ggt ttt gta gcc aat ttc agc atg gaa cta ccc agt ttt	1536
Tyr Arg Tyr Gly Phe Val Ala Asn Phe Ser Met Glu Leu Pro Ser Phe	
500 505 510	

[0067]

ggg gtt tcc gga ata aat gaa tct gca gac atg agc att gga gtg aca Gly Val Ser Gly Ile Asn Glu Ser Ala Asp Met Ser Ile Gly Val Thr 515 520 525	1584
gtc atc aaa aac aac atg ata aat aat gat ctc ggt cct gcc acg gca Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala 530 535 540	1632
caa atg gca ctc caa ctc ttc att aag gat tat cgg tac aca tac cgg Gln Met Ala Leu Gln Leu Phe Ile Lys Asp Tyr Arg Tyr Thr Tyr Arg 545 550 555 560	1680
tgc cat aga ggt gat acc cag ata caa acc aga aga tct ttt gag ttg Cys His Arg Gly Asp Thr Gln Ile Gln Thr Arg Arg Ser Phe Glu Leu 565 570 575	1728
aag aaa ctg tgg gaa cag act cga tca aag act ggt cta ctg gta tca Lys Lys Leu Trp Glu Gln Thr Arg Ser Lys Thr Gly Leu Leu Val Ser 580 585 590	1776
gat ggg ggt cca aac cta tat aac atc aga aac cta cac atc ccg gaa Asp Gly Gly Pro Asn Leu Tyr Asn Ile Arg Asn Leu His Ile Pro Glu 595 600 605	1824
gtc tgt tta aaa tgg gag cta atg gat gaa gat tat aag ggg agg cta Val Cys Leu Lys Trp Glu Leu Met Asp Glu Asp Tyr Lys Gly Arg Leu 610 615 620	1872
tgc aat cca ttg aat cct ttc gtt agt cac aaa gaa att gaa tca gtc Cys Asn Pro Leu Asn Pro Phe Val Ser His Lys Glu Ile Glu Ser Val 625 630 635 640	1920
aac agt gca gta gta atg cct gcg cat ggc cct gcc aaa agc atg gag Asn Ser Ala Val Val Met Pro Ala His Gly Pro Ala Lys Ser Met Glu 645 650 655	1968
tat gat gct gtt gca aca aca cat tct tgg atc ccc aag agg aac cgg Tyr Asp Ala Val Ala Thr Thr His Ser Trp Ile Pro Lys Arg Asn Arg 660 665 670	2016
tcc ata ttg aac aca agc caa agg gga ata ctc gaa gat gag cag atg Ser Ile Leu Asn Thr Ser Gln Arg Gly Ile Leu Glu Asp Glu Gln Met 675 680 685	2064

[0068]

tat cag aaa tgc tgc aac ctg ttt gaa aaa ttc ttc ccc agc agc tca	2112
Tyr Gln Lys Cys Cys Asn Leu Phe Glu Lys Phe Phe Pro Ser Ser Ser	
690 695 700	

tac aga aga cca gtc gga att tct agt atg gtt gag gcc atg gtg tcc	2160
Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser	
705 710 715 720	

agg gcc cgc att gat gca cga att gac ttc gaa tct gga cgg ata aag	2208
Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys	
725 730 735	

aag gat gag ttc gct gag atc atg aag atc tgt tcc acc att gaa gag	2256
Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu	
740 745 750	

ctc aga cgg caa aaa tag	2274
Leu Arg Arg Gln Lys	
755	

<210> 20

<211> 757

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 20

Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn
1 5 10 15

Ala Ile Ser Thr Thr Phe Pro Tyr Thr Gly Asp Pro Pro Tyr Ser His
20 25 30

Gly Thr Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Thr Val Asn Arg Thr His Gln
35 40 45

Tyr Ser Glu Lys Gly Lys Trp Thr Thr Asn Thr Glu Ile Gly Ala Pro
50 55 60

[0069]

Gln Leu Asn Pro Ile Asp Gly Pro Leu Pro Glu Asp Asn Glu Pro Ser
65 70 75 80

Gly Tyr Ala Gln Thr Asp Cys Val Leu Glu Ala Met Ala Phe Leu Glu
85 90 95

Glu Ser His Pro Gly Ile Phe Glu Asn Ser Cys Leu Glu Thr Met Glu
100 105 110

Val Ile Gln Gln Thr Arg Val Asp Lys Leu Thr Gln Gly Arg Gln Thr
115 120 125

Tyr Asp Trp Thr Leu Asn Arg Asn Gln Pro Ala Ala Thr Ala Leu Ala
130 135 140

Asn Thr Ile Glu Val Phe Arg Ser Asn Gly Leu Thr Ser Asn Glu Ser
145 150 155 160

Gly Arg Leu Met Asp Phe Leu Lys Asp Val Met Glu Ser Met Asn Lys
165 170 175

Glu Glu Met Glu Ile Thr Thr His Phe Gln Arg Lys Arg Arg Val Arg
180 185 190

Asp Asn Met Thr Lys Arg Met Val Thr Gln Arg Thr Ile Gly Lys Lys
195 200 205

Lys Gln Arg Leu Asn Arg Lys Ser Tyr Leu Ile Arg Thr Leu Thr Leu
210 215 220

Asn Thr Met Thr Lys Asp Ala Glu Arg Gly Lys Leu Lys Arg Arg Ala
225 230 235 240

[0070]

Ile Ala Thr Pro Gly Met Gln Ile Arg Gly Phe Val Tyr Phe Val Glu
245 250 255

Thr Leu Ala Arg Arg Ile Cys Glu Lys Leu Glu Gln Ser Gly Leu Pro
260 265 270

Val Gly Gly Asn Glu Lys Lys Ala Lys Leu Ala Asn Val Val Arg Lys
275 280 285

Met Met Thr Asn Ser Gln Asp Thr Glu Leu Ser Phe Thr Ile Thr Gly
290 295 300

Asp Asn Thr Lys Trp Asn Glu Asn Gln Asn Pro Arg Ile Phe Leu Ala
305 310 315 320

Met Ile Thr Tyr Ile Thr Arg Asn Gln Pro Glu Trp Phe Arg Asn Val
325 330 335

Leu Ser Ile Ala Pro Ile Met Phe Ser Asn Lys Met Ala Arg Leu Gly
340 345 350

Lys Gly Tyr Met Phe Glu Ser Lys Ser Met Lys Leu Arg Thr Gln Ile
355 360 365

Pro Ala Glu Met Leu Ala Ser Ile Asp Leu Lys Tyr Phe Asn Asp Ser
370 375 380

Thr Lys Lys Lys Ile Glu Lys Ile Arg Pro Leu Leu Val Asp Gly Thr
385 390 395 400

Ala Ser Leu Ser Pro Gly Met Met Met Gly Met Phe Asn Met Leu Ser
405 410 415

[0071]

Thr Val Leu Gly Val Ser Ile Leu Asn Leu Gly Gln Arg Lys Tyr Thr
420 425 430

Lys Thr Thr Tyr Trp Trp Asp Gly Leu Gln Ser Ser Asp Asp Phe Ala
435 440 445

Leu Ile Val Asn Ala Pro Asn His Glu Gly Ile Gln Ala Gly Val Asp
450 455 460

Arg Phe Tyr Arg Thr Cys Lys Leu Val Gly Ile Asn Met Ser Lys Lys
465 470 475 480

Lys Ser Tyr Ile Asn Arg Thr Gly Thr Phe Glu Phe Thr Ser Phe Phe
485 490 495

Tyr Arg Tyr Gly Phe Val Ala Asn Phe Ser Met Glu Leu Pro Ser Phe
500 505 510

Gly Val Ser Gly Ile Asn Glu Ser Ala Asp Met Ser Ile Gly Val Thr
515 520 525

Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala
530 535 540

Gln Met Ala Leu Gln Leu Phe Ile Lys Asp Tyr Arg Tyr Thr Tyr Arg
545 550 555 560

Cys His Arg Gly Asp Thr Gln Ile Gln Thr Arg Arg Ser Phe Glu Leu
565 570 575

Lys Lys Leu Trp Glu Gln Thr Arg Ser Lys Thr Gly Leu Leu Val Ser
580 585 590

[0072]

Asp Gly Gly Pro Asn Leu Tyr Asn Ile Arg Asn Leu His Ile Pro Glu
595 600 605

Val Cys Leu Lys Trp Glu Leu Met Asp Glu Asp Tyr Lys Gly Arg Leu
610 615 620

Cys Asn Pro Leu Asn Pro Phe Val Ser His Lys Glu Ile Glu Ser Val
625 630 635 640

Asn Ser Ala Val Val Met Pro Ala His Gly Pro Ala Lys Ser Met Glu
645 650 655

Tyr Asp Ala Val Ala Thr Thr His Ser Trp Ile Pro Lys Arg Asn Arg
660 665 670

Ser Ile Leu Asn Thr Ser Gln Arg Gly Ile Leu Glu Asp Glu Gln Met
675 680 685

Tyr Gln Lys Cys Cys Asn Leu Phe Glu Lys Phe Phe Pro Ser Ser Ser
690 695 700

Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser
705 710 715 720

Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys
725 730 735

Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu
740 745 750

Leu Arg Arg Gln Lys
755

[0073]

<210>	21	
<211>	2151	
<212>	DNA	
<213>	流感病毒	
<220>		
<221>	CDS	
<222>	(1)..(2151)	
<400>	21	
atg gaa gac ttt gtg cga cag tgc ttc aat cca atg atc gtc gag ctt		48
Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu		
1 5 10 15		
gcg gaa aag gca atg aaa gaa tat gga gag aac ccg aaa atc gaa aca		96
Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr		
20 25 30		
aac aaa ttt gca gca ata tgc act cac ttg gaa gtc tgc ttc atg tac		144
Asn Lys Phe Ala Ala Ile Cys Thr His Leu Glu Val Cys Phe Met Tyr		
35 40 45		
tcg gat ttt cac ttt att aat gaa ctg ggt gag tca gtg gtc ata gag		192
Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu		
50 55 60		
tct ggt gac cca aat gct ctt ttg aaa cac aga ttt gaa atc att gag		240
Ser Gly Asp Pro Asn Ala Leu Leu Lys His Arg Phe Glu Ile Ile Glu		
65 70 75 80		
ggg aga gat cga aca atg gca tgg aca gta gta aac agc atc tgc aac		288
Gly Arg Asp Arg Thr Met Ala Trp Thr Val Val Asn Ser Ile Cys Asn		
85 90 95		
acc aca aga gct gaa aaa cct aaa ttt ctt cca gat tta tac gac tat		336
Thr Thr Arg Ala Glu Lys Pro Lys Phe Leu Pro Asp Leu Tyr Asp Tyr		
100 105 110		
aag gag aac aga ttt gtt gaa att ggt gtg aca agg aga gaa gtt cac		384
Lys Glu Asn Arg Phe Val Glu Ile Gly Val Thr Arg Arg Glu Val His		
115 120 125		
ata tac tac ctg gag aag gcc aac aaa ata aag tct gag aaa aca cat		432

[0074]

Ile Tyr Tyr Leu Glu Lys Ala Asn Lys Ile Lys Ser Glu Lys Thr His	
130 135 140	
atc cac att ttc tca ttt aca gga gag gaa atg gct aca aaa gcg gac	480
Ile His Ile Phe Ser Phe Thr Gly Glu Glu Met Ala Thr Lys Ala Asp	
145 150 155 160	
tat act ctt gat gaa gag agt aga gcc agg atc aag acc aga cta ttc	528
Tyr Thr Leu Asp Glu Glu Ser Arg Ala Arg Ile Lys Thr Arg Leu Phe	
165 170 175	
act ata aga caa gaa atg gcc agt aga ggc ctc tgg gat tcc ttt cgt	576
Thr Ile Arg Gln Glu Met Ala Ser Arg Gly Leu Trp Asp Ser Phe Arg	
180 185 190	
cag tcc gag aga ggc gaa gag aca att gaa gaa aga ttt gaa atc aca	624
Gln Ser Glu Arg Gly Glu Glu Thr Ile Glu Glu Arg Phe Glu Ile Thr	
195 200 205	
ggg acg atg cgc aag ctt gcc aat tac agt ctc cca ccg aac ttc tcc	672
Gly Thr Met Arg Lys Leu Ala Asn Tyr Ser Leu Pro Pro Asn Phe Ser	
210 215 220	
agc ctt gaa aat ttt aga gtc tat gtg gat gga ttc gaa ccg aac ggc	720
Ser Leu Glu Asn Phe Arg Val Tyr Val Asp Gly Phe Glu Pro Asn Gly	
225 230 235 240	
tgc att gag agt aag ctt tct caa atg tcc aaa gaa gta aat gcc aga	768
Cys Ile Glu Ser Lys Leu Ser Gln Met Ser Lys Glu Val Asn Ala Arg	
245 250 255	
atc gaa cca ttt tca aag aca aca ccc cga cca ctc aaa atg cca ggt	816
Ile Glu Pro Phe Ser Lys Thr Thr Pro Arg Pro Leu Lys Met Pro Gly	
260 265 270	
ggt cca ccc tgc cat cag cga tct aaa ttc ttg cta atg gat gct ctg	864
Gly Pro Pro Cys His Gln Arg Ser Lys Phe Leu Leu Met Asp Ala Leu	
275 280 285	
aaa ctg agc att gag gac cca agt cac gag gga gag gga ata cca cta	912
Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu	
290 295 300	
tat gat gca atc aaa tgc atg aaa act ttc ttt gga tgg aaa gag ccc	960

[0075]

Tyr Asp Ala Ile Lys Cys Met Lys Thr Phe Phe Gly Trp Lys Glu Pro			
305	310	315	320
agt att gtt aaa cca cat gaa aag ggt ata aac ccg aac tat ctc caa			1008
Ser Ile Val Lys Pro His Glu Lys Gly Ile Asn Pro Asn Tyr Leu Gln			
325	330	335	
act tgg aag caa gta tta gaa gaa ata caa gac ctt gag aac gaa gaa			1056
Thr Trp Lys Gln Val Leu Glu Glu Ile Gln Asp Leu Glu Asn Glu Glu			
340	345	350	
agg acc ccc aag acc aag aat atg aaa aaa aca agc caa ttg aaa tgg			1104
Arg Thr Pro Lys Thr Lys Asn Met Lys Lys Thr Ser Gln Leu Lys Trp			
355	360	365	
gca cta ggt gaa aat atg gca cca gag aaa gtg gat ttt gag gat tgt			1152
Ala Leu Gly Glu Asn Met Ala Pro Glu Lys Val Asp Phe Glu Asp Cys			
370	375	380	
aaa gac atc aat gat tta aaa caa tat gac agt gat gag cca gaa aca			1200
Lys Asp Ile Asn Asp Leu Lys Gln Tyr Asp Ser Asp Glu Pro Glu Thr			
385	390	395	400
agg tct ctt gca agt tgg att caa agt gag ttc aac aaa gct tgt gag			1248
Arg Ser Leu Ala Ser Trp Ile Gln Ser Glu Phe Asn Lys Ala Cys Glu			
405	410	415	
ctg aca gat tca agc tgg ata gag ctc gat gaa att ggg gag gat gtc			1296
Leu Thr Asp Ser Ser Trp Ile Glu Leu Asp Glu Ile Gly Glu Asp Val			
420	425	430	
gcc cca ata gaa tac att gcg agc atg agg aga aat tat ttt act gct			1344
Ala Pro Ile Glu Tyr Ile Ala Ser Met Arg Arg Asn Tyr Phe Thr Ala			
435	440	445	
gag att tcc cat tgt aga gca aca gaa tat ata atg aaa gga gtg tac			1392
Glu Ile Ser His Cys Arg Ala Thr Glu Tyr Ile Met Lys Gly Val Tyr			
450	455	460	
atc aac act gct cta ctc aat gca tcc tgt gct gcg atg gat gaa ttt			1440
Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe			
465	470	475	480
caa tta att ccg atg ata agt aaa tgc agg acc aaa gaa ggg aga agg			1488

[0076]

Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg			
485	490	495	
aaa aca aat tta tat gga ttc ata ata aag gga agg tcc cat tta aga	1536		
Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg			
500	505	510	
aat gat act gac gtg gtg aac ttt gta agt atg gaa ttt tct ctc act	1584		
Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr			
515	520	525	
gat cca aga ttt gag cca cac aaa tgg gaa aaa tac tgc gtt cta gaa	1632		
Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu			
530	535	540	
att gga gac atg ctt cta aga act gct gta ggt caa gtg tca aga ccc	1680		
Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro			
545	550	555	560
atg ttt ttg tat gta agg aca aat gga acc tct aaa att aaa atg aaa	1728		
Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys			
565	570	575	
tgg gga atg gaa atg agg cgc tgc ctc ctt cag tct ctg caa cag att	1776		
Trp Gly Met Glu Met Arg Arg Cys Leu Leu Gln Ser Leu Gln Gln Ile			
580	585	590	
gaa agc atg atc gaa gct gag tcc tca gtc aaa gaa aag gac atg acc	1824		
Glu Ser Met Ile Glu Ala Glu Ser Ser Val Lys Glu Lys Asp Met Thr			
595	600	605	
aaa gaa ttt ttt gag aac aaa tca gag aca tgg cct ata gga gag tcc	1872		
Lys Glu Phe Phe Glu Asn Lys Ser Glu Thr Trp Pro Ile Gly Glu Ser			
610	615	620	
ccc aaa gga gtg gaa gag ggc tca atc ggg aag gtt tgc agg acc tta	1920		
Pro Lys Gly Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Lys Val Cys Arg Thr Leu			
625	630	635	640
tta gca aaa tct gtg ttt aac agt tta tat gca tct cca caa ctg gaa	1968		
Leu Ala Lys Ser Val Phe Asn Ser Leu Tyr Ala Ser Pro Gln Leu Glu			
645	650	655	
ggg ttt tca gct gaa tct agg aaa tta ctt ctc att gtt cag gct ctt	2016		

[0077]

Gly Phe Ser Ala Glu Ser Arg Lys Leu Leu Leu Ile Val Gln Ala Leu
660 665 670

agg gat gac ctg gaa cct gga acc ttt gat att ggg ggg tta tat gaa 2064
Arg Asp Asp Leu Glu Pro Gly Thr Phe Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Glu
675 680 685

tca att gag gag tgc ctg att aat gat ccc tgg gtt ttg ctt aat gca 2112
Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala
690 695 700

tct tgg ttc aac tcc ttc ctt aca cat gca ctg aag tag 2151
Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys
705 710 715

<210> 22
<211> 716
<212> PRT
<213> 流感病毒

<400> 22

Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu
1 5 10 15

Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr
20 25 30

Asn Lys Phe Ala Ala Ile Cys Thr His Leu Glu Val Cys Phe Met Tyr
35 40 45

Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu
50 55 60

Ser Gly Asp Pro Asn Ala Leu Leu Lys His Arg Phe Glu Ile Ile Glu
65 70 75 80

Gly Arg Asp Arg Thr Met Ala Trp Thr Val Val Asn Ser Ile Cys Asn

[0078]

85	90	95
Thr Thr Arg Ala Glu Lys Pro Lys Phe Leu Pro Asp Leu Tyr Asp Tyr		
100	105	110
Lys Glu Asn Arg Phe Val Glu Ile Gly Val Thr Arg Arg Glu Val His		
115	120	125
Ile Tyr Tyr Leu Glu Lys Ala Asn Lys Ile Lys Ser Glu Lys Thr His		
130	135	140
Ile His Ile Phe Ser Phe Thr Gly Glu Glu Met Ala Thr Lys Ala Asp		
145	150	155 160
Tyr Thr Leu Asp Glu Glu Ser Arg Ala Arg Ile Lys Thr Arg Leu Phe		
165	170	175
Thr Ile Arg Gln Glu Met Ala Ser Arg Gly Leu Trp Asp Ser Phe Arg		
180	185	190
Gln Ser Glu Arg Gly Glu Glu Thr Ile Glu Glu Arg Phe Glu Ile Thr		
195	200	205
Gly Thr Met Arg Lys Leu Ala Asn Tyr Ser Leu Pro Pro Asn Phe Ser		
210	215	220
Ser Leu Glu Asn Phe Arg Val Tyr Val Asp Gly Phe Glu Pro Asn Gly		
225	230	235 240
Cys Ile Glu Ser Lys Leu Ser Gln Met Ser Lys Glu Val Asn Ala Arg		
245	250	255
Ile Glu Pro Phe Ser Lys Thr Thr Pro Arg Pro Leu Lys Met Pro Gly		

[0079]

260	265	270
Gly Pro Pro Cys His Gln Arg Ser Lys Phe Leu Leu Met Asp Ala Leu		
275	280	285
Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu		
290	295	300
Tyr Asp Ala Ile Lys Cys Met Lys Thr Phe Phe Gly Trp Lys Glu Pro		
305	310	315 320
Ser Ile Val Lys Pro His Glu Lys Gly Ile Asn Pro Asn Tyr Leu Gln		
325	330	335
Thr Trp Lys Gln Val Leu Glu Glu Ile Gln Asp Leu Glu Asn Glu Glu		
340	345	350
Arg Thr Pro Lys Thr Lys Asn Met Lys Lys Thr Ser Gln Leu Lys Trp		
355	360	365
Ala Leu Gly Glu Asn Met Ala Pro Glu Lys Val Asp Phe Glu Asp Cys		
370	375	380
Lys Asp Ile Asn Asp Leu Lys Gln Tyr Asp Ser Asp Glu Pro Glu Thr		
385	390	395 400
Arg Ser Leu Ala Ser Trp Ile Gln Ser Glu Phe Asn Lys Ala Cys Glu		
405	410	415
Leu Thr Asp Ser Ser Trp Ile Glu Leu Asp Glu Ile Gly Glu Asp Val		
420	425	430
Ala Pro Ile Glu Tyr Ile Ala Ser Met Arg Arg Asn Tyr Phe Thr Ala		

[0080]

435	440	445
Glu Ile Ser His Cys Arg Ala Thr Glu Tyr Ile Met Lys Gly Val Tyr		
450	455	460
Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe		
465	470	475 480
Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg		
	485	490 495
Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg		
	500	505 510
Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr		
	515	520 525
Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu		
	530	535 540
Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro		
545	550	555 560
Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys		
	565	570 575
Trp Gly Met Glu Met Arg Arg Cys Leu Leu Gln Ser Leu Gln Gln Ile		
	580	585 590
Glu Ser Met Ile Glu Ala Glu Ser Ser Val Lys Glu Lys Asp Met Thr		
	595	600 605
Lys Glu Phe Phe Glu Asn Lys Ser Glu Thr Trp Pro Ile Gly Glu Ser		

[0081]

610	615	620	
Pro Lys Gly Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Lys Val Cys Arg Thr Leu			
625	630	635	640
Leu Ala Lys Ser Val Phe Asn Ser Leu Tyr Ala Ser Pro Gln Leu Glu			
	645	650	655
Gly Phe Ser Ala Glu Ser Arg Lys Leu Leu Leu Ile Val Gln Ala Leu			
	660	665	670
Arg Asp Asp Leu Glu Pro Gly Thr Phe Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Glu			
	675	680	685
Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala			
	690	695	700
Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys			
	705	710	715

<210> 23
<211> 838
<212> DNA
<213> 流感病毒

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(657)

<400> 23	
atg gat tcc aac act gtg tca agc ttt cag gta gac tgt ttt ctt tgg	48
Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp	
1 5 10 15	
cat gtc cgc aaa cga ttc gca gac caa gaa ctg ggt gat gcc cca ttc	96
His Val Arg Lys Arg Phe Ala Asp Gln Glu Leu Gly Asp Ala Pro Phe	

[0082]

20	25	30	
ctt gac cgg ctt cgc cga gac cag aag tcc cta agg gga aga ggt agc			144
Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser			
35	40	45	
act ctt ggt ctg gac atc gaa aca gcc act cat gca gga aag cag ata			192
Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr His Ala Gly Lys Gln Ile			
50	55	60	
gtg gag cag att ctg gaa aag gaa tca gat gag gca ctt aaa atg acc			240
Val Glu Gln Ile Leu Glu Lys Glu Ser Asp Glu Ala Leu Lys Met Thr			
65	70	75	80
att gcc tct gtt cct act tca cgc tac tta act gac atg act ctt gat			288
Ile Ala Ser Val Pro Thr Ser Arg Tyr Leu Thr Asp Met Thr Leu Asp			
85	90	95	
gag atg tca aga gac tgg ttc atg ctc atg ccc aag caa aaa gta aca			336
Glu Met Ser Arg Asp Trp Phe Met Leu Met Pro Lys Gln Lys Val Thr			
100	105	110	
ggc tcc cta tgt ata aga atg gac cag gca atc atg gat aag aac atc			384
Gly Ser Leu Cys Ile Arg Met Asp Gln Ala Ile Met Asp Lys Asn Ile			
115	120	125	
ata ctt aaa gca aac ttt agt gtg att ttc gaa ggg ctg gaa aca cta			432
Ile Leu Lys Ala Asn Phe Ser Val Ile Phe Glu Gly Leu Glu Thr Leu			
130	135	140	
ata cta ctt aga gcc ttc acc gaa gaa gga gca gtc gtt ggc gaa att			480
Ile Leu Leu Arg Ala Phe Thr Glu Glu Gly Ala Val Val Gly Glu Ile			
145	150	155	160
tca cca tta cct tct ctt cca gga cat act aat gag gat gtc aaa aat			528
Ser Pro Leu Pro Ser Leu Pro Gly His Thr Asn Glu Asp Val Lys Asn			
165	170	175	
gca att ggg gtc ctc atc gga gga ctt aaa tgg aat gat aat acg gtt			576
Ala Ile Gly Val Leu Ile Gly Gly Leu Lys Trp Asn Asp Asn Thr Val			
180	185	190	
aga atc tct gaa act cta cag aga ttc gct tgg aga agc agt cat gag			624
Arg Ile Ser Glu Thr Leu Gln Arg Phe Ala Trp Arg Ser Ser His Glu			

[0083]

Ile Ala Ser Val Pro Thr Ser Arg Tyr Leu Thr Asp Met Thr Leu Asp
85 90 95

201

Glu Met Ser Arg Asp Trp Phe Met Leu Met Pro Lys Gln Lys Val Thr
100 105 110

Gly Ser Leu Cys Ile Arg Met Asp Gln Ala Ile Met Asp Lys Asn Ile
115 120 125

Ile Leu Lys Ala Asn Phe Ser Val Ile Phe Glu Gly Leu Glu Thr Leu
130 135 140

Ile Leu Leu Arg Ala Phe Thr Glu Glu Gly Ala Val Val Gly Glu Ile
145 150 155 160

Ser Pro Leu Pro Ser Leu Pro Gly His Thr Asn Glu Asp Val Lys Asn
165 170 175

Ala Ile Gly Val Leu Ile Gly Gly Leu Lys Trp Asn Asp Asn Thr Val
180 185 190

Arg Ile Ser Glu Thr Leu Gln Arg Phe Ala Trp Arg Ser Ser His Glu
195 200 205

Asn Gly Arg Pro Ser Phe Pro Ser Lys Gln Lys
210 215

<210> 25

<211> 1497

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1497)

<400> 25

atg ggc tct caa ggc acc aaa cga tcc tat gaa cag atg gaa act gat

48

[0085]

Met Ala Ser Gln Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Asp	
1 5 10 15	
ggg gaa cgc cag aat gca act gaa atc aga gca tct gtc gga agg atg	96
Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met	
20 25 30	
gtg gga gga atc ggc cgg ttt tat gtt cag atg tgt act gag ctt aaa	144
Val Gly Gly Ile Gly Arg Phe Tyr Val Gln Met Cys Thr Glu Leu Lys	
35 40 45	
cta aac gac cat gaa ggg cgg ctg att cag aac agc ata aca ata gaa	192
Leu Asn Asp His Glu Gly Arg Leu Ile Gln Asn Ser Ile Thr Ile Glu	
50 55 60	
agg atg gta ctt tcg gca ttc gac gaa aga aga aac aag tat ctc gag	240
Arg Met Val Leu Ser Ala Phe Asp Glu Arg Arg Asn Lys Tyr Leu Glu	
65 70 75 80	
gag cat ccc agt gct ggg aaa gac cct aag aaa acg gga ggc ccg ata	288
Glu His Pro Ser Ala Gly Lys Asp Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Ile	
85 90 95	
tac aga agg aaa gat ggg aaa tgg atg agg gaa ctc atc ctc cat gat	336
Tyr Arg Arg Lys Asp Gly Lys Trp Met Arg Glu Leu Ile Leu His Asp	
100 105 110	
aaa gaa gaa atc atg aga atc tgg cgt cag gcc aac aat ggt gaa gac	384
Lys Glu Glu Ile Met Arg Ile Trp Arg Gln Ala Asn Asn Gly Glu Asp	
115 120 125	
gct act gct ggt ctt act cat atg atg atc tgg cac tcc aat ctc aat	432
Ala Thr Ala Gly Leu Thr His Met Met Ile Trp His Ser Asn Leu Asn	
130 135 140	
gac acc aca tac caa aga aca agg gct ctt gtt cgg act ggg atg gat	480
Asp Thr Thr Tyr Gln Arg Thr Arg Ala Leu Val Arg Thr Gly Met Asp	
145 150 155 160	
ccc aga atg tgc tct ctg atg caa ggc tca acc ctc cca cgg aga tct	528
Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser	
165 170 175	
gga gcc gct ggt gct gca gta aaa ggt gtt gga aca atg gta atg gaa	576

[0086]

Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu	
180 185 190	
ctc atc aga atg atc aaa cgc gga ata aat gat cgg aat ttc tgg aga	624
Leu Ile Arg Met Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg	
195 200 205	
ggt gaa aat ggt cga aga acc aga att gct tat gaa aga atg tgc aat	672
Gly Glu Asn Gly Arg Arg Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn	
210 215 220	
atc ctc aaa ggg aaa ttt cag aca gca gca caa cgg gct atg atg gac	720
Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp	
225 230 235 240	
cag gtg agg gaa ggc cgc aat cct gga aac gct gag att gag gat ctc	768
Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu	
245 250 255	
att ttc ttg gca cga tca gca ctt att ttg aga gga tca gta gcc cat	816
Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His	
260 265 270	
aaa tca tgc cta cct gcc tgt gtt tat ggc ctt gca gta acc agt ggg	864
Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Val Thr Ser Gly	
275 280 285	
tat gac ttt gag aag gaa gga tac tct ctg gtt gga att gat cct ttc	912
Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe	
290 295 300	
aaa cta ctc cag aac agt caa att ttc agt cta atc aga cca aaa gaa	960
Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu	
305 310 315 320	
aac cca gca cac aag agc cag ttg gtg tgg atg gca tgc cat tct gca	1008
Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala	
325 330 335	
gca ttt gag gac ctg aga gtt tta aat ttc att aga gga acc aaa gta	1056
Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val	
340 345 350	
atc cca aga gga cag tta aca acc aga gga gtt caa att gct tca aat	1104

[0087]

Ile Pro Arg Gly Gln Leu Thr Thr Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn	
355 360 365	
gaa aac atg gag aca ata gat tct agc aca ctt gaa ctg aga agc aaa	1152
Glu Asn Met Glu Thr Ile Asp Ser Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Lys	
370 375 380	
tat tgg gca ata agg acc aga agc gga gga aac acc agt caa cag aga	1200
Tyr Trp Ala Ile Arg Thr Arg Ser Gly Gly Asn Thr Ser Gln Gln Arg	
385 390 395 400	
gca tct gca gga cag ata agt gtg caa cct act ttc tca gta cag aga	1248
Ala Ser Ala Gly Gln Ile Ser Val Gln Pro Thr Phe Ser Val Gln Arg	
405 410 415	
aat ctt ccc ttt gag aga gca acc att atg gct gca ttc act ggt aac	1296
Asn Leu Pro Phe Glu Arg Ala Thr Ile Met Ala Ala Phe Thr Gly Asn	
420 425 430	
act gaa ggg agg act tcc gac atg aga acg gaa atc ata agg atg atg	1344
Thr Glu Gly Arg Thr Ser Asp Met Arg Thr Glu Ile Ile Arg Met Met	
435 440 445	
gaa aat gcc aaa tca gaa gat gtg tct ttc cag ggg cgg gga gtc ttc	1392
Glu Asn Ala Lys Ser Glu Asp Val Ser Phe Gln Gly Arg Gly Val Phe	
450 455 460	
gag ctc tcg gac gaa aag gca acg aac ccg atc gtg cct tcc ttt gac	1440
Glu Leu Ser Asp Glu Lys Ala Thr Asn Pro Ile Val Pro Ser Phe Asp	
465 470 475 480	
atg agc aat gaa ggg tct tat ttc ttc gga gac aat gct gag gag ttt	1488
Met Ser Asn Glu Gly Ser Tyr Phe Phe Gly Asp Asn Ala Glu Glu Phe	
485 490 495	
gac agt taa	1497
Asp Ser	

<210> 26

<211> 498

<212> PRT

<213> 流感病毒

[0088]

<400> 26

Met Ala Ser Gln Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Asp
1 5 10 15

Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met
 20 25 30

Val Gly Gly Ile Gly Arg Phe Tyr Val Gln Met Cys Thr Glu Leu Lys
 35 40 45

Leu Asn Asp His Glu Gly Arg Leu Ile Gln Asn Ser Ile Thr Ile Glu
 50 55 60

Arg Met Val Leu Ser Ala Phe Asp Glu Arg Arg Asn Lys Tyr Leu Glu
65 70 75 80

Glu His Pro Ser Ala Gly Lys Asp Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Ile
 85 90 95

Tyr Arg Arg Lys Asp Gly Lys Trp Met Arg Glu Leu Ile Leu His Asp
 100 105 110

Lys Glu Glu Ile Met Arg Ile Trp Arg Gln Ala Asn Asn Gly Glu Asp
 115 120 125

Ala Thr Ala Gly Leu Thr His Met Met Ile Trp His Ser Asn Leu Asn
 130 135 140

Asp Thr Thr Tyr Gln Arg Thr Arg Ala Leu Val Arg Thr Gly Met Asp
145 150 155 160

Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser

[0089]

165	170	175
Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu		
180	185	190
Leu Ile Arg Met Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg		
195	200	205
Gly Glu Asn Gly Arg Arg Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn		
210	215	220
Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp		
225	230	235 240
Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu		
245	250	255
Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His		
260	265	270
Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Val Thr Ser Gly		
275	280	285
Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe		
290	295	300
Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu		
305	310	315 320
Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala		
325	330	335
Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val		

[0090]

340	345	350
Ile Pro Arg Gly Gln Leu Thr Thr Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn		
355	360	365
Glu Asn Met Glu Thr Ile Asp Ser Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Lys		
370	375	380
Tyr Trp Ala Ile Arg Thr Arg Ser Gly Gly Asn Thr Ser Gln Gln Arg		
385	390	395 400
Ala Ser Ala Gly Gln Ile Ser Val Gln Pro Thr Phe Ser Val Gln Arg		
405	410	415
Asn Leu Pro Phe Glu Arg Ala Thr Ile Met Ala Ala Phe Thr Gly Asn		
420	425	430
Thr Glu Gly Arg Thr Ser Asp Met Arg Thr Glu Ile Ile Arg Met Met		
435	440	445
Glu Asn Ala Lys Ser Glu Asp Val Ser Phe Gln Gly Arg Gly Val Phe		
450	455	460
Glu Leu Ser Asp Glu Lys Ala Thr Asn Pro Ile Val Pro Ser Phe Asp		
465	470	475 480
Met Ser Asn Glu Gly Ser Tyr Phe Phe Gly Asp Asn Ala Glu Glu Phe		
485	490	495
Asp Ser		

<210> 27

[0091]

<211> 1410

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (1410)

<400> 27

atg aat cca aat caa aag ata ata aca att gga ttt gca tca ttg ggg 48

Met Asn Pro Asn Gln Lys Ile Ile Thr Ile Gly Phe Ala Ser Leu Gly

1

5

10

15

ata tta atc att aat gtc att etc cat gta gtc agc att ata gta aca 96

Ile Leu Ile Ile Asn Val Ile Leu His Val Val Ser Ile Ile Val Thr

20

25

30

gta ctg gtc etc aat aac aat aga aca gat ctg aac tgc aaa ggg acg 144

Val Leu Val Leu Asn Asn Asn Arg Thr Asp Leu Asn Cys Lys Gly Thr

35

40

45

atc ata aga gag tac aat gaa aca gta aga gta gaa aaa att act caa 192

Ile Ile Arg Glu Tyr Asn Glu Thr Val Arg Val Glu Lys Ile Thr Gln

50

55

60

tgg tat aat acc agt aca att aag tac ata gag aga cct tca aat gaa 240

Trp Tyr Asn Thr Ser Thr Ile Lys Tyr Ile Glu Arg Pro Ser Asn Glu

65

70

75

80

tac tac atg aac aac act gaa cca ctt tgt gag gcc caa ggc ttt gca 288

Tyr Tyr Met Asn Asn Thr Glu Pro Leu Cys Glu Ala Gln Gly Phe Ala

85

90

95

cca ttt tcc aaa gat aat gga ata cga att ggg tcg aga ggc cat gtt 336

Pro Phe Ser Lys Asp Asn Gly Ile Arg Ile Gly Ser Arg Gly His Val

100

105

110

ttt gtg ata aga gaa cct ttt gta tca tgt tcg ccc tca gaa tgt aga 384

Phe Val Ile Arg Glu Pro Phe Val Ser Cys Ser Pro Ser Glu Cys Arg

115

120

125

acc ttt ttc etc aca cag ggc tca tta etc aat gac aaa cat tct aac 432

Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn

[0092]

130	135	140	
ggc aca gta aag gac cga agt ccg tat agg act ttg atg agt gtc aaa			480
Gly Thr Val Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys			
145	150	155	160
ata ggg caa tca cct aat gta tat caa gct agg ttt gaa tcg gtg gca			528
Ile Gly Gln Ser Pro Asn Val Tyr Gln Ala Arg Phe Glu Ser Val Ala			
	165	170	175
tgg tca gca aca gca tgc cat gat gga aaa aaa tgg atg aca gtt gga			576
Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly			
	180	185	190
gtc aca ggg ccc gac aat caa gca att gca gta gtg aac tat gga ggt			624
Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly			
	195	200	205
gtt ccg gtt gat att att aat tca tgg gca ggg gat att tta aga acc			672
Val Pro Val Asp Ile Ile Asn Ser Trp Ala Gly Asp Ile Leu Arg Thr			
	210	215	220
caa gaa tca tca tgc acc tgc att aaa gga gac tgt tat tgg gta atg			720
Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met			
225	230	235	240
act gat gga ccg gca aat agg caa gct aaa tat agg ata ttc aaa gca			768
Thr Asp Gly Pro Ala Asn Arg Gln Ala Lys Tyr Arg Ile Phe Lys Ala			
	245	250	255
aaa gat gga aga gta att gga cag act gat ata agt ttc aat ggg gga			816
Lys Asp Gly Arg Val Ile Gly Gln Thr Asp Ile Ser Phe Asn Gly Gly			
	260	265	270
cac ata gag gag tgt tct tgt tac ccc aat gaa ggg aag gtg gaa tgc			864
His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Asn Glu Gly Lys Val Glu Cys			
	275	280	285
ata tgc agg gac aat tgg act gga aca aat aga cca att ctg gta ata			912
Ile Cys Arg Asp Asn Trp Thr Gly Thr Asn Arg Pro Ile Leu Val Ile			
	290	295	300
tct tct gat cta tcg tac aca gtt gga tat ttg tgt gct ggc att ccc			960
Ser Ser Asp Leu Ser Tyr Thr Val Gly Tyr Leu Cys Ala Gly Ile Pro			

[0093]

305	310	315	320	
act gac act cct agg gga gag gat agt caa ttc aca ggc tca tgt aca				1008
Thr Asp Thr Pro Arg Gly Glu Asp Ser Gln Phe Thr Gly Ser Cys Thr				
325	330	335		
agt cct ttg gga aat aaa gga tac ggt gta aaa ggt ttc ggg ttt cga				1056
Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg				
340	345	350		
caa gga act gac gta tgg gcc gga agg aca att agt agg act tca aga				1104
Gln Gly Thr Asp Val Trp Ala Gly Arg Thr Ile Ser Arg Thr Ser Arg				
355	360	365		
tca gga ttc gaa ata ata aaa atc agg aat ggt tgg aca cag aac agt				1152
Ser Gly Phe Glu Ile Ile Lys Ile Arg Asn Gly Trp Thr Gln Asn Ser				
370	375	380		
aaa gac caa atc agg agg caa gtg att atc gat gac cca aat tgg tca				1200
Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser				
385	390	395	400	
gga tat agc ggt tct ttc aca ttg ccg gtt gaa cta aca aaa aag gga				1248
Gly Tyr Ser Gly Ser Phe Thr Leu Pro Val Glu Leu Thr Lys Lys Gly				
405	410	415		
tgt ttg gtc ccc tgt ttc tgg gtt gaa atg att aga ggt aaa cct gaa				1296
Cys Leu Val Pro Cys Phe Trp Val Glu Met Ile Arg Gly Lys Pro Glu				
420	425	430		
gaa aca aca ata tgg acc tct agc agc tcc att gtg atg tgt gga gta				1344
Glu Thr Thr Ile Trp Thr Ser Ser Ser Ser Ile Val Met Cys Gly Val				
435	440	445		
gat cat aaa att gcc agt tgg tca tgg cac gat gga gct att ctt ccc				1392
Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro				
450	455	460		
ttt gac atc gat aag atg				1410
Phe Asp Ile Asp Lys Met				
465	470			

<210> 28

[0094]

<211> 470

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 28

Met Asn Pro Asn Gln Lys Ile Ile Thr Ile Gly Phe Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Ile Leu Ile Ile Asn Val Ile Leu His Val Val Ser Ile Ile Val Thr
20 25 30

Val Leu Val Leu Asn Asn Asn Arg Thr Asp Leu Asn Cys Lys Gly Thr
35 40 45

Ile Ile Arg Glu Tyr Asn Glu Thr Val Arg Val Glu Lys Ile Thr Gln
50 55 60

Trp Tyr Asn Thr Ser Thr Ile Lys Tyr Ile Glu Arg Pro Ser Asn Glu
65 70 75 80

Tyr Tyr Met Asn Asn Thr Glu Pro Leu Cys Glu Ala Gln Gly Phe Ala
85 90 95

Pro Phe Ser Lys Asp Asn Gly Ile Arg Ile Gly Ser Arg Gly His Val
100 105 110

Phe Val Ile Arg Glu Pro Phe Val Ser Cys Ser Pro Ser Glu Cys Arg
115 120 125

Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn
130 135 140

Gly Thr Val Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys
145 150 155 160

[0095]

Ile Gly Gln Ser Pro Asn Val Tyr Gln Ala Arg Phe Glu Ser Val Ala
165 170 175

Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly
180 185 190

Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly
195 200 205

Val Pro Val Asp Ile Ile Asn Ser Trp Ala Gly Asp Ile Leu Arg Thr
210 215 220

Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met
225 230 235 240

Thr Asp Gly Pro Ala Asn Arg Gln Ala Lys Tyr Arg Ile Phe Lys Ala
245 250 255

Lys Asp Gly Arg Val Ile Gly Gln Thr Asp Ile Ser Phe Asn Gly Gly
260 265 270

His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Asn Glu Gly Lys Val Glu Cys
275 280 285

Ile Cys Arg Asp Asn Trp Thr Gly Thr Asn Arg Pro Ile Leu Val Ile
290 295 300

Ser Ser Asp Leu Ser Tyr Thr Val Gly Tyr Leu Cys Ala Gly Ile Pro
305 310 315 320

Thr Asp Thr Pro Arg Gly Glu Asp Ser Gln Phe Thr Gly Ser Cys Thr
325 330 335

[0096]

Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg
340 345 350

Gln Gly Thr Asp Val Trp Ala Gly Arg Thr Ile Ser Arg Thr Ser Arg
355 360 365

Ser Gly Phe Glu Ile Ile Lys Ile Arg Asn Gly Trp Thr Gln Asn Ser
370 375 380

Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser
385 390 395 400

Gly Tyr Ser Gly Ser Phe Thr Leu Pro Val Glu Leu Thr Lys Lys Gly
405 410 415

Cys Leu Val Pro Cys Phe Trp Val Glu Met Ile Arg Gly Lys Pro Glu
420 425 430

Glu Thr Thr Ile Trp Thr Ser Ser Ser Ser Ile Val Met Cys Gly Val
435 440 445

Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro
450 455 460

Phe Asp Ile Asp Lys Met
465 470

<210> 29
<211> 982
<212> DNA
<213> 流感病毒

[0097]

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (756)

<400> 29

atg agt ctt cta acc gag gtc gaa acg tac gtt ctc tct atc gta cca 48

Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro

1 5 10 15

tca ggc ccc ctc aaa gcc gag atc gcg cag aga ctt gaa gat gtc ttt 96

Ser Gly Pro Leu Lys Ala Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe

20 25 30

gca ggg aag aac acc gat ctt gag gca ctc atg gaa tgg cta aag aca 144

Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr

35 40 45

aga cca atc ctg tca cct ctg act aaa ggg att tta gga ttt gta ttc 192

Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe

50 55 60

acg ctc acc gtg ccc agt gag cga gga ctg cag cgt aga cgc ttt gtc 240

Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val

65 70 75 80

caa aat gcc ctt agt gga aac gga gat cca aac aac atg gac aga gca 288

Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala

85 90 95

gta aaa ctg tac agg aag ctt aaa aga gaa ata aca ttc cat ggg gca 336

Val Lys Leu Tyr Arg Lys Leu Lys Arg Glu Ile Thr Phe His Gly Ala

100 105 110

aaa gag gtg gca ctc agc tat tcc act ggt gca cta gcc agc tgc atg 384

Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met

115 120 125

gga ctc ata tac aac aga atg gga act gtt aca acc gaa gtg gca ttt 432

Gly Leu Ile Tyr Asn Arg Met Gly Thr Val Thr Thr Glu Val Ala Phe

130 135 140

ggc ctg gta tgc gcc aca tgt gaa cag att gct gat tcc cag cat cga 480

Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg

145 150 155 160

[0098]

tct cac agg cag atg gtg aca aca acc aac cca tta atc aga cat gaa	528
Ser His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu	
165 170 175	
aac aga atg gta tta gcc agt acc acg gct aaa gcc atg gaa cag atg	576
Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met	
180 185 190	
gca gga tcg agt gag cag gca gca gag gcc atg gag gtt gct agt agg	624
Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Arg	
195 200 205	
gct agg cag atg gta cag gca atg aga acc att ggg acc cac cct agc	672
Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser	
210 215 220	
tcc agt gcc ggt ttg aaa gat gat ctc ctt gaa aat tta cag gcc tac	720
Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr	
225 230 235 240	
cag aaa cgg atg gga gtg caa atg cag cga ttc aag tgatcctctc	766
Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys	
245 250	
gttattgcag caagtatcat tgggatcttg cacttgatat tgtggattct tgatcgtctt	826
ttcttcaaatt tcatttatcg tcgccttaaa tacgggttga aaagagggcc ttctacggaa	886
ggagtacctg agtctatgag ggaagaatat cggcaggaac agcagaatgc tgtggatgtt	946
gacgatggtc attttgtcaa catagagctg gagtaa	982

<210> 30

<211> 252

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 30

Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro
1 5 10 15

[0099]

Ser Gly Pro Leu Lys Ala Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe
20 25 30

Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr
35 40 45

Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe
50 55 60

Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val
65 70 75 80

Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala
85 90 95

Val Lys Leu Tyr Arg Lys Leu Lys Arg Glu Ile Thr Phe His Gly Ala
100 105 110

Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met
115 120 125

Gly Leu Ile Tyr Asn Arg Met Gly Thr Val Thr Thr Glu Val Ala Phe
130 135 140

Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg
145 150 155 160

Ser His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu
165 170 175

Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met
180 185 190

[0100]

Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Arg
195 200 205

Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser
210 215 220

Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr
225 230 235 240

Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys
245 250

<210> 31
<211> 1698
<212> DNA
<213> 流感病毒

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1698)

<400> 31
atg aag aca acc att att ttg ata cta ctg acc cat tgg gcc tac agt 48
Met Lys Thr Thr Ile Ile Leu Ile Leu Leu Thr His Trp Ala Tyr Ser
1 5 10 15
caa aac cca atc agt gac aac aac aca gcc aca ctg tgt ctg gga cac 96
Gln Asn Pro Ile Ser Asp Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His
20 25 30
cat gca gta gca aat gga aca ttg gta aaa aca ata agt gat gat caa 144
His Ala Val Ala Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Ile Ser Asp Asp Gln
35 40 45
att gag gtg aca aat gct aca gaa tta gtt cag agc att tca atg ggg 192
Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly
50 55 60

[0101]

aaa ata tgc aac aaa tca tat aga att cta gat gga aga aat tgc aca	240
Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr	
65 70 75 80	
tta ata gat gca atg cta gga gac ccc cac tgt gac gcc ttt cag tat	288
Leu Ile Asp Ala Met Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Ala Phe Gln Tyr	
85 90 95	
gag agt tgg gac ctc ttt ata gaa aga agc agc gct ttc agc aat tgc	336
Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Ser Ala Phe Ser Asn Cys	
100 105 110	
tac cca tat gac atc cct gac tat gca tgc ctc cga tcc att gta gca	384
Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Ile Val Ala	
115 120 125	
tcc tca gga aca ttg gaa ttc aca gca gag gga ttc aca tgg aca ggt	432
Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly	
130 135 140	
gtc act caa aac gga aga agt gga gcc tgc aaa agg gga tca gcc gat	480
Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp	
145 150 155 160	
agt ttc ttt agc cga ctg aat tgg cta aca aaa tct gga agc tct tac	528
Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr	
165 170 175	
ccc aca ttg aat gtg aca atg cct aac aat aaa aat ttc gac aag cta	576
Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu	
180 185 190	
tac atc tgg ggg att cat cac ccg agc tca aat caa gag cag aca aaa	624
Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Ser Asn Gln Glu Gln Thr Lys	
195 200 205	
ttg tac atc caa gaa tca gga cga gta aca gtc tca aca aaa aga agt	672
Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser	
210 215 220	
caa caa aca ata atc cct aac atc gga tct aga ccg ttg gtc aga ggt	720
Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly	
225 230 235 240	

[0102]

caa tca ggc agg ata agc ata tac tgg acc att gta aaa cct gga gat	768
Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp	
245 250 255	
atc cta atg ata aac agt aat ggc aac tta gtt gca ccg cgg gga tat	816
Ile Leu Met Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Val Ala Pro Arg Gly Tyr	
260 265 270	
ttt aaa ttg aaa aca ggg aaa agc tct gta atg aga tca gat gta ccc	864
Phe Lys Leu Lys Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Val Pro	
275 280 285	
ata gac att tgt gtg tct gaa tgt att aca cca aat gga agc atc tcc	912
Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser	
290 295 300	
aac gac aag cca ttc caa aat gtg aac aaa gtt aca tat gga aaa tgc	960
Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys	
305 310 315 320	
ccc aag tat atc agg caa aac act tta aag ctg gcc act ggg atg agg	1008
Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg	
325 330 335	
aat gta cca gaa aag caa acc aga gga atc ttt gga gca ata gcg gga	1056
Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly	
340 345 350	
ttc atc gaa aac ggc tgg gaa gga atg gtt gat ggg tgg tat ggg ttc	1104
Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe	
355 360 365	
cga tat caa aac tct gaa gga aca ggg caa gct gca gat cta aag agc	1152
Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser	
370 375 380	
act caa gca gcc atc gac cag att aat gga aag tta aac aga gtg att	1200
Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile	
385 390 395 400	
gaa aga acc aat gag aaa ttc cat caa ata gag aag gaa ttc tca gaa	1248
Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu	
405 410 415	

[0103]

gta gaa gga aga att cag gac ttg gag aaa tat gta gaa gac acc aaa	1296
Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys	
420 425 430	
ata gac cta tgg tcc tac aat gca gaa ttg ctg gtg gct cta gaa aat	1344
Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn	
435 440 445	
caa cat aca att gac tta aca gat gca gaa atg aat aaa tta ttt gag	1392
Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu	
450 455 460	
aag act aga cgc cag tta aga gaa aac gca gaa gac atg gga ggt gga	1440
Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly	
465 470 475 480	
tgt ttc aag att tac cac aaa tgt gat aat gca tgc att gga tca ata	1488
Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser Ile	
485 490 495	
aga act ggg aca tat gac cat tac ata tac aga gat gaa gca tta aac	1536
Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Arg Asp Glu Ala Leu Asn	
500 505 510	
aac cga ttt cag atc aaa ggt gta gag ttg aaa tca ggc tac aaa gat	1584
Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp	
515 520 525	
tgg ata ctg tgg att tca ttc gcc ata tca tgc ttc tta att tgc gtt	1632
Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val	
530 535 540	
gtt cta ttg ggt ttc att atg tgg gct tgc caa aaa ggc aac atc aga	1680
Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile Arg	
545 550 555 560	
tgc aac att tgc att tga	1698
Cys Asn Ile Cys Ile	
565	

<210> 32

<211> 565

<212> PRT

[0104]

<213> 流感病毒

<400> 32

Met Lys Thr Thr Ile Ile Leu Ile Leu Leu Thr His Trp Ala Tyr Ser
1 5 10 15

Gln Asn Pro Ile Ser Asp Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His
20 25 30

His Ala Val Ala Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Ile Ser Asp Asp Gln
35 40 45

Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly
50 55 60

Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr
65 70 75 80

Leu Ile Asp Ala Met Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Ala Phe Gln Tyr
85 90 95

Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Ser Ala Phe Ser Asn Cys
100 105 110

Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Ile Val Ala
115 120 125

Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly
130 135 140

Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp
145 150 155 160

[0105]

Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr
165 170 175

Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu
180 185 190

Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Ser Asn Gln Glu Gln Thr Lys
195 200 205

Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser
210 215 220

Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly
225 230 235 240

Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp
245 250 255

Ile Leu Met Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Val Ala Pro Arg Gly Tyr
260 265 270

Phe Lys Leu Lys Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Val Pro
275 280 285

Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser
290 295 300

Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys
305 310 315 320

Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg
325 330 335

[0106]

Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly
340 345 350

Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe
355 360 365

Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser
370 375 380

Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile
385 390 395 400

Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu
405 410 415

Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys
420 425 430

Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn
435 440 445

Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu
450 455 460

Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly
465 470 475 480

Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser Ile
485 490 495

Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Arg Asp Glu Ala Leu Asn
500 505 510

[0107]

Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp
515 520 525

Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val
530 535 540

Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile Arg
545 550 555 560

Cys Asn Ile Cys Ile
565

<210> 33

<211> 549

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 33

Gln Asn Pro Ile Ser Gly Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His
1 5 10 15

His Ala Val Ala Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Met Ser Asp Asp Gln
20 25 30

Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly
35 40 45

Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr
50 55 60

Leu Ile Asp Ala Met Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Ala Phe Gln Tyr
65 70 75 80

Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Asn Ala Phe Ser Asn Cys

[0108]

	85	90	95
Tyr Pro Tyr Asp lle Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Ile Val Ala			
	100	105	110
Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly			
	115	120	125
Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp			
	130	135	140
Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr			
	145	150	155
Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu			
	165	170	175
Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Ser Asn Gln Glu Gln Thr Lys			
	180	185	190
Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser			
	195	200	205
Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly			
	210	215	220
Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp			
	225	230	235
Ile Leu Met Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Val Ala Pro Arg Gly Tyr			
	245	250	255
Phe Lys Leu Lys Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Ala Pro			

[0109]

260	265	270
Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser		
275	280	285
Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys		
290	295	300
Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg		
305	310	315 320
Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly		
325	330	335
Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe		
340	345	350
Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser		
355	360	365
Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile		
370	375	380
Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu		
385	390	395 400
Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys		
405	410	415
Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn		
420	425	430
Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu		

[0110]

435	440	445
Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly		
450	455	460
Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser Ile		
465	470	475 480
Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Arg Asp Glu Ala Leu Asn		
485	490	495
Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp		
500	505	510
Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val		
515	520	525
Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Arg Gly Asn Ile Arg		
530	535	540
Cys Asn Ile Cys Ile		
545		
<210> 34		
<211> 549		
<212> PRT		
<213> 流感病毒		
<400> 34		
Gln Asn Pro Ile Ser Asp Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His		
1 5 10 15		
His Ala Val Ala Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Ile Ser Asp Asp Gln		
20 25 30		

[0111]

Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly
35 40 45

Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr
50 55 60

Leu Ile Asp Ala Met Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Ala Phe Gln Tyr
65 70 75 80

Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Ser Ala Phe Ser Asn Cys
85 90 95

Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Ile Val Ala
100 105 110

Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly
115 120 125

Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp
130 135 140

Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr
145 150 155 160

Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu
165 170 175

Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Ser Asn Gln Glu Gln Thr Lys
180 185 190

Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser
195 200 205

[0112]

Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly
210 215 220

Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp
225 230 235 240

Ile Leu Met Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Val Ala Pro Arg Gly Tyr
245 250 255

Phe Lys Leu Lys Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Val Pro
260 265 270

Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser
275 280 285

Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys
290 295 300

Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg
305 310 315 320

Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly
325 330 335

Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe
340 345 350

Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser
355 360 365

Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile
370 375 380

[0113]

Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu
385 390 395 400

Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys
405 410 415

Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn
420 425 430

Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu
435 440 445

Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly
450 455 460

Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser Ile
465 470 475 480

Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Arg Asp Glu Ala Leu Asn
485 490 495

Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp
500 505 510

Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val
515 520 525

Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile Arg
530 535 540

Cys Asn Ile Cys Ile
545

[0114]

<210>	35	
<211>	9	
<212>	DNA	
<213>	流感病毒	
<400>	35	
	gagagttgg	9
<210>	36	
<211>	9	
<212>	DNA	
<213>	流感病毒	
<400>	36	
	ccgttggtc	9
<210>	37	
<211>	9	
<212>	DNA	
<213>	流感病毒	
<400>	37	
	caaaccaga	9
<210>	38	
<211>	9	
<212>	DNA	
<213>	流感病毒	
<400>	38	
	agaactggg	9
<210>	39	
<211>	15	
<212>	DNA	
<213>	流感病毒	
<400>	39	

[0115]

tatgagagtt gggac

15

<210> 40

<211> 15

<212> DNA

<213> 流感病毒

<400> 40

agaccgttgg tcaga

15

<210> 41

<211> 15

<212> DNA

<213> 流感病毒

<400> 41

aagcaaacca gagga

15

<210> 42

<211> 15

<212> DNA

<213> 流感病毒

<400> 42

ataagaactg ggaca

15

<210> 43

<211> 9

<212> DNA

<213> 流感病毒

<400> 43

acaatgagt

9

<210> 44

<211> 15

<212> DNA

<213> 流感病毒

[0116]

<400> 44	
aaaacaatga gtgat	15
<210> 45	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> 流感病毒	
<400> 45	
gatgtaccc	9
<210> 46	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> 流感病毒	
<400> 46	
tcagatgtac ccata	15
<210> 47	
<211> 2280	
<212> DNA	
<213> 流感病毒	
<220>	
<221> CDS	
<222> (1).. (2280)	
<400> 47	
atg gag aga ata aaa gaa ctg aga gat ctg atg tta caa tcc cgc acc	48
Met Glu Arg Ile Lys Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr	
1 5 10 15	
cgc gag ata cta aca aaa act act gtg gac cac atg gcc ata atc aag	96
Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys	
20 25 30	
aaa tac aca tca gga aga caa gag aag aac cct gca ctt agg atg aaa	144
Lys Tyr Thr Ser Gly Arg Gln Glu Lys Asn Pro Ala Leu Arg Met Lys	
35 40 45	

[0117]

tgg atg atg gca atg aaa tac cca att aca gca gat aag agg ata atg Trp Met Met Ala Met Lys Tyr Pro Ile Thr Ala Asp Lys Arg Ile Met 50 55 60	192
gag atg att cct gag aga aat gaa cag gga caa acc ctt tgg agc aaa Glu Met Ile Pro Glu Arg Asn Glu Gln Gly Gln Thr Leu Trp Ser Lys 65 70 75 80	240
acg aac gat gct ggc tca gac cgc gta atg gta tca cct ctg gca gtg Thr Asn Asp Ala Gly Ser Asp Arg Val Met Val Ser Pro Leu Ala Val 85 90 95	288
aca tgg tgg aat agg aat gga cca aca acg aac aca att cat tat cca Thr Trp Trp Asn Arg Asn Gly Pro Thr Thr Asn Thr Ile His Tyr Pro 100 105 110	336
aaa gtc tac aaa act tat ttt gaa aag gtt gaa aga ttg aaa cac gga Lys Val Tyr Lys Thr Tyr Phe Glu Lys Val Glu Arg Leu Lys His Gly 115 120 125	384
acc ttt ggc ccc gtt cat ttt agg aat caa gtc aag ata aga cga aga Thr Phe Gly Pro Val His Phe Arg Asn Gln Val Lys Ile Arg Arg Arg 130 135 140	432
gtt gat gta aac cct ggt cac gcg gac ctc agt gct aaa gaa gca caa Val Asp Val Asn Pro Gly His Ala Asp Leu Ser Ala Lys Glu Ala Gln 145 150 155 160	480
gat gtg atc atg gaa gtt gtt ttc cca aat gaa gtg gga gcc aga att Asp Val Ile Met Glu Val Val Phe Pro Asn Glu Val Gly Ala Arg Ile 165 170 175	528
cta aca tca gaa tca caa cta aca ata acc aaa gag aaa aag gaa gaa Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu 180 185 190	576
ctt cag gac tgc aaa att gct ccc ttg atg gta gca tac atg cta gaa Leu Gln Asp Cys Lys Ile Ala Pro Leu Met Val Ala Tyr Met Leu Glu 195 200 205	624
aga gag ttg gtc cga aaa aca agg ttc ctc cca gta gta ggc gga aca Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Val Gly Gly Thr 210 215 220	672

[0118]

agc agt gta tac att gaa gtg ttg cat ctg act cag gga aca tgc tgg	720
Ser Ser Val Tyr Ile Glu Val Leu His Leu Thr Gln Gly Thr Cys Trp	
225 230 235 240	
gag caa atg tac acc cca gga gga aaa gtt aga aac gat gat att gat	768
Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Lys Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp	
245 250 255	
caa agt tta att att gca gcc cgg aac ata gtg aga aga gca aca gta	816
Gln Ser Leu Ile Ile Ala Ala Arg Asn Ile Val Arg Arg Ala Thr Val	
260 265 270	
tca gca gat cca cta gca tcc cta ctg gaa atg tgc cac agt aca cag	864
Ser Ala Asp Pro Leu Ala Ser Leu Leu Glu Met Cys His Ser Thr Gln	
275 280 285	
att ggt gga aca agg atg gta gac atc ctt aag cag aac cca aca gag	912
Ile Gly Gly Thr Arg Met Val Asp Ile Leu Lys Gln Asn Pro Thr Glu	
290 295 300	
gaa caa gct gtg gat ata tgc aaa gca gca atg gga ttg aga att agc	960
Glu Gln Ala Val Asp Ile Cys Lys Ala Ala Met Gly Leu Arg Ile Ser	
305 310 315 320	
tca tca ttc agc ttt ggt gga ttc acc ttc aaa agg aca agt gga tca	1008
Ser Ser Phe Ser Phe Gly Gly Phe Thr Phe Lys Arg Thr Ser Gly Ser	
325 330 335	
tca gtc aag aga gaa gaa gaa atg ctt acg ggc aac ctt caa aca ttg	1056
Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu	
340 345 350	
aaa ata aga gtg cat gag ggc tat gaa gaa ttc aca atg gtc gga aga	1104
Lys Ile Arg Val His Glu Gly Tyr Glu Glu Phe Thr Met Val Gly Arg	
355 360 365	
aga gca aca gcc att atc aga aag gca acc aga aga ttg att caa ttg	1152
Arg Ala Thr Ala Ile Ile Arg Lys Ala Thr Arg Arg Leu Ile Gln Leu	
370 375 380	
ata gta agt ggg aga gat gaa caa tca att gct gaa gca ata att gta	1200
Ile Val Ser Gly Arg Asp Glu Gln Ser Ile Ala Glu Ala Ile Ile Val	
385 390 395 400	

[0119]

gcc atg gtg ttt tgc caa gaa gat tgc atg ata aaa gca gtt cga ggc	1248
Ala Met Val Phe Ser Gln Glu Asp Cys Met Ile Lys Ala Val Arg Gly	
405 410 415	
gat ttg aac ttt gtt aat aga gca aat cag cgt ttg aac ccc atg cat	1296
Asp Leu Asn Phe Val Asn Arg Ala Asn Gln Arg Leu Asn Pro Met His	
420 425 430	
caa ctc ttg agg cat ttc caa aaa gat gca aaa gtg ctt ttc caa aat	1344
Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe Gln Asn	
435 440 445	
tgg gga att gaa ccc atc gac aat gta atg ggg atg att gga ata ttg	1392
Trp Gly Ile Glu Pro Ile Asp Asn Val Met Gly Met Ile Gly Ile Leu	
450 455 460	
cct gac atg acc cca agc acc gag atg tca ttg aga gga gtg aga gtc	1440
Pro Asp Met Thr Pro Ser Thr Glu Met Ser Leu Arg Gly Val Arg Val	
465 470 475 480	
agc aaa atg gga gtg gat gag tac tcc agc act gag aga gtg gtg gtg	1488
Ser Lys Met Gly Val Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Glu Arg Val Val Val	
485 490 495	
agc att gac cgt ttt tta aga gtt cgg gat caa agg gga aac ata cta	1536
Ser Ile Asp Arg Phe Leu Arg Val Arg Asp Gln Arg Gly Asn Ile Leu	
500 505 510	
ctg tcc cct gaa gaa gtc agt gaa aca caa gga acg gaa aag ctg aca	1584
Leu Ser Pro Glu Glu Val Ser Glu Thr Gln Gly Thr Glu Lys Leu Thr	
515 520 525	
ata att tat tgc tca tca atg atg tgg gag att aat ggt ccc gaa tca	1632
Ile Ile Tyr Ser Ser Ser Met Met Trp Glu Ile Asn Gly Pro Glu Ser	
530 535 540	
gtg ttg gtc aat act tat caa tgg atc atc aga aac tgg gaa att gta	1680
Val Leu Val Asn Thr Tyr Gln Trp Ile Ile Arg Asn Trp Glu Ile Val	
545 550 555 560	
aaa att cag tgg tca cag gac ccc aca atg tta tac aat aag ata gaa	1728
Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu	
565 570 575	

[0120]

ttt gaa cca ttc caa tcc ctg gtc cct agg gcc acc aga agc caa tac	1776
Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr	
580 585 590	
agc ggt ttc gta aga acc ctg ttt cag caa atg cga gat gta ctt gga	1824
Ser Gly Phe Val Arg Thr Leu Phe Gln Gln Met Arg Asp Val Leu Gly	
595 600 605	
aca ttt gat act gct caa ata ata aaa ctc ctc cct ttt gcc gct gct	1872
Thr Phe Asp Thr Ala Gln Ile Ile Lys Leu Leu Pro Phe Ala Ala Ala	
610 615 620	
cct ccg gaa cag agt agg atg cag ttc tct tct ttg act gtt aat gta	1920
Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val	
625 630 635 640	
aga ggt tcg gga atg agg ata ctt gta aga ggc aat tcc cca gtg ttc	1968
Arg Gly Ser Gly Met Arg Ile Leu Val Arg Gly Asn Ser Pro Val Phe	
645 650 655	
aac tac aat aaa gtc act aaa agg ctc aca gtc ctc gga aag gat gca	2016
Asn Tyr Asn Lys Val Thr Lys Arg Leu Thr Val Leu Gly Lys Asp Ala	
660 665 670	
ggt gcg ctt act gag gac cca gat gaa ggt acg gct gga gta gag tct	2064
Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser	
675 680 685	
gct gtt cta aga ggg ttt ctc att tta ggt aaa gaa aac aag aga tat	2112
Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr	
690 695 700	
ggc cca gca cta agc atc aat gaa ctt agc aaa ctt gca aaa ggg gag	2160
Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu	
705 710 715 720	
aaa gcc aat gta cta att ggg caa ggg gac gta gtg ttg gta atg aaa	2208
Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Val Val Leu Val Met Lys	
725 730 735	
cgg aaa cgt gac tct agc ata ctt act gac agc cag aca gcg acc aaa	2256
Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys	
740 745 750	

[0121]

agg att cgg atg gcc atc aat tag
Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn
755

2280

<210> 48
<211> 759
<212> PRT
<213> 流感病毒

<400> 48

Met Glu Arg Ile Lys Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr
1 5 10 15

Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys
20 25 30

Lys Tyr Thr Ser Gly Arg Gln Glu Lys Asn Pro Ala Leu Arg Met Lys
35 40 45

Trp Met Met Ala Met Lys Tyr Pro Ile Thr Ala Asp Lys Arg Ile Met
50 55 60

Glu Met Ile Pro Glu Arg Asn Glu Gln Gly Gln Thr Leu Trp Ser Lys
65 70 75 80

Thr Asn Asp Ala Gly Ser Asp Arg Val Met Val Ser Pro Leu Ala Val
85 90 95

Thr Trp Trp Asn Arg Asn Gly Pro Thr Thr Asn Thr Ile His Tyr Pro
100 105 110

Lys Val Tyr Lys Thr Tyr Phe Glu Lys Val Glu Arg Leu Lys His Gly
115 120 125

[0122]

Thr Phe Gly Pro Val His Phe Arg Asn Gln Val Lys Ile Arg Arg Arg
130 135 140

Val Asp Val Asn Pro Gly His Ala Asp Leu Ser Ala Lys Glu Ala Gln
145 150 155 160

Asp Val Ile Met Glu Val Val Phe Pro Asn Glu Val Gly Ala Arg Ile
165 170 175

Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu
180 185 190

Leu Gln Asp Cys Lys Ile Ala Pro Leu Met Val Ala Tyr Met Leu Glu
195 200 205

Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Val Gly Gly Thr
210 215 220

Ser Ser Val Tyr Ile Glu Val Leu His Leu Thr Gln Gly Thr Cys Trp
225 230 235 240

Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Lys Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp
245 250 255

Gln Ser Leu Ile Ile Ala Ala Arg Asn Ile Val Arg Arg Ala Thr Val
260 265 270

Ser Ala Asp Pro Leu Ala Ser Leu Leu Glu Met Cys His Ser Thr Gln
275 280 285

Ile Gly Gly Thr Arg Met Val Asp Ile Leu Lys Gln Asn Pro Thr Glu
290 295 300

[0123]

Glu Gln Ala Val Asp Ile Cys Lys Ala Ala Met Gly Leu Arg Ile Ser
305 310 315 320

Ser Ser Phe Ser Phe Gly Gly Phe Thr Phe Lys Arg Thr Ser Gly Ser
325 330 335

Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu
340 345 350

Lys Ile Arg Val His Glu Gly Tyr Glu Glu Phe Thr Met Val Gly Arg
355 360 365

Arg Ala Thr Ala Ile Ile Arg Lys Ala Thr Arg Arg Leu Ile Gln Leu
370 375 380

Ile Val Ser Gly Arg Asp Glu Gln Ser Ile Ala Glu Ala Ile Ile Val
385 390 395 400

Ala Met Val Phe Ser Gln Glu Asp Cys Met Ile Lys Ala Val Arg Gly
405 410 415

Asp Leu Asn Phe Val Asn Arg Ala Asn Gln Arg Leu Asn Pro Met His
420 425 430

Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe Gln Asn
435 440 445

Trp Gly Ile Glu Pro Ile Asp Asn Val Met Gly Met Ile Gly Ile Leu
450 455 460

Pro Asp Met Thr Pro Ser Thr Glu Met Ser Leu Arg Gly Val Arg Val
465 470 475 480

[0124]

Ser Lys Met Gly Val Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Glu Arg Val Val Val
485 490 495

Ser Ile Asp Arg Phe Leu Arg Val Arg Asp Gln Arg Gly Asn Ile Leu
500 505 510

Leu Ser Pro Glu Glu Val Ser Glu Thr Gln Gly Thr Glu Lys Leu Thr
515 520 525

Ile Ile Tyr Ser Ser Ser Met Met Trp Glu Ile Asn Gly Pro Glu Ser
530 535 540

Val Leu Val Asn Thr Tyr Gln Trp Ile Ile Arg Asn Trp Glu Ile Val
545 550 555 560

Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu
565 570 575

Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr
580 585 590

Ser Gly Phe Val Arg Thr Leu Phe Gln Gln Met Arg Asp Val Leu Gly
595 600 605

Thr Phe Asp Thr Ala Gln Ile Ile Lys Leu Leu Pro Phe Ala Ala Ala
610 615 620

Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val
625 630 635 640

Arg Gly Ser Gly Met Arg Ile Leu Val Arg Gly Asn Ser Pro Val Phe
645 650 655

[0125]

Asn Tyr Asn Lys Val Thr Lys Arg Leu Thr Val Leu Gly Lys Asp Ala
660 665 670

Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser
675 680 685

Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr
690 695 700

Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu
705 710 715 720

Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Val Val Leu Val Met Lys
725 730 735

Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys
740 745 750

Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn
755

<210> 49

<211> 2274

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2274)

<400> 49

atg gat gtc aat ccg act cta ctt ttc tta aag gtg cca gcg caa aat
Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn
1 5 10 15

48

[0126]

gct ata agc aca aca ttc cct tat act gga gat cct ccc tac agt cat	96
Ala Ile Ser Thr Thr Phe Pro Tyr Thr Gly Asp Pro Pro Tyr Ser His	
20 25 30	
gga aca ggg aca gga tac acc atg gat act gtc aac aga aca cac caa	144
Gly Thr Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Thr Val Asn Arg Thr His Gln	
35 40 45	
tat tca gaa aaa ggg aaa tgg aca aca aac act gag att gga gca cca	192
Tyr Ser Glu Lys Gly Lys Trp Thr Thr Asn Thr Glu Ile Gly Ala Pro	
50 55 60	
caa ctt aat cca atc gat gga cca ctt cct gaa gac aat gaa cca agt	240
Gln Leu Asn Pro Ile Asp Gly Pro Leu Pro Glu Asp Asn Glu Pro Ser	
65 70 75 80	
ggg tac gcc caa aca gat tgt gta ttg gaa gca atg gct ttc ctt gaa	288
Gly Tyr Ala Gln Thr Asp Cys Val Leu Glu Ala Met Ala Phe Leu Glu	
85 90 95	
gaa tcc cat ccc gga atc ttt gaa aat tgc tgt ctt gaa acg atg gag	336
Glu Ser His Pro Gly Ile Phe Glu Asn Ser Cys Leu Glu Thr Met Glu	
100 105 110	
gtg att cag cag aca aga gtg gac aaa cta aca caa ggc cga caa act	384
Val Ile Gln Gln Thr Arg Val Asp Lys Leu Thr Gln Gly Arg Gln Thr	
115 120 125	
tat gat tgg acc ttg aat agg aat caa cct gcc gca aca gca ctt gct	432
Tyr Asp Trp Thr Leu Asn Arg Asn Gln Pro Ala Ala Thr Ala Leu Ala	
130 135 140	
aat acg att gaa gta ttc aga tca aat ggt ctg acc tcc aat gaa tgc	480
Asn Thr Ile Glu Val Phe Arg Ser Asn Gly Leu Thr Ser Asn Glu Ser	
145 150 155 160	
ggg aga ttg atg gac ttc ctc aaa gat gtc atg gag tcc atg aac aag	528
Gly Arg Leu Met Asp Phe Leu Lys Asp Val Met Glu Ser Met Asn Lys	
165 170 175	
gag gaa atg gaa ata aca aca cac ttc caa cgg aag aga aga gta aga	576
Glu Glu Met Glu Ile Thr Thr His Phe Gln Arg Lys Arg Arg Val Arg	
180 185 190	

[0127]

gac aac atg aca aag aga atg ata aca cag aga acc ata gga aag aaa Asp Asn Met Thr Lys Arg Met Ile Thr Gln Arg Thr Ile Gly Lys Lys 195 200 205	624
aaa caa cga tta agc aga aag agc tat cta atc aga aca tta acc cta Lys Gln Arg Leu Ser Arg Lys Ser Tyr Leu Ile Arg Thr Leu Thr Leu 210 215 220	672
aac aca atg acc aag gac gct gag aga ggg aaa ttg aaa cga cga gca Asn Thr Met Thr Lys Asp Ala Glu Arg Gly Lys Leu Lys Arg Arg Ala 225 230 235 240	720
atc gct acc cca ggg atg cag ata aga gga ttt gta tat ttt gtt gaa Ile Ala Thr Pro Gly Met Gln Ile Arg Gly Phe Val Tyr Phe Val Glu 245 250 255	768
aca cta gct cga aga ata tgt gaa aag ctt gaa caa tca gga ttg cca Thr Leu Ala Arg Arg Ile Cys Glu Lys Leu Glu Gln Ser Gly Leu Pro 260 265 270	816
gtt ggc ggt aat gag aaa aag gcc aaa ctg gct aat gtc gtc aga aaa Val Gly Gly Asn Glu Lys Lys Ala Lys Leu Ala Asn Val Val Arg Lys 275 280 285	864
atg atg act aat tcc caa gac act gaa ctc tcc ttc acc atc act ggg Met Met Thr Asn Ser Gln Asp Thr Glu Leu Ser Phe Thr Ile Thr Gly 290 295 300	912
gac aat acc aaa tgg aat gaa aat cag aac cca cgc ata ttc ctg gca Asp Asn Thr Lys Trp Asn Glu Asn Gln Asn Pro Arg Ile Phe Leu Ala 305 310 315 320	960
atg atc aca tac ata act aga gat cag cca gaa tgg ttc aga aat gtt Met Ile Thr Tyr Ile Thr Arg Asp Gln Pro Glu Trp Phe Arg Asn Val 325 330 335	1008
cta agc att gca ccg att atg ttc tca aat aaa atg gca aga ctg ggg Leu Ser Ile Ala Pro Ile Met Phe Ser Asn Lys Met Ala Arg Leu Gly 340 345 350	1056
aaa gga tat atg ttt gaa agc aaa agt atg aaa ttg aga act caa ata Lys Gly Tyr Met Phe Glu Ser Lys Ser Met Lys Leu Arg Thr Gln Ile 355 360 365	1104

[0128]

cca gca gaa atg cta gca agc att gac cta aaa tat ttc aat gat tca	1152
Pro Ala Glu Met Leu Ala Ser Ile Asp Leu Lys Tyr Phe Asn Asp Ser	
370 375 380	
aca aaa aag aaa att gaa aag ata cga cca ctc ctg gtt gac ggg act	1200
Thr Lys Lys Lys Ile Glu Lys Ile Arg Pro Leu Leu Val Asp Gly Thr	
385 390 395 400	
gct tca ctg agt cct ggc atg atg atg gga atg ttc aac atg ttg agc	1248
Ala Ser Leu Ser Pro Gly Met Met Met Gly Met Phe Asn Met Leu Ser	
405 410 415	
act gtg ctg ggt gta tcc ata tta aac ctg ggc cag agg aaa tat aca	1296
Thr Val Leu Gly Val Ser Ile Leu Asn Leu Gly Gln Arg Lys Tyr Thr	
420 425 430	
aag acc aca tac tgg tgg gat ggt ctg caa tca tcc gat gac ttt gct	1344
Lys Thr Thr Tyr Trp Trp Asp Gly Leu Gln Ser Ser Asp Asp Phe Ala	
435 440 445	
ttg ata gtg aat gcg cct aat cat gaa gga ata caa gct gga gta gac	1392
Leu Ile Val Asn Ala Pro Asn His Glu Gly Ile Gln Ala Gly Val Asp	
450 455 460	
aga ttc tat aga act tgc aaa ctg gtc ggg atc aac atg agc aaa aag	1440
Arg Phe Tyr Arg Thr Cys Lys Leu Val Gly Ile Asn Met Ser Lys Lys	
465 470 475 480	
aag tcc tac ata aat aga act gga aca ttc gaa ttc aca agc ttt ttc	1488
Lys Ser Tyr Ile Asn Arg Thr Gly Thr Phe Glu Phe Thr Ser Phe Phe	
485 490 495	
tac cgg tat ggt ttt gta gcc aat ttc agc atg gaa cta ccc agt ttt	1536
Tyr Arg Tyr Gly Phe Val Ala Asn Phe Ser Met Glu Leu Pro Ser Phe	
500 505 510	
ggg gtt tcc gga ata aat gaa tct gca gac atg agc att gga gtg aca	1584
Gly Val Ser Gly Ile Asn Glu Ser Ala Asp Met Ser Ile Gly Val Thr	
515 520 525	
gtc atc aaa aac aac atg ata aat aat gat ctc ggt cct gcc acg gca	1632
Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala	
530 535 540	

[0129]

caa atg gca ctc caa ctc ttc att aag gat tat cgg tac aca tac cgg	1680
Gln Met Ala Leu Gln Leu Phe Ile Lys Asp Tyr Arg Tyr Thr Tyr Arg	
545 550 555 560	
tgc cat aga ggt gat acc cag ata caa acc aga aga tct ttt gag ttg	1728
Cys His Arg Gly Asp Thr Gln Ile Gln Thr Arg Arg Ser Phe Glu Leu	
565 570 575	
aag aaa ctg tgg gaa cag act cga tca aag act ggt cta ctg gta tca	1776
Lys Lys Leu Trp Glu Gln Thr Arg Ser Lys Thr Gly Leu Leu Val Ser	
580 585 590	
gat ggg ggt cca aac cta tat aac atc aga aac cta cac atc ccg gaa	1824
Asp Gly Gly Pro Asn Leu Tyr Asn Ile Arg Asn Leu His Ile Pro Glu	
595 600 605	
gtc tgt tta aaa tgg gag cta atg gat gaa gat tat aag ggg agg cta	1872
Val Cys Leu Lys Trp Glu Leu Met Asp Glu Asp Tyr Lys Gly Arg Leu	
610 615 620	
tgc aat cca ttg aat cct ttc gtt agt cac aaa gaa att gaa tca gtc	1920
Cys Asn Pro Leu Asn Pro Phe Val Ser His Lys Glu Ile Glu Ser Val	
625 630 635 640	
aac agt gca gta gta atg cct gct cat ggc cct gcc aaa agc atg gag	1968
Asn Ser Ala Val Val Met Pro Ala His Gly Pro Ala Lys Ser Met Glu	
645 650 655	
tat gat gct gtt gca aca aca cat tct tgg atc ccc aag agg aac cgg	2016
Tyr Asp Ala Val Ala Thr Thr His Ser Trp Ile Pro Lys Arg Asn Arg	
660 665 670	
tcc ata ttg aac aca agc caa agg gga ata cta gaa gat gag cag atg	2064
Ser Ile Leu Asn Thr Ser Gln Arg Gly Ile Leu Glu Asp Glu Gln Met	
675 680 685	
tat cag aaa tgc tgc aac ctg ttt gaa aaa ttc ttc ccc agc agc tca	2112
Tyr Gln Lys Cys Cys Asn Leu Phe Glu Lys Phe Phe Pro Ser Ser Ser	
690 695 700	
tac aga aga cca gtc gga att tct agt atg gtt gag gcc atg gta tcc	2160
Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser	
705 710 715 720	

[0130]

agg gcc cgc att gat gca cga att gac ttc gaa tct gga cgg ata aag 2208
Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys
725 730 735

aag gat gag ttc gct gag atc atg aag atc tgt tcc acc att gaa gag 2256
Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu
740 745 750

ctc aga cgg caa aaa tag 2274
Leu Arg Arg Gln Lys
755

<210> 50

<211> 757

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 50

Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn
1 5 10 15

Ala Ile Ser Thr Thr Phe Pro Tyr Thr Gly Asp Pro Pro Tyr Ser His
20 25 30

Gly Thr Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Thr Val Asn Arg Thr His Gln
35 40 45

Tyr Ser Glu Lys Gly Lys Trp Thr Thr Asn Thr Glu Ile Gly Ala Pro
50 55 60

Gln Leu Asn Pro Ile Asp Gly Pro Leu Pro Glu Asp Asn Glu Pro Ser
65 70 75 80

Gly Tyr Ala Gln Thr Asp Cys Val Leu Glu Ala Met Ala Phe Leu Glu
85 90 95

[0131]

Glu Ser His Pro Gly Ile Phe Glu Asn Ser Cys Leu Glu Thr Met Glu
100 105 110

Val Ile Gln Gln Thr Arg Val Asp Lys Leu Thr Gln Gly Arg Gln Thr
115 120 125

Tyr Asp Trp Thr Leu Asn Arg Asn Gln Pro Ala Ala Thr Ala Leu Ala
130 135 140

Asn Thr Ile Glu Val Phe Arg Ser Asn Gly Leu Thr Ser Asn Glu Ser
145 150 155 160

Gly Arg Leu Met Asp Phe Leu Lys Asp Val Met Glu Ser Met Asn Lys
165 170 175

Glu Glu Met Glu Ile Thr Thr His Phe Gln Arg Lys Arg Arg Val Arg
180 185 190

Asp Asn Met Thr Lys Arg Met Ile Thr Gln Arg Thr Ile Gly Lys Lys
195 200 205

Lys Gln Arg Leu Ser Arg Lys Ser Tyr Leu Ile Arg Thr Leu Thr Leu
210 215 220

Asn Thr Met Thr Lys Asp Ala Glu Arg Gly Lys Leu Lys Arg Arg Ala
225 230 235 240

Ile Ala Thr Pro Gly Met Gln Ile Arg Gly Phe Val Tyr Phe Val Glu
245 250 255

Thr Leu Ala Arg Arg Ile Cys Glu Lys Leu Glu Gln Ser Gly Leu Pro
260 265 270

[0132]

Val Gly Gly Asn Glu Lys Lys Ala Lys Leu Ala Asn Val Val Arg Lys
275 280 285

Met Met Thr Asn Ser Gln Asp Thr Glu Leu Ser Phe Thr Ile Thr Gly
290 295 300

Asp Asn Thr Lys Trp Asn Glu Asn Gln Asn Pro Arg Ile Phe Leu Ala
305 310 315 320

Met Ile Thr Tyr Ile Thr Arg Asp Gln Pro Glu Trp Phe Arg Asn Val
325 330 335

Leu Ser Ile Ala Pro Ile Met Phe Ser Asn Lys Met Ala Arg Leu Gly
340 345 350

Lys Gly Tyr Met Phe Glu Ser Lys Ser Met Lys Leu Arg Thr Gln Ile
355 360 365

Pro Ala Glu Met Leu Ala Ser Ile Asp Leu Lys Tyr Phe Asn Asp Ser
370 375 380

Thr Lys Lys Lys Ile Glu Lys Ile Arg Pro Leu Leu Val Asp Gly Thr
385 390 395 400

Ala Ser Leu Ser Pro Gly Met Met Met Gly Met Phe Asn Met Leu Ser
405 410 415

Thr Val Leu Gly Val Ser Ile Leu Asn Leu Gly Gln Arg Lys Tyr Thr
420 425 430

Lys Thr Thr Tyr Trp Trp Asp Gly Leu Gln Ser Ser Asp Asp Phe Ala
435 440 445

[0133]

Leu Ile Val Asn Ala Pro Asn His Glu Gly Ile Gln Ala Gly Val Asp
450 455 460

Arg Phe Tyr Arg Thr Cys Lys Leu Val Gly Ile Asn Met Ser Lys Lys
465 470 475 480

Lys Ser Tyr Ile Asn Arg Thr Gly Thr Phe Glu Phe Thr Ser Phe Phe
485 490 495

Tyr Arg Tyr Gly Phe Val Ala Asn Phe Ser Met Glu Leu Pro Ser Phe
500 505 510

Gly Val Ser Gly Ile Asn Glu Ser Ala Asp Met Ser Ile Gly Val Thr
515 520 525

Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala
530 535 540

Gln Met Ala Leu Gln Leu Phe Ile Lys Asp Tyr Arg Tyr Thr Tyr Arg
545 550 555 560

Cys His Arg Gly Asp Thr Gln Ile Gln Thr Arg Arg Ser Phe Glu Leu
565 570 575

Lys Lys Leu Trp Glu Gln Thr Arg Ser Lys Thr Gly Leu Leu Val Ser
580 585 590

Asp Gly Gly Pro Asn Leu Tyr Asn Ile Arg Asn Leu His Ile Pro Glu
595 600 605

Val Cys Leu Lys Trp Glu Leu Met Asp Glu Asp Tyr Lys Gly Arg Leu
610 615 620

[0134]

Cys Asn Pro Leu Asn Pro Phe Val Ser His Lys Glu Ile Glu Ser Val
625 630 635 640

Asn Ser Ala Val Val Met Pro Ala His Gly Pro Ala Lys Ser Met Glu
645 650 655

Tyr Asp Ala Val Ala Thr Thr His Ser Trp Ile Pro Lys Arg Asn Arg
660 665 670

Ser Ile Leu Asn Thr Ser Gln Arg Gly Ile Leu Glu Asp Glu Gln Met
675 680 685

Tyr Gln Lys Cys Cys Asn Leu Phe Glu Lys Phe Phe Pro Ser Ser Ser
690 695 700

Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser
705 710 715 720

Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys
725 730 735

Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu
740 745 750

Leu Arg Arg Gln Lys
755

<210> 51
<211> 2151
<212> DNA
<213> 流感病毒

<220>
<221> CDS

[0135]

Tyr Thr Leu Asp Glu Glu Ser Arg Ala Arg Ile Lys Thr Arg Leu Phe	
165 170 175	
act ata aga caa gaa atg gcc agt aga ggc ctc tgg gat tcc ttt cgt	576
Thr Ile Arg Gln Glu Met Ala Ser Arg Gly Leu Trp Asp Ser Phe Arg	
180 185 190	
cag tcc gag aga ggc gaa gag aca att gaa gaa aga ttt gaa atc aca	624
Gln Ser Glu Arg Gly Glu Glu Thr Ile Glu Glu Arg Phe Glu Ile Thr	
195 200 205	
ggg acg atg cgc aag ctt gcc aat tac agt ctc cca ccg aac ttc tcc	672
Gly Thr Met Arg Lys Leu Ala Asn Tyr Ser Leu Pro Pro Asn Phe Ser	
210 215 220	
agc ctt gaa aat ttt aga gtc tat ata gat gga ttc gaa ccg aac ggc	720
Ser Leu Glu Asn Phe Arg Val Tyr Ile Asp Gly Phe Glu Pro Asn Gly	
225 230 235 240	
tgc att gag agt aag ctt tct caa atg tcc aaa gaa gta aat gcc aaa	768
Cys Ile Glu Ser Lys Leu Ser Gln Met Ser Lys Glu Val Asn Ala Lys	
245 250 255	
ata gaa cca ttt tca aag aca aca ccc cga cca ctc aaa atg cca ggt	816
Ile Glu Pro Phe Ser Lys Thr Thr Pro Arg Pro Leu Lys Met Pro Gly	
260 265 270	
ggg cca ccc tgc cat cag cga tcc aaa ttc ttg cta atg gat gct ctg	864
Gly Pro Pro Cys His Gln Arg Ser Lys Phe Leu Leu Met Asp Ala Leu	
275 280 285	
aaa ctg agc att gag gac cca agt cac gag gga gag ggg ata cca cta	912
Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu	
290 295 300	
tat gat gca atc aaa tgc atg aaa act ttc ttt gga tgg aaa gag ccc	960
Tyr Asp Ala Ile Lys Cys Met Lys Thr Phe Phe Gly Trp Lys Glu Pro	
305 310 315 320	
agt att gtt aaa cca cat aaa aag ggt ata aac ccg aac tat ctc caa	1008
Ser Ile Val Lys Pro His Lys Lys Gly Ile Asn Pro Asn Tyr Leu Gln	
325 330 335	
act tgg aag caa gta tta gaa gaa ata caa gac ctt gag aac gaa gaa	1056

[0137]

Thr Trp Lys Gln Val Leu Glu Glu Ile Gln Asp Leu Glu Asn Glu Glu	
340 345 350	
agg acc ccc aag acc aag aat atg aaa aaa aca agc caa ttg aaa tgg	1104
Arg Thr Pro Lys Thr Lys Asn Met Lys Lys Thr Ser Gln Leu Lys Trp	
355 360 365	
gca cta ggt gaa aat atg gca cca gag aaa gtg gat ttt gag gat tgt	1152
Ala Leu Gly Glu Asn Met Ala Pro Glu Lys Val Asp Phe Glu Asp Cys	
370 375 380	
aaa gac atc aat gat tta aaa caa tat gac agt gat gag cca gaa gca	1200
Lys Asp Ile Asn Asp Leu Lys Gln Tyr Asp Ser Asp Glu Pro Glu Ala	
385 390 395 400	
agg tct ctt gca agt tgg att caa agt gag ttc aac aag gct tgt gag	1248
Arg Ser Leu Ala Ser Trp Ile Gln Ser Glu Phe Asn Lys Ala Cys Glu	
405 410 415	
ctg aca gat tca agc tgg ata gag ctc gat gaa att ggg gag gat gtc	1296
Leu Thr Asp Ser Ser Trp Ile Glu Leu Asp Glu Ile Gly Glu Asp Val	
420 425 430	
gcc cca ata gaa tac att gcg agc atg agg aga aat tat ttt act gct	1344
Ala Pro Ile Glu Tyr Ile Ala Ser Met Arg Arg Asn Tyr Phe Thr Ala	
435 440 445	
gag att tcc cat tgt aga gca aca gaa tat ata atg aaa gga gtg tac	1392
Glu Ile Ser His Cys Arg Ala Thr Glu Tyr Ile Met Lys Gly Val Tyr	
450 455 460	
atc aac act gct cta ctc aat gca tcc tgt gct gcg atg gat gaa ttt	1440
Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe	
465 470 475 480	
caa tta att ccg atg ata agt aaa tgc agg acc aaa gaa ggg aga agg	1488
Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg	
485 490 495	
aaa aca aat tta tat gga ttc ata ata aag gga agg tcc cat tta aga	1536
Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg	
500 505 510	
aat gat act gac gtg gtg aac ttt gta agt atg gaa ttt tct ctc act	1584

[0138]

Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr	
515	520
	525
gat cca aga ttt gag cca cac aaa tgg gaa aaa tac tgc gtt cta gaa	1632
Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu	
530	535
	540
att gga gac atg ctt tta aga act gct gta ggt caa gtg tca aga ccc	1680
Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro	
545	550
	555
	560
atg ttt ttg tat gta agg aca aat gga acc tct aaa att aaa atg aaa	1728
Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys	
	565
	570
	575
tgg gga atg gaa atg agg cgc tgc ctc ctt cag tct ctg caa cag att	1776
Trp Gly Met Glu Met Arg Arg Cys Leu Leu Gln Ser Leu Gln Gln Ile	
	580
	585
	590
gaa agc atg atc gaa gct gag tcc tca gtc aaa gaa aag gac atg acc	1824
Glu Ser Met Ile Glu Ala Glu Ser Ser Val Lys Glu Lys Asp Met Thr	
	595
	600
	605
aaa gaa ttt ttt gag aac aaa tca gag aca tgg cct ata gga gag tcc	1872
Lys Glu Phe Phe Glu Asn Lys Ser Glu Thr Trp Pro Ile Gly Glu Ser	
	610
	615
	620
ccc aaa gga gtg gaa gag ggc tca atc ggg aag gtt tgc agg acc tta	1920
Pro Lys Gly Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Lys Val Cys Arg Thr Leu	
625	630
	635
	640
tta gca aaa tct gtg ttt aac agt tta tat gca tct cca caa ctg gaa	1968
Leu Ala Lys Ser Val Phe Asn Ser Leu Tyr Ala Ser Pro Gln Leu Glu	
	645
	650
	655
gga ttt tca gct gaa tct agg aaa tta ctt ctc att gtt cag gct ctt	2016
Gly Phe Ser Ala Glu Ser Arg Lys Leu Leu Leu Ile Val Gln Ala Leu	
	660
	665
	670
aga gat gac ctg gaa cct gga acc ttt gat att ggg ggg tta tat gaa	2064
Arg Asp Asp Leu Glu Pro Gly Thr Phe Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Glu	
	675
	680
	685
tca att gag gag tgc ctg att aat gat ccc tgg gtt ttg ctt aat gca	2112

[0139]

Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala
690 695 700

tct tgg ttc aac tcc ttc ctc aca cat gca ctg aag tag

2151

Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys
705 710 715

<210> 52

<211> 716

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 52

Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu
1 5 10 15

Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr
20 25 30

Asn Lys Phe Ala Ala Ile Cys Thr His Leu Glu Val Cys Phe Met Tyr
35 40 45

Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu
50 55 60

Ser Gly Asp Pro Asn Ala Leu Leu Lys His Arg Phe Glu Ile Ile Glu
65 70 75 80

Gly Arg Asp Arg Thr Met Ala Trp Thr Val Val Asn Ser Ile Cys Asn
85 90 95

Thr Thr Arg Ala Glu Lys Pro Lys Phe Leu Pro Asp Leu Tyr Asp Tyr
100 105 110

Lys Glu Asn Arg Phe Val Glu Ile Gly Val Thr Arg Arg Glu Val His

[0140]

115	120	125
Ile Tyr Tyr Leu Glu Lys Ala Asn Lys Ile Lys Ser Glu Lys Thr His		
130	135	140
Ile His Ile Phe Ser Phe Thr Gly Glu Glu Met Ala Thr Lys Ala Asp		
145	150	155 160
Tyr Thr Leu Asp Glu Glu Ser Arg Ala Arg Ile Lys Thr Arg Leu Phe		
165	170	175
Thr Ile Arg Gln Glu Met Ala Ser Arg Gly Leu Trp Asp Ser Phe Arg		
180	185	190
Gln Ser Glu Arg Gly Glu Glu Thr Ile Glu Glu Arg Phe Glu Ile Thr		
195	200	205
Gly Thr Met Arg Lys Leu Ala Asn Tyr Ser Leu Pro Pro Asn Phe Ser		
210	215	220
Ser Leu Glu Asn Phe Arg Val Tyr Ile Asp Gly Phe Glu Pro Asn Gly		
225	230	235 240
Cys Ile Glu Ser Lys Leu Ser Gln Met Ser Lys Glu Val Asn Ala Lys		
245	250	255
Ile Glu Pro Phe Ser Lys Thr Thr Pro Arg Pro Leu Lys Met Pro Gly		
260	265	270
Gly Pro Pro Cys His Gln Arg Ser Lys Phe Leu Leu Met Asp Ala Leu		
275	280	285
Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu		

[0141]

290	295	300
Tyr Asp Ala Ile Lys Cys Met Lys Thr Phe Phe Gly Trp Lys Glu Pro		
305	310	315 320
Ser Ile Val Lys Pro His Lys Lys Gly Ile Asn Pro Asn Tyr Leu Gln		
325	330	335
Thr Trp Lys Gln Val Leu Glu Glu Ile Gln Asp Leu Glu Asn Glu Glu		
340	345	350
Arg Thr Pro Lys Thr Lys Asn Met Lys Lys Thr Ser Gln Leu Lys Trp		
355	360	365
Ala Leu Gly Glu Asn Met Ala Pro Glu Lys Val Asp Phe Glu Asp Cys		
370	375	380
Lys Asp Ile Asn Asp Leu Lys Gln Tyr Asp Ser Asp Glu Pro Glu Ala		
385	390	395 400
Arg Ser Leu Ala Ser Trp Ile Gln Ser Glu Phe Asn Lys Ala Cys Glu		
405	410	415
Leu Thr Asp Ser Ser Trp Ile Glu Leu Asp Glu Ile Gly Glu Asp Val		
420	425	430
Ala Pro Ile Glu Tyr Ile Ala Ser Met Arg Arg Asn Tyr Phe Thr Ala		
435	440	445
Glu Ile Ser His Cys Arg Ala Thr Glu Tyr Ile Met Lys Gly Val Tyr		
450	455	460
Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe		

[0142]

465	470	475	480
Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg			
	485	490	495
Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg			
	500	505	510
Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr			
	515	520	525
Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu			
	530	535	540
Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro			
545	550	555	560
Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys			
	565	570	575
Trp Gly Met Glu Met Arg Arg Cys Leu Leu Gln Ser Leu Gln Gln Ile			
	580	585	590
Glu Ser Met Ile Glu Ala Glu Ser Ser Val Lys Glu Lys Asp Met Thr			
	595	600	605
Lys Glu Phe Phe Glu Asn Lys Ser Glu Thr Trp Pro Ile Gly Glu Ser			
	610	615	620
Pro Lys Gly Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Lys Val Cys Arg Thr Leu			
625	630	635	640
Leu Ala Lys Ser Val Phe Asn Ser Leu Tyr Ala Ser Pro Gln Leu Glu			

[0143]

645	650	655
Gly Phe Ser Ala Glu Ser Arg Lys Leu Leu Leu Ile Val Gln Ala Leu		
660	665	670
Arg Asp Asp Leu Glu Pro Gly Thr Phe Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Glu		
675	680	685
Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala		
690	695	700
Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys		
705	710	715
<210> 53		
<211> 844		
<212> DNA		
<213> 流感病毒		
<220>		
<221> CDS		
<222> (1).. (690)		
<400> 53		
atg gat tcc aac act gtg tca agc ttt cag gta gac tgt ttt ctt tgg	48	
Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp		
1 5 10 15		
cat gtc cgt aaa cga ttc gca gac caa gaa ctg ggt gat gcc cca ttc	96	
His Val Arg Lys Arg Phe Ala Asp Gln Glu Leu Gly Asp Ala Pro Phe		
20 25 30		
ctt gac cgg ctt cgc cga gac cag aag tcc cta agg gga aga ggt agc	144	
Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser		
35 40 45		
act ctt ggt ctg gac atc gaa aca gcc act cat gca gga aag cag ata	192	
Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr His Ala Gly Lys Gln Ile		

[0144]

50	55	60		
gtg gag cag att ctg gaa aag gaa tca gat gag gca ctt aaa atg acc			240	
Val Glu Gln Ile Leu Glu Lys Glu Ser Asp Glu Ala Leu Lys Met Thr				
65	70	75	80	
att gcc tct gtt cct gct tca cgc tac tta act gac atg act ctt gat			288	
Ile Ala Ser Val Pro Ala Ser Arg Tyr Leu Thr Asp Met Thr Leu Asp				
	85	90	95	
gag atg tca aga gac tgg ttc atg ctc atg ccc aag caa aaa gta aca			336	
Glu Met Ser Arg Asp Trp Phe Met Leu Met Pro Lys Gln Lys Val Thr				
	100	105	110	
ggc tcc cta tgt ata aga atg gac cag gca atc atg gat aag aac atc			384	
Gly Ser Leu Cys Ile Arg Met Asp Gln Ala Ile Met Asp Lys Asn Ile				
	115	120	125	
ata ctt aaa gca aac ttt agt gtg att ttc gaa agg ctg gaa aca cta			432	
Ile Leu Lys Ala Asn Phe Ser Val Ile Phe Glu Arg Leu Glu Thr Leu				
	130	135	140	
ata cta ctt aga gcc ttc acc gaa gaa gga gca gtc gtt ggc gaa att			480	
Ile Leu Leu Arg Ala Phe Thr Glu Glu Gly Ala Val Val Gly Glu Ile				
	145	150	155	160
tca cca tta cct tct ctt cca gga cat act aat gag gat gtc aaa aat			528	
Ser Pro Leu Pro Ser Leu Pro Gly His Thr Asn Glu Asp Val Lys Asn				
	165	170	175	
gca att ggg gtc ctc atc gga gga ctt aaa tgg aat gat aat acg gtt			576	
Ala Ile Gly Val Leu Ile Gly Gly Leu Lys Trp Asn Asp Asn Thr Val				
	180	185	190	
aga atc tct gaa act cta cag aga ttc gct tgg aga agc agt cat gaa			624	
Arg Ile Ser Glu Thr Leu Gln Arg Phe Ala Trp Arg Ser Ser His Glu				
	195	200	205	
aat ggg aga cct tca ttc cct tca aaa cag aaa cga aaa atg gag aga			672	
Asn Gly Arg Pro Ser Phe Pro Ser Lys Gln Lys Arg Lys Met Glu Arg				
	210	215	220	
aca att aag cca gaa att tgaagaaata agatggttga ttgaagaagt			720	
Thr Ile Lys Pro Glu Ile				

[0145]

Gly Ser Leu Cys Ile Arg Met Asp Gln Ala Ile Met Asp Lys Asn Ile
115 120 125

Ile Leu Lys Ala Asn Phe Ser Val Ile Phe Glu Arg Leu Glu Thr Leu
130 135 140

Ile Leu Leu Arg Ala Phe Thr Glu Glu Gly Ala Val Val Gly Glu Ile
145 150 155 160

Ser Pro Leu Pro Ser Leu Pro Gly His Thr Asn Glu Asp Val Lys Asn
165 170 175

Ala Ile Gly Val Leu Ile Gly Gly Leu Lys Trp Asn Asp Asn Thr Val
180 185 190

Arg Ile Ser Glu Thr Leu Gln Arg Phe Ala Trp Arg Ser Ser His Glu
195 200 205

Asn Gly Arg Pro Ser Phe Pro Ser Lys Gln Lys Arg Lys Met Glu Arg
210 215 220

Thr Ile Lys Pro Glu Ile
225 230

<210> 55

<211> 1497

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1497)

<400> 55

atg gcg tct caa ggc acc aaa cga tcc tat gaa cag atg gaa act gat

48

[0147]

Met Ala Ser Gln Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Asp	
1 5 10 15	
ggg gaa cgc cag aat gca act gaa atc aga gca tct gtc gga agg atg	96
Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met	
20 25 30	
gtg gga gga atc gga cgg ttt tat gtc cag atg tgt act gag ctt aaa	144
Val Gly Gly Ile Gly Arg Phe Tyr Val Gln Met Cys Thr Glu Leu Lys	
35 40 45	
cta aac gac cat gaa ggg cgg ctg att cag aac agc ata aca ata gaa	192
Leu Asn Asp His Glu Gly Arg Leu Ile Gln Asn Ser Ile Thr Ile Glu	
50 55 60	
agg atg gtg ctt tcg gca ttc gac gaa aga aga aac aag tat ctc gag	240
Arg Met Val Leu Ser Ala Phe Asp Glu Arg Arg Asn Lys Tyr Leu Glu	
65 70 75 80	
gag cat ccc agt gct ggg aaa gac cct aag aaa acg gga ggc ccg ata	288
Glu His Pro Ser Ala Gly Lys Asp Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Ile	
85 90 95	
tac aga aga aaa gat ggg aaa tgg atg agg gaa ctc atc ctc cat gat	336
Tyr Arg Arg Lys Asp Gly Lys Trp Met Arg Glu Leu Ile Leu His Asp	
100 105 110	
aaa gaa gaa atc atg aga atc tgg cgt cag gcc aac aat ggt gaa gac	384
Lys Glu Glu Ile Met Arg Ile Trp Arg Gln Ala Asn Asn Gly Glu Asp	
115 120 125	
gct act gct ggt ctt act cat atg atg atc tgg cac tcc aat ctc aat	432
Ala Thr Ala Gly Leu Thr His Met Met Ile Trp His Ser Asn Leu Asn	
130 135 140	
gac acc aca tac caa aga aca agg gct ctt gtt cgg act ggg atg gat	480
Asp Thr Thr Tyr Gln Arg Thr Arg Ala Leu Val Arg Thr Gly Met Asp	
145 150 155 160	
ccc aga atg tgc tct ctg atg caa ggc tca acc ctc cca cgg aga tct	528
Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser	
165 170 175	
gga gcc gct ggt gct gca gta aaa ggc gtt gga aca atg gta atg gaa	576

[0148]

Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu	
180 185 190	
ctc atc aga atg atc aag cgc gga ata aat gat cgg aat ttc tgg aga	624
Leu Ile Arg Met Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg	
195 200 205	
ggt gaa aat ggt cga aga acc aga att gct tat gaa aga atg tgc aat	672
Gly Glu Asn Gly Arg Arg Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn	
210 215 220	
atc ctc aaa ggg aaa ttt cag aca gca gca caa cgg gct atg atg gac	720
Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp	
225 230 235 240	
cag gtg agg gaa ggc cgc aat cct gga aac gct gag att gag gat ctc	768
Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu	
245 250 255	
att ttc ttg gca cga tca gca ctt att ttg aga gga tca gta gcc cat	816
Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His	
260 265 270	
aaa tca tgc cta cct gcc tgt gtt tat ggc ctt gca gta acc agt ggg	864
Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Val Thr Ser Gly	
275 280 285	
tat gac ttt gag aag gaa gga tac tct ctg gtt gga att gat cct ttc	912
Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe	
290 295 300	
aaa cta ctc cag aac agt caa att ttc agt cta atc aga cca aaa gaa	960
Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu	
305 310 315 320	
aac cca gca cac aaa agc cag ttg gtg tgg atg gca tgc cat tct gca	1008
Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala	
325 330 335	
gca ttt gag gat ctg aga gtt tta aat ttc att aga gga acc aaa gta	1056
Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val	
340 345 350	
atc cca aga gga cag tta aca acc aga gga gtt caa att gct tca aat	1104

[0149]

Ile Pro Arg Gly Gln Leu Thr Thr Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn 355 360 365	
gaa aac atg gag aca ata aat tct agc aca ctt gaa ctg aga agc aaa Glu Asn Met Glu Thr Ile Asn Ser Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Lys 370 375 380	1152
tat tgg gca ata agg acc aga agc gga gga aac acc agt caa cag aga Tyr Trp Ala Ile Arg Thr Arg Ser Gly Gly Asn Thr Ser Gln Gln Arg 385 390 395 400	1200
gca tct gca gga cag ata agt gtg caa cct act ttc tca gta cag aga Ala Ser Ala Gly Gln Ile Ser Val Gln Pro Thr Phe Ser Val Gln Arg 405 410 415	1248
aat ctt ccc ttt gag aga gca acc att atg gct gca ttc act ggt aac Asn Leu Pro Phe Glu Arg Ala Thr Ile Met Ala Ala Phe Thr Gly Asn 420 425 430	1296
act gaa gga agg act tcc gac atg aga acg gaa atc ata agg atg atg Thr Glu Gly Arg Thr Ser Asp Met Arg Thr Glu Ile Ile Arg Met Met 435 440 445	1344
gaa aat gcc aaa tca gaa gat gtg tct ttc cag ggg cgg gga gtc ttc Glu Asn Ala Lys Ser Glu Asp Val Ser Phe Gln Gly Arg Gly Val Phe 450 455 460	1392
gag ctc tcg gac gaa aag gca acg aac ccg atc gtg cct tcc ttt gac Glu Leu Ser Asp Glu Lys Ala Thr Asn Pro Ile Val Pro Ser Phe Asp 465 470 475 480	1440
atg agc aat gaa ggg tct tat ttc ttc gga gac aat gct gag gag ttt Met Ser Asn Glu Gly Ser Tyr Phe Phe Gly Asp Asn Ala Glu Glu Phe 485 490 495	1488
gac agt taa Asp Ser	1497

<210> 56

<211> 498

<212> PRT

<213> 流感病毒

[0150]

<400> 56

Met Ala Ser Gln Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Asp
1 5 10 15

Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met
20 25 30

Val Gly Gly Ile Gly Arg Phe Tyr Val Gln Met Cys Thr Glu Leu Lys
35 40 45

Leu Asn Asp His Glu Gly Arg Leu Ile Gln Asn Ser Ile Thr Ile Glu
50 55 60

Arg Met Val Leu Ser Ala Phe Asp Glu Arg Arg Asn Lys Tyr Leu Glu
65 70 75 80

Glu His Pro Ser Ala Gly Lys Asp Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Ile
85 90 95

Tyr Arg Arg Lys Asp Gly Lys Trp Met Arg Glu Leu Ile Leu His Asp
100 105 110

Lys Glu Glu Ile Met Arg Ile Trp Arg Gln Ala Asn Asn Gly Glu Asp
115 120 125

Ala Thr Ala Gly Leu Thr His Met Met Ile Trp His Ser Asn Leu Asn
130 135 140

Asp Thr Thr Tyr Gln Arg Thr Arg Ala Leu Val Arg Thr Gly Met Asp
145 150 155 160

Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser

[0151]

165	170	175
Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu		
180	185	190
Leu Ile Arg Met Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg		
195	200	205
Gly Glu Asn Gly Arg Arg Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn		
210	215	220
Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp		
225	230	235 240
Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu		
245	250	255
Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His		
260	265	270
Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Val Thr Ser Gly		
275	280	285
Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe		
290	295	300
Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu		
305	310	315 320
Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala		
325	330	335
Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val		

[0152]

340	345	350
Ile Pro Arg Gly Gln Leu Thr Thr Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn		
355	360	365
Glu Asn Met Glu Thr Ile Asn Ser Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Lys		
370	375	380
Tyr Trp Ala Ile Arg Thr Arg Ser Gly Gly Asn Thr Ser Gln Gln Arg		
385	390	395 400
Ala Ser Ala Gly Gln Ile Ser Val Gln Pro Thr Phe Ser Val Gln Arg		
405	410	415
Asn Leu Pro Phe Glu Arg Ala Thr Ile Met Ala Ala Phe Thr Gly Asn		
420	425	430
Thr Glu Gly Arg Thr Ser Asp Met Arg Thr Glu Ile Ile Arg Met Met		
435	440	445
Glu Asn Ala Lys Ser Glu Asp Val Ser Phe Gln Gly Arg Gly Val Phe		
450	455	460
Glu Leu Ser Asp Glu Lys Ala Thr Asn Pro Ile Val Pro Ser Phe Asp		
465	470	475 480
Met Ser Asn Glu Gly Ser Tyr Phe Phe Gly Asp Asn Ala Glu Glu Phe		
485	490	495
Asp Ser		

<210> 57

[0153]

<211> 1413

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1413)

<400> 57

atg aat cca aat caa aag ata ata gca att gga ttt gca tca ttg ggg 48

Met Asn Pro Asn Gln Lys Ile Ile Ala Ile Gly Phe Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

ata tta atc att aat gtc att ctc cat gta gtc agc att ata gta aca 96

Ile Leu Ile Ile Asn Val Ile Leu His Val Val Ser Ile Ile Val Thr

20 25 30

gta ctg gtc ctc aat aac aat aga aca gat ctg aac tgc aaa ggg acg 144

Val Leu Val Leu Asn Asn Asn Arg Thr Asp Leu Asn Cys Lys Gly Thr

35 40 45

atc ata aga gaa tac aat gaa aca gta aga gta gaa aaa ctt act caa 192

Ile Ile Arg Glu Tyr Asn Glu Thr Val Arg Val Glu Lys Leu Thr Gln

50 55 60

tgg tat aat acc agt aca att aag tac ata gag aga cct tca aat gaa 240

Trp Tyr Asn Thr Ser Thr Ile Lys Tyr Ile Glu Arg Pro Ser Asn Glu

65 70 75 80

tac tac atg aat aac act gaa cca ctt tgt gag gcc caa ggc ttt gca 288

Tyr Tyr Met Asn Asn Thr Glu Pro Leu Cys Glu Ala Gln Gly Phe Ala

85 90 95

cca ttt tcc aaa gat aat gga ata cga att ggg tcg aga ggc cat gtt 336

Pro Phe Ser Lys Asp Asn Gly Ile Arg Ile Gly Ser Arg Gly His Val

100 105 110

ttt gtg ata aga gaa cct ttt gta tca tgt tcg ccc tca gaa tgt aga 384

Phe Val Ile Arg Glu Pro Phe Val Ser Cys Ser Pro Ser Glu Cys Arg

115 120 125

acc ttt ttc ctc aca cag ggc tca tta ctc aat gac aaa cat tct aac 432

Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn

[0154]

130	135	140	
ggc aca ata aag gat cga agt ccg tat agg act ttg atg agt gtc aaa			480
Gly Thr Ile Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys			
145	150	155	160
ata ggg caa tca cct aat gta tat caa gct agg ttt gaa tcg gtg gca			528
Ile Gly Gln Ser Pro Asn Val Tyr Gln Ala Arg Phe Glu Ser Val Ala			
165	170	175	
tgg tca gca aca gca tgc cat gat gga aaa aaa tgg atg aca gtt gga			576
Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly			
180	185	190	
gtc aca ggg ccc gac aat caa gca att gca gta gtg aac tat gga ggt			624
Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly			
195	200	205	
gtt ccg gtt gat att att aat tca tgg gca ggg gat att tta aga acc			672
Val Pro Val Asp Ile Ile Asn Ser Trp Ala Gly Asp Ile Leu Arg Thr			
210	215	220	
caa gaa tca tca tgc acc tgc att aaa gga gac tgt tat tgg gta atg			720
Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met			
225	230	235	240
act gat gga ccg gca aat agg caa gct aaa tat agg ata ttc aaa gca			768
Thr Asp Gly Pro Ala Asn Arg Gln Ala Lys Tyr Arg Ile Phe Lys Ala			
245	250	255	
aaa gat gga aga gta att gga caa act gat ata agt ttc aat ggg gga			816
Lys Asp Gly Arg Val Ile Gly Gln Thr Asp Ile Ser Phe Asn Gly Gly			
260	265	270	
cac ata gag gag tgt tct tgt tac ccc aat gaa ggg aag gtg gaa tgc			864
His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Asn Glu Gly Lys Val Glu Cys			
275	280	285	
ata tgc agg gac aat tgg act gga aca aat aga cca att ctg gta ata			912
Ile Cys Arg Asp Asn Trp Thr Gly Thr Asn Arg Pro Ile Leu Val Ile			
290	295	300	
tct tct gat cta tcg tac aca gtt gga tat ttg tgt gct ggc att ccc			960
Ser Ser Asp Leu Ser Tyr Thr Val Gly Tyr Leu Cys Ala Gly Ile Pro			

[0155]

305	310	315	320	
act gac act cct agg gga gag gat agt caa ttc aca ggc tca tgt aca				1008
Thr Asp Thr Pro Arg Gly Glu Asp Ser Gln Phe Thr Gly Ser Cys Thr				
325		330	335	
agt cct ttg gga aat aaa gga tac ggt gta aaa ggc ttc ggg ttt cga				1056
Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg				
340	345		350	
caa gga act gac gta tgg gcc gga agg aca att agt agg act tca aga				1104
Gln Gly Thr Asp Val Trp Ala Gly Arg Thr Ile Ser Arg Thr Ser Arg				
355	360		365	
tca gga ttc gaa ata ata aaa atc agg aat ggt tgg aca cag aac agt				1152
Ser Gly Phe Glu Ile Ile Lys Ile Arg Asn Gly Trp Thr Gln Asn Ser				
370	375		380	
aag gac caa atc agg agg caa gtg att atc gat gac cca aat tgg tca				1200
Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser				
385	390	395	400	
gga tat agc ggt tct ttc aca ttg ccg gtt gaa ctg aca aaa aag gga				1248
Gly Tyr Ser Gly Ser Phe Thr Leu Pro Val Glu Leu Thr Lys Lys Gly				
405	410		415	
tgt ttg gtc ccc tgt ttc tgg gtt gaa atg att aga ggt aaa cct gaa				1296
Cys Leu Val Pro Cys Phe Trp Val Glu Met Ile Arg Gly Lys Pro Glu				
420	425		430	
gaa aca aca ata tgg acc tct agc agc tcc att gtg atg tgt gga gta				1344
Glu Thr Thr Ile Trp Thr Ser Ser Ser Ser Ile Val Met Cys Gly Val				
435	440		445	
gat cat aaa att gcc agt tgg tca tgg cac gat gga gct att ctt ccc				1392
Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro				
450	455		460	
ttt gac atc gat aag atg taa				1413
Phe Asp Ile Asp Lys Met				
465	470			

<210> 58

[0156]

<211> 470

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 58

Met Asn Pro Asn Gln Lys Ile Ile Ala Ile Gly Phe Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Ile Leu Ile Ile Asn Val Ile Leu His Val Val Ser Ile Ile Val Thr
20 25 30

Val Leu Val Leu Asn Asn Asn Arg Thr Asp Leu Asn Cys Lys Gly Thr
35 40 45

Ile Ile Arg Glu Tyr Asn Glu Thr Val Arg Val Glu Lys Leu Thr Gln
50 55 60

Trp Tyr Asn Thr Ser Thr Ile Lys Tyr Ile Glu Arg Pro Ser Asn Glu
65 70 75 80

Tyr Tyr Met Asn Asn Thr Glu Pro Leu Cys Glu Ala Gln Gly Phe Ala
85 90 95

Pro Phe Ser Lys Asp Asn Gly Ile Arg Ile Gly Ser Arg Gly His Val
100 105 110

Phe Val Ile Arg Glu Pro Phe Val Ser Cys Ser Pro Ser Glu Cys Arg
115 120 125

Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn
130 135 140

Gly Thr Ile Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys
145 150 155 160

[0157]

Ile Gly Gln Ser Pro Asn Val Tyr Gln Ala Arg Phe Glu Ser Val Ala
165 170 175

Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly
180 185 190

Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly
195 200 205

Val Pro Val Asp Ile Ile Asn Ser Trp Ala Gly Asp Ile Leu Arg Thr
210 215 220

Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met
225 230 235 240

Thr Asp Gly Pro Ala Asn Arg Gln Ala Lys Tyr Arg Ile Phe Lys Ala
245 250 255

Lys Asp Gly Arg Val Ile Gly Gln Thr Asp Ile Ser Phe Asn Gly Gly
260 265 270

His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Asn Glu Gly Lys Val Glu Cys
275 280 285

Ile Cys Arg Asp Asn Trp Thr Gly Thr Asn Arg Pro Ile Leu Val Ile
290 295 300

Ser Ser Asp Leu Ser Tyr Thr Val Gly Tyr Leu Cys Ala Gly Ile Pro
305 310 315 320

Thr Asp Thr Pro Arg Gly Glu Asp Ser Gln Phe Thr Gly Ser Cys Thr
325 330 335

[0158]

Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg
340 345 350

Gln Gly Thr Asp Val Trp Ala Gly Arg Thr Ile Ser Arg Thr Ser Arg
355 360 365

Ser Gly Phe Glu Ile Ile Lys Ile Arg Asn Gly Trp Thr Gln Asn Ser
370 375 380

Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser
385 390 395 400

Gly Tyr Ser Gly Ser Phe Thr Leu Pro Val Glu Leu Thr Lys Lys Gly
405 410 415

Cys Leu Val Pro Cys Phe Trp Val Glu Met Ile Arg Gly Lys Pro Glu
420 425 430

Glu Thr Thr Ile Trp Thr Ser Ser Ser Ser Ile Val Met Cys Gly Val
435 440 445

Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro
450 455 460

Phe Asp Ile Asp Lys Met
465 470

<210> 59
<211> 981
<212> DNA
<213> 流感病毒

[0159]

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (756)

<400> 59

atg agt ctt cta acc gag gtc gaa acg tac gtt ctc tct atc gta cca	48
Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro	
1 5 10 15	

tca ggc ccc ctc aaa gcc gag atc gcg cag aga ctt gaa gat gtc ttt	96
Ser Gly Pro Leu Lys Ala Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe	
20 25 30	

gcg gga aag aac acc gat ctt gag gca ctc atg gaa tgg cta aag aca	144
Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr	
35 40 45	

aga cca atc ctg tca cct ctg act aaa ggg att tta gga ttt gta ttc	192
Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe	
50 55 60	

acg ctc acc gtg ccc agt gag cga gga ctg cag cgt aga cgc ttt gtc	240
Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val	
65 70 75 80	

caa aat gcc ctt agt gga aac gga gat cca aac aac atg gac aga gca	288
Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala	
85 90 95	

gta aaa ctg tac agg aag ctt aaa aga gaa ata aca ttc cat ggg gca	336
Val Lys Leu Tyr Arg Lys Leu Lys Arg Glu Ile Thr Phe His Gly Ala	
100 105 110	

aaa gag gtg gca ctc agc tat tcc act ggt gca cta gcc agc tgc atg	384
Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met	
115 120 125	

gga ctc ata tac aac aga atg gga act gtt aca acc gaa gtg gca ttt	432
Gly Leu Ile Tyr Asn Arg Met Gly Thr Val Thr Thr Glu Val Ala Phe	
130 135 140	

ggc ctg gta tgc gcc aca tgt gaa cag att gct gat tcc cag cat cga	480
Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg	
145 150 155 160	

[0160]

tct cac agg cag atg gtg aca aca acc aac cca tta atc aga cat gaa	528
Ser His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu	
165 170 175	
aac aga atg gta tta gcc agt acc acg gct aaa gcc atg gaa cag atg	576
Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met	
180 185 190	
gca gga tcg agt gag cag gca gca gag gcc atg gag gtt gct agt agg	624
Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Arg	
195 200 205	
gct agg cag atg gta cag gca atg aga acc att ggg acc cac cct agc	672
Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser	
210 215 220	
tcc agt gcc ggt ttg aaa gat gat ctc ctt gaa aat tta cag gcc tac	720
Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr	
225 230 235 240	
cag aaa cgg atg gga gtg caa atg cag cga ttc aag tgatcctctc	766
Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys	
245 250	
gtcattgcag caagtatcat tgggatcttg cacttgatat tgttgattct tgatcgtctt	826
ttcttcaaat tcatttatcg tcgccttaaa tacgggttga aaagagggcc ttctacggaa	886
ggagtacctg agtctatgag ggaagaatat cggcaggaac agcagaatgc tgttgatgtt	946
gacgatggtc attttgtcaa catagagctg gagta	981

<210> 60

<211> 252

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 60

Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro
 1 5 10 15

[0161]

Ser Gly Pro Leu Lys Ala Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe
20 25 30

Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr
35 40 45

Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe
50 55 60

Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val
65 70 75 80

Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala
85 90 95

Val Lys Leu Tyr Arg Lys Leu Lys Arg Glu Ile Thr Phe His Gly Ala
100 105 110

Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met
115 120 125

Gly Leu Ile Tyr Asn Arg Met Gly Thr Val Thr Thr Glu Val Ala Phe
130 135 140

Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg
145 150 155 160

Ser His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu
165 170 175

Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met
180 185 190

[0162]

Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Arg
195 200 205

Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser
210 215 220

Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr
225 230 235 240

Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys
245 250

<210> 61

<211> 1698

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1698)

<400> 61

atg aag aca acc att att tta ata cta ctg acc cat tgg gcc tac agt 48
Met Lys Thr Thr Ile Ile Leu Ile Leu Leu Thr His Trp Ala Tyr Ser
1 5 10 15

caa aac cca atc agt ggc aat aac aca gcc aca ctg tgt ctg gga cac 96
Gln Asn Pro Ile Ser Gly Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His
20 25 30

cat gca gta gca aat gga aca ttg gta aaa aca atg agt gat gat caa 144
His Ala Val Ala Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Met Ser Asp Asp Gln
35 40 45

att gag gtg aca aat gct aca gaa tta gtt cag agc att tca atg ggg 192
Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly
50 55 60

[0163]

aaa ata tgc aac aaa tca tat aga att cta gat gga aga aat tgc aca Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr 65 70 75 80	240
tta ata gat gca atg cta gga gac ccc cac tgt gac gcc ttt cag tat Leu Ile Asp Ala Met Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Ala Phe Gln Tyr 85 90 95	288
gag agt tgg gac ctc ttt ata gaa aga agc agc gct ttc agc aat tgc Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Ser Ala Phe Ser Asn Cys 100 105 110	336
tac cca tat gac atc cct gac tat gca tcg ctc cga tcc att gta gca Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Ile Val Ala 115 120 125	384
tcc tca ggg aca gtg gaa ttc aca gca gag gga ttc aca tgg aca ggt Ser Ser Gly Thr Val Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly 130 135 140	432
gta act caa aac gga aga agt gga gcc tgc aaa agg gga tca gcc gat Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp 145 150 155 160	480
agt ttc ttt agc cga ctg aat tgg cta aca aaa tct gga agc tct tac Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr 165 170 175	528
ccc aca ttg aat gtg aca atg cct aac aat aaa aat ttc gac aag cta Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu 180 185 190	576
tac atc tgg ggg att cat cac ccg agc tca aat caa gag cag aca aaa Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Ser Asn Gln Glu Gln Thr Lys 195 200 205	624
ttg tac atc caa gaa tca gga cga gta aca gtc tca aca aaa aga agt Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser 210 215 220	672
caa caa aca ata atc cct aac atc gga tct aga ccg ttg gtc aga ggt Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly 225 230 235 240	720

[0164]

caa tca ggc agg ata agc ata tac tgg acc att gta aaa cct gga gat	768
Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp	
245 250 255	
atc cta atg ata aac agt aat ggc aac tta gtt gca ccg cgg gga tat	816
Ile Leu Met Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Val Ala Pro Arg Gly Tyr	
260 265 270	
ttt aaa ttg aac aca ggg aaa agc tct gta atg aga tcc gat gta ccc	864
Phe Lys Leu Asn Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Val Pro	
275 280 285	
ata gac att tgt gtg tct gaa tgt att aca cca aat gga agc atc tcc	912
Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser	
290 295 300	
aac gac aag cca ttc caa aat gtg aac aaa gtt aca tat gga aaa tgc	960
Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys	
305 310 315 320	
ccc aag tat atc agg caa aac act tta aag ctg gcc act ggg atg agg	1008
Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg	
325 330 335	
aat gta cca gaa aag caa acc aga gga atc ttt gga gca ata gcg gga	1056
Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly	
340 345 350	
ttc atc gaa aac ggc tgg gaa gga atg gtt gat ggg tgg tat ggg ttc	1104
Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe	
355 360 365	
cga tat caa aac tct gaa gga aca ggg caa gct gca gat cta aag agc	1152
Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser	
370 375 380	
act caa gca gcc atc gac cag att aat gga aag tta aac aga gtg att	1200
Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile	
385 390 395 400	
gaa aga acc aat gag aaa ttc cat caa ata gag aag gaa ttc tca gaa	1248
Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu	
405 410 415	

[0165]

gta gaa gga aga att cag gac ttg gag aaa tat gta gaa gac acc aaa	1296
Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys	
420 425 430	
ata gac cta tgg tcc tac aat gca gaa ttg ctg gtg gct cta gaa aat	1344
Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn	
435 440 445	
caa cat aca att gac tta aca gat gca gaa atg aat aaa tta ttt gag	1392
Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu	
450 455 460	
aag act aga cgc cag tta aga gaa aac gca gaa gac atg gga ggt gga	1440
Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly	
465 470 475 480	
tgt ttc aag att tac cac aaa tgt gat aat gca tgc att gaa tca ata	1488
Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Glu Ser Ile	
485 490 495	
aga act ggg aca tat gac cat tac ata tac aaa gat gaa gca tta aac	1536
Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Lys Asp Glu Ala Leu Asn	
500 505 510	
aat cga ttt cag atc aaa ggt gta gag ttg aaa tca ggc tac aaa gat	1584
Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp	
515 520 525	
tgg ata ctg tgg att tca ttc gcc ata tca tgc ttc tta att tgc gtt	1632
Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val	
530 535 540	
gtt cta ttg ggt ttc att atg tgg gct tgc caa aaa ggc aac atc aga	1680
Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile Arg	
545 550 555 560	
tgc aac att tgc att tga	1698
Cys Asn Ile Cys Ile	
565	

<210> 62
 <211> 565
 <212> PRT

[0166]

<213> 流感病毒

<400> 62

Met Lys Thr Thr Ile Ile Leu Ile Leu Leu Thr His Trp Ala Tyr Ser
1 5 10 15

Gln Asn Pro Ile Ser Gly Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His
20 25 30

His Ala Val Ala Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Met Ser Asp Asp Gln
35 40 45

Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly
50 55 60

Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr
65 70 75 80

Leu Ile Asp Ala Met Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Ala Phe Gln Tyr
85 90 95

Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Ser Ala Phe Ser Asn Cys
100 105 110

Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Ile Val Ala
115 120 125

Ser Ser Gly Thr Val Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly
130 135 140

Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp
145 150 155 160

[0167]

Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr
165 170 175

Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu
180 185 190

Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Ser Asn Gln Glu Gln Thr Lys
195 200 205

Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser
210 215 220

Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly
225 230 235 240

Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp
245 250 255

Ile Leu Met Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Val Ala Pro Arg Gly Tyr
260 265 270

Phe Lys Leu Asn Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Val Pro
275 280 285

Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser
290 295 300

Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys
305 310 315 320

Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg
325 330 335

[0168]

Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly
340 345 350

Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe
355 360 365

Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser
370 375 380

Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile
385 390 395 400

Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu
405 410 415

Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys
420 425 430

Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn
435 440 445

Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu
450 455 460

Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly
465 470 475 480

Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Glu Ser Ile
485 490 495

Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Lys Asp Glu Ala Leu Asn
500 505 510

[0169]

Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp
515 520 525

Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val
530 535 540

Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile Arg
545 550 555 560

Cys Asn Ile Cys Ile
565

<210> 63
<211> 2280
<212> DNA
<213> 流感病毒

<220>
<221> CDS
<222> (1).. (2280)

<400> 63
atg gag aga ata aaa gaa ctg aga gat ctg atg tta caa tcc cgc acc 48
Met Glu Arg Ile Lys Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr
1 5 10 15

cgc gag ata cta aca aaa act act gtg gac cac atg gcc ata atc aag 96
Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys
20 25 30

aaa tac aca tca gga aga caa gag aag aac cct gca ctt agg atg aaa 144
Lys Tyr Thr Ser Gly Arg Gln Glu Lys Asn Pro Ala Leu Arg Met Lys
35 40 45

tgg atg atg gca atg aaa tac cca att aca gca gat aag agg ata atg 192
Trp Met Met Ala Met Lys Tyr Pro Ile Thr Ala Asp Lys Arg Ile Met
50 55 60

gag atg att cct gag aga aat gaa cag gga caa acc ctt tgg agc aaa 240

[0170]

Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Lys Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp			
245	250	255	
caa agt tta att att gca gcc cgg aac ata gtg aga aga gca aca gta	816		
Gln Ser Leu Ile Ile Ala Ala Arg Asn Ile Val Arg Arg Ala Thr Val			
260	265	270	
tca gca gat cca cta gca tcc cta ctg gaa atg tgc cac agt aca cag	864		
Ser Ala Asp Pro Leu Ala Ser Leu Leu Glu Met Cys His Ser Thr Gln			
275	280	285	
att ggt gga aca agg atg gta gac atc ctt aag cag aac cca aca gag	912		
Ile Gly Gly Thr Arg Met Val Asp Ile Leu Lys Gln Asn Pro Thr Glu			
290	295	300	
gaa caa gct gtg gat ata tgc aaa gca gca atg gga ttg aga att agc	960		
Glu Gln Ala Val Asp Ile Cys Lys Ala Ala Met Gly Leu Arg Ile Ser			
305	310	315	320
tca tca ttc agc ttt ggt gga ttc acc ttc aaa agg aca agt gga tca	1008		
Ser Ser Phe Ser Phe Gly Gly Phe Thr Phe Lys Arg Thr Ser Gly Ser			
325	330	335	
tca gtc aag aga gaa gaa gaa atg ctt acg ggc aac ctt caa aca ttg	1056		
Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu			
340	345	350	
aaa ata aga gtg cat gag ggc tat gaa gaa ttc aca atg gtc gga aga	1104		
Lys Ile Arg Val His Glu Gly Tyr Glu Glu Phe Thr Met Val Gly Arg			
355	360	365	
aga gca aca gcc att atc aga aag gca acc aga aga ttg att caa ttg	1152		
Arg Ala Thr Ala Ile Ile Arg Lys Ala Thr Arg Arg Leu Ile Gln Leu			
370	375	380	
ata gta agt ggg aga gat gaa caa tca att gct gaa gca ata att gta	1200		
Ile Val Ser Gly Arg Asp Glu Gln Ser Ile Ala Glu Ala Ile Ile Val			
385	390	395	400
gcc atg gtg ttt tgc caa gaa gat tgc atg ata aaa gca gtt cga ggc	1248		
Ala Met Val Phe Ser Gln Glu Asp Cys Met Ile Lys Ala Val Arg Gly			
405	410	415	
gat ttg aac ttt gtt aat aga gca aat cag cgt ttg aac ccc atg cat	1296		

[0172]

Asp Leu Asn Phe Val Asn Arg Ala Asn Gln Arg Leu Asn Pro Met His	
420 425 430	
caa ctc ttg agg cat ttc caa aaa gat gca aaa gtg ctt ttc caa aat	1344
Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe Gln Asn	
435 440 445	
tgg gga att gaa ccc atc gac aat gta atg ggg atg att gga ata ttg	1392
Trp Gly Ile Glu Pro Ile Asp Asn Val Met Gly Met Ile Gly Ile Leu	
450 455 460	
cct gac atg acc cca agc acc gag atg tca ttg aga gga gtg aga gtc	1440
Pro Asp Met Thr Pro Ser Thr Glu Met Ser Leu Arg Gly Val Arg Val	
465 470 475 480	
agc aaa atg gga gtg gat gag tac tcc agc act gag aga gtg gtg gtg	1488
Ser Lys Met Gly Val Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Glu Arg Val Val Val	
485 490 495	
agc att gac cgt ttt tta aga gtt cgg gat caa agg gga aac ata cta	1536
Ser Ile Asp Arg Phe Leu Arg Val Arg Asp Gln Arg Gly Asn Ile Leu	
500 505 510	
ctg tcc cct gaa gaa gtc agt gaa aca caa gga acg gaa aag ctg aca	1584
Leu Ser Pro Glu Glu Val Ser Glu Thr Gln Gly Thr Glu Lys Leu Thr	
515 520 525	
ata att tat tcg tca tca atg atg tgg gag att aat ggt ccc gaa tca	1632
Ile Ile Tyr Ser Ser Ser Met Met Trp Glu Ile Asn Gly Pro Glu Ser	
530 535 540	
gtg ttg gtc aat act tat caa tgg atc atc aga aac tgg gaa att gta	1680
Val Leu Val Asn Thr Tyr Gln Trp Ile Ile Arg Asn Trp Glu Ile Val	
545 550 555 560	
aaa att cag tgg tca cag gac ccc aca atg tta tac aat aag ata gaa	1728
Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu	
565 570 575	
ttt gaa cca ttc caa tcc ctg gtc cct agg gcc acc aga agc caa tac	1776
Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr	
580 585 590	
agc ggt ttc gta aga acc ctg ttt cag caa atg cga gat gta ctt gga	1824

[0173]

Ser Gly Phe Val Arg Thr Leu Phe Gln Gln Met Arg Asp Val Leu Gly	
595 600 605	
aca ttt gat act gct caa ata ata aaa ctc ctc cct ttt gcc gct gct	1872
Thr Phe Asp Thr Ala Gln Ile Ile Lys Leu Leu Pro Phe Ala Ala Ala	
610 615 620	
cct ccg gaa cag agt agg atg cag ttc tct tct ttg act gtt aat gta	1920
Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val	
625 630 635 640	
aga ggt tcg gga atg agg ata ctt gta aga ggc aat tcc cca gtg ttc	1968
Arg Gly Ser Gly Met Arg Ile Leu Val Arg Gly Asn Ser Pro Val Phe	
645 650 655	
aac tac aat aaa gtc act aaa agg ctc aca gtc ctc gga aag gat gca	2016
Asn Tyr Asn Lys Val Thr Lys Arg Leu Thr Val Leu Gly Lys Asp Ala	
660 665 670	
ggt gcg ctt act gag gac cca gat gaa ggt acg gct gga gta gag tct	2064
Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser	
675 680 685	
gct gtt cta aga ggg ttt ctc att tta ggt aaa gaa aac aag aga tat	2112
Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr	
690 695 700	
ggc cca gca cta agc atc aat gaa ctt agc aaa ctt gca aaa ggg gag	2160
Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu	
705 710 715 720	
aaa gcc aat gta cta att ggg caa ggg gac gta gtg ttg gta atg aaa	2208
Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Val Val Leu Val Met Lys	
725 730 735	
cgg aaa cgt gac tct agc ata ctt act gac agc cag aca gcg acc aaa	2256
Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys	
740 745 750	
agg att cgg atg gcc atc aat tag	2280
Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn	
755	

[0174]

<210> 64
<211> 759
<212> PRT
<213> 流感病毒

<400> 64

Met Glu Arg Ile Lys Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr
1 5 10 15

Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys
20 25 30

Lys Tyr Thr Ser Gly Arg Gln Glu Lys Asn Pro Ala Leu Arg Met Lys
35 40 45

Trp Met Met Ala Met Lys Tyr Pro Ile Thr Ala Asp Lys Arg Ile Met
50 55 60

Glu Met Ile Pro Glu Arg Asn Glu Gln Gly Gln Thr Leu Trp Ser Lys
65 70 75 80

Thr Asn Asp Ala Gly Ser Asp Arg Val Met Val Ser Pro Leu Ala Val
85 90 95

Thr Trp Trp Asn Arg Asn Gly Pro Thr Thr Asn Thr Ile His Tyr Pro
100 105 110

Lys Val Tyr Lys Thr Tyr Phe Glu Lys Val Glu Arg Leu Lys His Gly
115 120 125

Thr Phe Gly Pro Val His Phe Arg Asn Gln Val Lys Ile Arg Arg Arg
130 135 140

Val Asp Val Asn Pro Gly His Ala Asp Leu Ser Ala Lys Glu Ala Gln

[0175]

145	150	155	160
Asp Val Ile Met Glu Val Val Phe Pro Asn Glu Val Gly Ala Arg Ile	165	170	175
Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu	180	185	190
Leu Gln Asp Cys Lys Ile Ala Pro Leu Met Val Ala Tyr Met Leu Glu	195	200	205
Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Val Gly Gly Thr	210	215	220
Ser Ser Val Tyr Ile Glu Val Leu His Leu Thr Gln Gly Thr Cys Trp	225	230	235
Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Lys Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp	245	250	255
Gln Ser Leu Ile Ile Ala Ala Arg Asn Ile Val Arg Arg Ala Thr Val	260	265	270
Ser Ala Asp Pro Leu Ala Ser Leu Leu Glu Met Cys His Ser Thr Gln	275	280	285
Ile Gly Gly Thr Arg Met Val Asp Ile Leu Lys Gln Asn Pro Thr Glu	290	295	300
Glu Gln Ala Val Asp Ile Cys Lys Ala Ala Met Gly Leu Arg Ile Ser	305	310	315
Ser Ser Phe Ser Phe Gly Gly Phe Thr Phe Lys Arg Thr Ser Gly Ser			

[0176]

	325		330		335
Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu					
	340		345		350
Lys Ile Arg Val His Glu Gly Tyr Glu Glu Phe Thr Met Val Gly Arg					
	355		360		365
Arg Ala Thr Ala Ile Ile Arg Lys Ala Thr Arg Arg Leu Ile Gln Leu					
	370		375		380
Ile Val Ser Gly Arg Asp Glu Gln Ser Ile Ala Glu Ala Ile Ile Val					
385		390		395	400
Ala Met Val Phe Ser Gln Glu Asp Cys Met Ile Lys Ala Val Arg Gly					
	405		410		415
Asp Leu Asn Phe Val Asn Arg Ala Asn Gln Arg Leu Asn Pro Met His					
	420		425		430
Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe Gln Asn					
	435		440		445
Trp Gly Ile Glu Pro Ile Asp Asn Val Met Gly Met Ile Gly Ile Leu					
	450		455		460
Pro Asp Met Thr Pro Ser Thr Glu Met Ser Leu Arg Gly Val Arg Val					
465		470		475	480
Ser Lys Met Gly Val Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Glu Arg Val Val Val					
	485		490		495
Ser Ile Asp Arg Phe Leu Arg Val Arg Asp Gln Arg Gly Asn Ile Leu					

[0177]

500	505	510
Leu Ser Pro Glu Glu Val Ser Glu Thr Gln Gly Thr Glu Lys Leu Thr		
515	520	525
Ile Ile Tyr Ser Ser Ser Met Met Trp Glu Ile Asn Gly Pro Glu Ser		
530	535	540
Val Leu Val Asn Thr Tyr Gln Trp Ile Ile Arg Asn Trp Glu Ile Val		
545	550	555 560
Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu		
565	570	575
Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr		
580	585	590
Ser Gly Phe Val Arg Thr Leu Phe Gln Gln Met Arg Asp Val Leu Gly		
595	600	605
Thr Phe Asp Thr Ala Gln Ile Ile Lys Leu Leu Pro Phe Ala Ala Ala		
610	615	620
Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val		
625	630	635 640
Arg Gly Ser Gly Met Arg Ile Leu Val Arg Gly Asn Ser Pro Val Phe		
645	650	655
Asn Tyr Asn Lys Val Thr Lys Arg Leu Thr Val Leu Gly Lys Asp Ala		
660	665	670
Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser		

[0178]

675	680	685
Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr		
690	695	700
Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu		
705	710	715
		720
Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Val Val Leu Val Met Lys		
725	730	735
Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys		
740	745	750
Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn		
755		

<210> 65

<211> 2274

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2274)

<400> 65

atg gat gtc aat ccg act cta ctt ttc tta aag gtg cca gcg caa aat	48
Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn	
1 5 10 15	
gct ata agc aca aca ttc cct tat act gga gat cct ccc tac agt cat	96
Ala Ile Ser Thr Thr Phe Pro Tyr Thr Gly Asp Pro Pro Tyr Ser His	
20 25 30	
gga aca ggg aca gga tac acc atg gat act gtc aac aga aca cac caa	144
Gly Thr Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Thr Val Asn Arg Thr His Gln	

[0179]

35	40	45	
tat tca gaa aaa ggg aaa tgg aca aca aac act gag att gga gca cca			192
Tyr Ser Glu Lys Gly Lys Trp Thr Thr Asn Thr Glu Ile Gly Ala Pro			
50	55	60	
caa ctt aat cca atc gat gga cca ctt cct gaa gac aat gaa cca agt			240
Gln Leu Asn Pro Ile Asp Gly Pro Leu Pro Glu Asp Asn Glu Pro Ser			
65	70	75	80
ggg tac gcc caa aca gat tgt gta ttg gaa gca atg gct ttc ctt gaa			288
Gly Tyr Ala Gln Thr Asp Cys Val Leu Glu Ala Met Ala Phe Leu Glu			
85	90	95	
gaa tcc cat ccc gga atc ttt gaa aat tcg tgt ctt gaa acg atg gag			336
Glu Ser His Pro Gly Ile Phe Glu Asn Ser Cys Leu Glu Thr Met Glu			
100	105	110	
gtg att cag cag aca aga gtg gac aaa cta aca caa ggc cga caa act			384
Val Ile Gln Gln Thr Arg Val Asp Lys Leu Thr Gln Gly Arg Gln Thr			
115	120	125	
tat gat tgg acc ttg aat agg aat caa cct gcc gca aca gca ctt gct			432
Tyr Asp Trp Thr Leu Asn Arg Asn Gln Pro Ala Ala Thr Ala Leu Ala			
130	135	140	
aat acg att gaa gta ttc aga tca aat ggt ctg acc tcc aat gaa tcg			480
Asn Thr Ile Glu Val Phe Arg Ser Asn Gly Leu Thr Ser Asn Glu Ser			
145	150	155	160
ggg aga ttg atg gac ttc ctc aaa gat gtc atg gag tcc atg aac aag			528
Gly Arg Leu Met Asp Phe Leu Lys Asp Val Met Glu Ser Met Asn Lys			
165	170	175	
gag gaa atg gaa ata aca aca cac ttc caa cgg aag aga aga gta aga			576
Glu Glu Met Glu Ile Thr Thr His Phe Gln Arg Lys Arg Arg Val Arg			
180	185	190	
gac aac atg aca aag aga atg ata aca cag aga acc ata gga aag aaa			624
Asp Asn Met Thr Lys Arg Met Ile Thr Gln Arg Thr Ile Gly Lys Lys			
195	200	205	
aaa caa cga tta agc aga aag agc tat cta atc aga aca tta acc cta			672
Lys Gln Arg Leu Ser Arg Lys Ser Tyr Leu Ile Arg Thr Leu Thr Leu			

[0180]

210	215	220	
aac aca atg acc aag gac gct gag aga ggg aaa ttg aaa cga cga gca			720
Asn Thr Met Thr Lys Asp Ala Glu Arg Gly Lys Leu Lys Arg Arg Ala			
225	230	235	240
atc gct acc cca ggg atg cag ata aga gga ttt gta tat ttt gtt gaa			768
Ile Ala Thr Pro Gly Met Gln Ile Arg Gly Phe Val Tyr Phe Val Glu			
245	250	255	
aca cta gct cga aga ata tgt gaa aag ctt gaa caa tca gga ttg cca			816
Thr Leu Ala Arg Arg Ile Cys Glu Lys Leu Glu Gln Ser Gly Leu Pro			
260	265	270	
gtt ggc ggt aat gag aaa aag gcc aaa ctg gct aat gtc gtc aga aaa			864
Val Gly Gly Asn Glu Lys Lys Ala Lys Leu Ala Asn Val Val Arg Lys			
275	280	285	
atg atg act aat tcc caa gac act gaa ctc tcc ttc acc atc act ggg			912
Met Met Thr Asn Ser Gln Asp Thr Glu Leu Ser Phe Thr Ile Thr Gly			
290	295	300	
gac aat acc aaa tgg aat gaa aat cag aac cca cgc ata ttc ctg gca			960
Asp Asn Thr Lys Trp Asn Glu Asn Gln Asn Pro Arg Ile Phe Leu Ala			
305	310	315	320
atg atc aca tac ata act aga gat cag cca gaa tgg ttc aga aat gtt			1008
Met Ile Thr Tyr Ile Thr Arg Asp Gln Pro Glu Trp Phe Arg Asn Val			
325	330	335	
cta agc att gca ccg att atg ttc tca aat aaa atg gca aga ctg ggg			1056
Leu Ser Ile Ala Pro Ile Met Phe Ser Asn Lys Met Ala Arg Leu Gly			
340	345	350	
aaa gga tat atg ttt gaa agc aaa agt atg aaa ttg aga act caa ata			1104
Lys Gly Tyr Met Phe Glu Ser Lys Ser Met Lys Leu Arg Thr Gln Ile			
355	360	365	
cca gca gaa atg cta gca agc att gac cta aaa tat ttc aat gat tca			1152
Pro Ala Glu Met Leu Ala Ser Ile Asp Leu Lys Tyr Phe Asn Asp Ser			
370	375	380	
aca aaa aag aaa att gaa aag ata cga cca ctc ctg gtt gac ggg act			1200
Thr Lys Lys Lys Ile Glu Lys Ile Arg Pro Leu Leu Val Asp Gly Thr			

[0181]

385	390	395	400	
gct tca ctg agt cct ggc atg atg atg gga atg ttc aac atg ttg agc				1248
Ala Ser Leu Ser Pro Gly Met Met Met Gly Met Phe Asn Met Leu Ser				
	405	410	415	
act gtg ctg ggt gta tcc ata tta aac ctg ggc cag agg aaa tat aca				1296
Thr Val Leu Gly Val Ser Ile Leu Asn Leu Gly Gln Arg Lys Tyr Thr				
	420	425	430	
aag acc aca tac tgg tgg gat ggt ctg caa tca tcc gat gac ttt gct				1344
Lys Thr Thr Tyr Trp Trp Asp Gly Leu Gln Ser Ser Asp Asp Phe Ala				
	435	440	445	
ttg ata gtg aat gcg cct aat cat gaa gga ata caa gct gga gta gac				1392
Leu Ile Val Asn Ala Pro Asn His Glu Gly Ile Gln Ala Gly Val Asp				
	450	455	460	
aga ttc tat aga act tgc aaa ctg gtc ggg atc aac atg agc aaa aag				1440
Arg Phe Tyr Arg Thr Cys Lys Leu Val Gly Ile Asn Met Ser Lys Lys				
465	470	475	480	
aag tcc tac ata aat aga act gga aca ttc gaa ttc aca agc ttt ttc				1488
Lys Ser Tyr Ile Asn Arg Thr Gly Thr Phe Glu Phe Thr Ser Phe Phe				
	485	490	495	
tac cgg tat ggt ttt gta gcc aat ttc agc atg gaa cta ccc agt ttt				1536
Tyr Arg Tyr Gly Phe Val Ala Asn Phe Ser Met Glu Leu Pro Ser Phe				
	500	505	510	
ggg gtt tcc gga ata aat gaa tct gca gac atg agc att gga gtg aca				1584
Gly Val Ser Gly Ile Asn Glu Ser Ala Asp Met Ser Ile Gly Val Thr				
	515	520	525	
gtc atc aaa aac aac atg ata aat aat gat ctc ggt cct gcc acg gca				1632
Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala				
	530	535	540	
caa atg gca ctc caa ctc ttc att aag gat tat cgg tac aca tac cgg				1680
Gln Met Ala Leu Gln Leu Phe Ile Lys Asp Tyr Arg Tyr Thr Tyr Arg				
545	550	555	560	
tgc cat aga ggt gat acc cag ata caa acc aga aga tct ttt gag ttg				1728
Cys His Arg Gly Asp Thr Gln Ile Gln Thr Arg Arg Ser Phe Glu Leu				

[0182]

565	570	575	
aag aaa ctg tgg gaa cag act cga tca aag act ggt cta ctg gta tca			1776
Lys Lys Leu Trp Glu Gln Thr Arg Ser Lys Thr Gly Leu Leu Val Ser			
580	585	590	
gat ggg ggt cca aac cta tat aac atc aga aac cta cac atc ccg gaa			1824
Asp Gly Gly Pro Asn Leu Tyr Asn Ile Arg Asn Leu His Ile Pro Glu			
595	600	605	
gtc tgt tta aaa tgg gag cta atg gat gaa gat tat aag ggg agg cta			1872
Val Cys Leu Lys Trp Glu Leu Met Asp Glu Asp Tyr Lys Gly Arg Leu			
610	615	620	
tgc aat cca ttg aat cct ttc gtt agt cac aaa gaa att gaa tca gtc			1920
Cys Asn Pro Leu Asn Pro Phe Val Ser His Lys Glu Ile Glu Ser Val			
625	630	635	640
aac agt gca gta gta atg cct gct cat ggc cct gcc aaa agc atg gag			1968
Asn Ser Ala Val Val Met Pro Ala His Gly Pro Ala Lys Ser Met Glu			
645	650	655	
tat gat gct gtt gca aca aca cat tct tgg atc ccc aag agg aac cgg			2016
Tyr Asp Ala Val Ala Thr Thr His Ser Trp Ile Pro Lys Arg Asn Arg			
660	665	670	
tcc ata ttg aac aca agc caa agg gga ata cta gaa gat gag cag atg			2064
Ser Ile Leu Asn Thr Ser Gln Arg Gly Ile Leu Glu Asp Glu Gln Met			
675	680	685	
tat cag aaa tgc tgc aac ctg ttt gaa aaa ttc ttc ccc agc agc tca			2112
Tyr Gln Lys Cys Cys Asn Leu Phe Glu Lys Phe Phe Pro Ser Ser Ser			
690	695	700	
tac aga aga cca gtc gga att tct agt atg gtt gag gcc atg gta tcc			2160
Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser			
705	710	715	720
agg gcc cgc att gat gca cga att gac ttc gaa tct gga cgg ata aag			2208
Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys			
725	730	735	
aag gat gag ttc gct gag atc atg aag atc tgt tcc acc att gaa gag			2256
Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu			

[0183]

740 745 750

c t c a g a c g g c a a a a a t a g 2274
L e u A r g A r g G l n L y s
755

<210> 66
<211> 757
<212> PRT
<213> 流感病毒

<400> 66

M e t A s p V a l A s n P r o T h r L e u L e u P h e L e u L y s V a l P r o A l a G l n A s n
1 5 10 15

A l a I l e S e r T h r T h r P h e P r o T y r T h r G l y A s p P r o P r o T y r S e r H i s
20 25 30

G l y T h r G l y T h r G l y T y r T h r M e t A s p T h r V a l A s n A r g T h r H i s G l n
35 40 45

T y r S e r G l u L y s G l y L y s T r p T h r T h r A s n T h r G l u I l e G l y A l a P r o
50 55 60

G l n L e u A s n P r o I l e A s p G l y P r o L e u P r o G l u A s p A s n G l u P r o S e r
65 70 75 80

G l y T y r A l a G l n T h r A s p C y s V a l L e u G l u A l a M e t A l a P h e L e u G l u
85 90 95

G l u S e r H i s P r o G l y I l e P h e G l u A s n S e r C y s L e u G l u T h r M e t G l u
100 105 110

V a l I l e G l n G l n T h r A r g V a l A s p L y s L e u T h r G l n G l y A r g G l n T h r
115 120 125

[0184]

Tyr Asp Trp Thr Leu Asn Arg Asn Gln Pro Ala Ala Thr Ala Leu Ala
130 135 140

Asn Thr Ile Glu Val Phe Arg Ser Asn Gly Leu Thr Ser Asn Glu Ser
145 150 155 160

Gly Arg Leu Met Asp Phe Leu Lys Asp Val Met Glu Ser Met Asn Lys
165 170 175

Glu Glu Met Glu Ile Thr Thr His Phe Gln Arg Lys Arg Arg Val Arg
180 185 190

Asp Asn Met Thr Lys Arg Met Ile Thr Gln Arg Thr Ile Gly Lys Lys
195 200 205

Lys Gln Arg Leu Ser Arg Lys Ser Tyr Leu Ile Arg Thr Leu Thr Leu
210 215 220

Asn Thr Met Thr Lys Asp Ala Glu Arg Gly Lys Leu Lys Arg Arg Ala
225 230 235 240

Ile Ala Thr Pro Gly Met Gln Ile Arg Gly Phe Val Tyr Phe Val Glu
245 250 255

Thr Leu Ala Arg Arg Ile Cys Glu Lys Leu Glu Gln Ser Gly Leu Pro
260 265 270

Val Gly Gly Asn Glu Lys Lys Ala Lys Leu Ala Asn Val Val Arg Lys
275 280 285

Met Met Thr Asn Ser Gln Asp Thr Glu Leu Ser Phe Thr Ile Thr Gly
290 295 300

[0185]

Asp Asn Thr Lys Trp Asn Glu Asn Gln Asn Pro Arg Ile Phe Leu Ala
305 310 315 320

Met Ile Thr Tyr Ile Thr Arg Asp Gln Pro Glu Trp Phe Arg Asn Val
325 330 335

Leu Ser Ile Ala Pro Ile Met Phe Ser Asn Lys Met Ala Arg Leu Gly
340 345 350

Lys Gly Tyr Met Phe Glu Ser Lys Ser Met Lys Leu Arg Thr Gln Ile
355 360 365

Pro Ala Glu Met Leu Ala Ser Ile Asp Leu Lys Tyr Phe Asn Asp Ser
370 375 380

Thr Lys Lys Lys Ile Glu Lys Ile Arg Pro Leu Leu Val Asp Gly Thr
385 390 395 400

Ala Ser Leu Ser Pro Gly Met Met Met Gly Met Phe Asn Met Leu Ser
405 410 415

Thr Val Leu Gly Val Ser Ile Leu Asn Leu Gly Gln Arg Lys Tyr Thr
420 425 430

Lys Thr Thr Tyr Trp Trp Asp Gly Leu Gln Ser Ser Asp Asp Phe Ala
435 440 445

Leu Ile Val Asn Ala Pro Asn His Glu Gly Ile Gln Ala Gly Val Asp
450 455 460

Arg Phe Tyr Arg Thr Cys Lys Leu Val Gly Ile Asn Met Ser Lys Lys
465 470 475 480

[0186]

Lys Ser Tyr Ile Asn Arg Thr Gly Thr Phe Glu Phe Thr Ser Phe Phe
485 490 495

Tyr Arg Tyr Gly Phe Val Ala Asn Phe Ser Met Glu Leu Pro Ser Phe
500 505 510

Gly Val Ser Gly Ile Asn Glu Ser Ala Asp Met Ser Ile Gly Val Thr
515 520 525

Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala
530 535 540

Gln Met Ala Leu Gln Leu Phe Ile Lys Asp Tyr Arg Tyr Thr Tyr Arg
545 550 555 560

Cys His Arg Gly Asp Thr Gln Ile Gln Thr Arg Arg Ser Phe Glu Leu
565 570 575

Lys Lys Leu Trp Glu Gln Thr Arg Ser Lys Thr Gly Leu Leu Val Ser
580 585 590

Asp Gly Gly Pro Asn Leu Tyr Asn Ile Arg Asn Leu His Ile Pro Glu
595 600 605

Val Cys Leu Lys Trp Glu Leu Met Asp Glu Asp Tyr Lys Gly Arg Leu
610 615 620

Cys Asn Pro Leu Asn Pro Phe Val Ser His Lys Glu Ile Glu Ser Val
625 630 635 640

Asn Ser Ala Val Val Met Pro Ala His Gly Pro Ala Lys Ser Met Glu
645 650 655

[0187]

Tyr Asp Ala Val Ala Thr Thr His Ser Trp Ile Pro Lys Arg Asn Arg
660 665 670

Ser Ile Leu Asn Thr Ser Gln Arg Gly Ile Leu Glu Asp Glu Gln Met
675 680 685

Tyr Gln Lys Cys Cys Asn Leu Phe Glu Lys Phe Phe Pro Ser Ser Ser
690 695 700

Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser
705 710 715 720

Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys
725 730 735

Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu
740 745 750

Leu Arg Arg Gln Lys
755

<210> 67

<211> 2151

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2151)

<400> 67

atg gaa gac ttt gtg cga cag tgc ttc aat cca atg atc gtc gag ctt
Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu
1 5 10 15

48

[0188]

gcg gaa aag gca atg aaa gaa tat gga gag aac ccg aaa atc gaa aca Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr 20 25 30	96
aac aaa ttt gca gca ata tgc act cac ttg gaa gtc tgc ttc atg tac Asn Lys Phe Ala Ala Ile Cys Thr His Leu Glu Val Cys Phe Met Tyr 35 40 45	144
tcg gat ttc cac ttt ata aat gaa ctg ggt gag tca gtg gtc ata gag Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu 50 55 60	192
tct ggt gac cca aat gct ctt ttg aaa cac aga ttt gaa atc att gag Ser Gly Asp Pro Asn Ala Leu Leu Lys His Arg Phe Glu Ile Ile Glu 65 70 75 80	240
ggg aga gat cga aca atg gca tgg aca gta gta aac agc atc tgc aac Gly Arg Asp Arg Thr Met Ala Trp Thr Val Val Asn Ser Ile Cys Asn 85 90 95	288
acc aca aga gct gaa aaa cct aaa ttt ctt cca gat tta tac gac tat Thr Thr Arg Ala Glu Lys Pro Lys Phe Leu Pro Asp Leu Tyr Asp Tyr 100 105 110	336
aaa gag aac aga ttt gtt gaa att ggt gtg aca agg aga gaa gtt cac Lys Glu Asn Arg Phe Val Glu Ile Gly Val Thr Arg Arg Glu Val His 115 120 125	384
ata tac tac ctg gag aag gcc aac aaa ata aag tct gag aaa aca cat Ile Tyr Tyr Leu Glu Lys Ala Asn Lys Ile Lys Ser Glu Lys Thr His 130 135 140	432
atc cac att ttc tca ttt aca gga gaa gaa atg gct aca aaa gcg gac Ile His Ile Phe Ser Phe Thr Gly Glu Glu Met Ala Thr Lys Ala Asp 145 150 155 160	480
tat act ctt gat gaa gag agt aga gcc agg atc aag acc aga cta ttc Tyr Thr Leu Asp Glu Glu Ser Arg Ala Arg Ile Lys Thr Arg Leu Phe 165 170 175	528
act ata aga caa gaa atg gcc agt aga ggc ctc tgg gat tcc ttt cgt Thr Ile Arg Gln Glu Met Ala Ser Arg Gly Leu Trp Asp Ser Phe Arg 180 185 190	576

[0189]

cag tcc gag aga ggc gaa gag aca att gaa gaa aga ttt gaa atc aca Gln Ser Glu Arg Gly Glu Glu Thr Ile Glu Glu Arg Phe Glu Ile Thr 195 200 205	624
ggg acg atg cgc aag ctt gcc aat tac agt ctc cca ccg aac ttc tcc Gly Thr Met Arg Lys Leu Ala Asn Tyr Ser Leu Pro Pro Asn Phe Ser 210 215 220	672
agc ctt gaa aat ttt aga gtc tat ata gat gga ttc gaa ccg aac ggc Ser Leu Glu Asn Phe Arg Val Tyr Ile Asp Gly Phe Glu Pro Asn Gly 225 230 235 240	720
tgc att gag agt aag ctt tct caa atg tcc aaa gaa gta aat gcc aaa Cys Ile Glu Ser Lys Leu Ser Gln Met Ser Lys Glu Val Asn Ala Lys 245 250 255	768
ata gaa cca ttt tca aag aca aca ccc cga cca ctc aaa atg cca ggt Ile Glu Pro Phe Ser Lys Thr Thr Pro Arg Pro Leu Lys Met Pro Gly 260 265 270	816
ggt cca ccc tgc cat cag cga tcc aaa ttc ttg cta atg gat gct ctg Gly Pro Pro Cys His Gln Arg Ser Lys Phe Leu Leu Met Asp Ala Leu 275 280 285	864
aaa ctg agc att gag gac cca agt cac gag gga gag ggg ata cca cta Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu 290 295 300	912
tat gat gca atc aaa tgc atg aaa act ttc ttt gga tgg aaa gag ccc Tyr Asp Ala Ile Lys Cys Met Lys Thr Phe Phe Gly Trp Lys Glu Pro 305 310 315 320	960
agt att gtt aaa cca cat aaa aag ggt ata aac ccg aac tat ctc caa Ser Ile Val Lys Pro His Lys Lys Gly Ile Asn Pro Asn Tyr Leu Gln 325 330 335	1008
act tgg aag caa gta tta gaa gaa ata caa gac ctt gag aac gaa gaa Thr Trp Lys Gln Val Leu Glu Glu Ile Gln Asp Leu Glu Asn Glu Glu 340 345 350	1056
agg acc ccc aag acc aag aat atg aaa aaa aca agc caa ttg aaa tgg Arg Thr Pro Lys Thr Lys Asn Met Lys Lys Thr Ser Gln Leu Lys Trp 355 360 365	1104

[0190]

gca cta ggt gaa aat atg gca cca gag aaa gtg gat ttt gag gat tgt	1152
Ala Leu Gly Glu Asn Met Ala Pro Glu Lys Val Asp Phe Glu Asp Cys	
370 375 380	
aaa gac atc aat gat tta aaa caa tat gac agt gat gag cca gaa gca	1200
Lys Asp Ile Asn Asp Leu Lys Gln Tyr Asp Ser Asp Glu Pro Glu Ala	
385 390 395 400	
agg tct ctt gca agt tgg att caa agt gag ttc aac aag gct tgt gag	1248
Arg Ser Leu Ala Ser Trp Ile Gln Ser Glu Phe Asn Lys Ala Cys Glu	
405 410 415	
ctg aca gat tca agc tgg ata gag ctc gat gaa att ggg gag gat gtc	1296
Leu Thr Asp Ser Ser Trp Ile Glu Leu Asp Glu Ile Gly Glu Asp Val	
420 425 430	
gcc cca ata gaa tac att gcg agc atg agg aga aat tat ttt act gct	1344
Ala Pro Ile Glu Tyr Ile Ala Ser Met Arg Arg Asn Tyr Phe Thr Ala	
435 440 445	
gag att tcc cat tgt aga gca aca gaa tat ata atg aaa gga gtg tac	1392
Glu Ile Ser His Cys Arg Ala Thr Glu Tyr Ile Met Lys Gly Val Tyr	
450 455 460	
atc aac act gct cta ctc aat gca tcc tgt gct gcg atg gat gaa ttt	1440
Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe	
465 470 475 480	
caa tta att ccg atg ata agt aaa tgc agg acc aaa gaa ggg aga agg	1488
Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg	
485 490 495	
aaa aca aat tta tat gga ttc ata ata aag gga agg tcc cat tta aga	1536
Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg	
500 505 510	
aat gat act gac gtg gtg aac ttt gta agt atg gaa ttt tct ctc act	1584
Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr	
515 520 525	
gat cca aga ttt gag cca cac aaa tgg gaa aaa tac tgc gtt cta gaa	1632
Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu	
530 535 540	

[0191]

att gga gac atg ctt tta aga act gct gta ggt caa gtg tca aga ccc Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro 545 550 555 560	1680
atg ttt ttg tat gta agg aca aat gga acc tct aaa att aaa atg aaa Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys 565 570 575	1728
tgg gga atg gaa atg agg cgc tgc ctc ctt cag tct ctg caa cag att Trp Gly Met Glu Met Arg Arg Cys Leu Leu Gln Ser Leu Gln Gln Ile 580 585 590	1776
gaa agc atg atc gaa gct gag tcc tca gtc aaa gaa aag gac atg acc Glu Ser Met Ile Glu Ala Glu Ser Ser Val Lys Glu Lys Asp Met Thr 595 600 605	1824
aaa gaa ttt ttt gag aac aaa tca gag aca tgg cct ata gga gag tcc Lys Glu Phe Phe Glu Asn Lys Ser Glu Thr Trp Pro Ile Gly Glu Ser 610 615 620	1872
ccc aaa gga gtg gaa gag ggc tca atc ggg aag gtt tgc agg acc tta Pro Lys Gly Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Lys Val Cys Arg Thr Leu 625 630 635 640	1920
tta gca aaa tct gtg ttt aac agt tta tat gca tct cca caa ctg gaa Leu Ala Lys Ser Val Phe Asn Ser Leu Tyr Ala Ser Pro Gln Leu Glu 645 650 655	1968
gga ttt tca gct gaa tct agg aaa tta ctt ctc att gtt cag gct ctt Gly Phe Ser Ala Glu Ser Arg Lys Leu Leu Leu Ile Val Gln Ala Leu 660 665 670	2016
aga gat gac ctg gaa cct gga acc ttt gat att ggg ggg tta tat gaa Arg Asp Asp Leu Glu Pro Gly Thr Phe Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Glu 675 680 685	2064
tca att gag gag tgc ctg att aat gat ccc tgg gtt ttg ctt aat gca Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala 690 695 700	2112
tct tgg ttc aac tcc ttc ctc aca cat gca ctg aag tag Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys 705 710 715	2151

[0192]

<210> 68

<211> 716

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 68

Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu
1 5 10 15

Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr
20 25 30

Asn Lys Phe Ala Ala Ile Cys Thr His Leu Glu Val Cys Phe Met Tyr
35 40 45

Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu
50 55 60

Ser Gly Asp Pro Asn Ala Leu Leu Lys His Arg Phe Glu Ile Ile Glu
65 70 75 80

Gly Arg Asp Arg Thr Met Ala Trp Thr Val Val Asn Ser Ile Cys Asn
85 90 95

Thr Thr Arg Ala Glu Lys Pro Lys Phe Leu Pro Asp Leu Tyr Asp Tyr
100 105 110

Lys Glu Asn Arg Phe Val Glu Ile Gly Val Thr Arg Arg Glu Val His
115 120 125

Ile Tyr Tyr Leu Glu Lys Ala Asn Lys Ile Lys Ser Glu Lys Thr His
130 135 140

[0193]

Ile His Ile Phe Ser Phe Thr Gly Glu Glu Met Ala Thr Lys Ala Asp
145 150 155 160

Tyr Thr Leu Asp Glu Glu Ser Arg Ala Arg Ile Lys Thr Arg Leu Phe
165 170 175

Thr Ile Arg Gln Glu Met Ala Ser Arg Gly Leu Trp Asp Ser Phe Arg
180 185 190

Gln Ser Glu Arg Gly Glu Glu Thr Ile Glu Glu Arg Phe Glu Ile Thr
195 200 205

Gly Thr Met Arg Lys Leu Ala Asn Tyr Ser Leu Pro Pro Asn Phe Ser
210 215 220

Ser Leu Glu Asn Phe Arg Val Tyr Ile Asp Gly Phe Glu Pro Asn Gly
225 230 235 240

Cys Ile Glu Ser Lys Leu Ser Gln Met Ser Lys Glu Val Asn Ala Lys
245 250 255

Ile Glu Pro Phe Ser Lys Thr Thr Pro Arg Pro Leu Lys Met Pro Gly
260 265 270

Gly Pro Pro Cys His Gln Arg Ser Lys Phe Leu Leu Met Asp Ala Leu
275 280 285

Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu
290 295 300

Tyr Asp Ala Ile Lys Cys Met Lys Thr Phe Phe Gly Trp Lys Glu Pro
305 310 315 320

[0194]

Ser Ile Val Lys Pro His Lys Lys Gly Ile Asn Pro Asn Tyr Leu Gln
325 330 335

Thr Trp Lys Gln Val Leu Glu Glu Ile Gln Asp Leu Glu Asn Glu Glu
340 345 350

Arg Thr Pro Lys Thr Lys Asn Met Lys Lys Thr Ser Gln Leu Lys Trp
355 360 365

Ala Leu Gly Glu Asn Met Ala Pro Glu Lys Val Asp Phe Glu Asp Cys
370 375 380

Lys Asp Ile Asn Asp Leu Lys Gln Tyr Asp Ser Asp Glu Pro Glu Ala
385 390 395 400

Arg Ser Leu Ala Ser Trp Ile Gln Ser Glu Phe Asn Lys Ala Cys Glu
405 410 415

Leu Thr Asp Ser Ser Trp Ile Glu Leu Asp Glu Ile Gly Glu Asp Val
420 425 430

Ala Pro Ile Glu Tyr Ile Ala Ser Met Arg Arg Asn Tyr Phe Thr Ala
435 440 445

Glu Ile Ser His Cys Arg Ala Thr Glu Tyr Ile Met Lys Gly Val Tyr
450 455 460

Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe
465 470 475 480

Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg
485 490 495

[0195]

Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg
500 505 510

Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr
515 520 525

Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu
530 535 540

Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro
545 550 555 560

Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys
565 570 575

Trp Gly Met Glu Met Arg Arg Cys Leu Leu Gln Ser Leu Gln Gln Ile
580 585 590

Glu Ser Met Ile Glu Ala Glu Ser Ser Val Lys Glu Lys Asp Met Thr
595 600 605

Lys Glu Phe Phe Glu Asn Lys Ser Glu Thr Trp Pro Ile Gly Glu Ser
610 615 620

Pro Lys Gly Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Lys Val Cys Arg Thr Leu
625 630 635 640

Leu Ala Lys Ser Val Phe Asn Ser Leu Tyr Ala Ser Pro Gln Leu Glu
645 650 655

Gly Phe Ser Ala Glu Ser Arg Lys Leu Leu Leu Ile Val Gln Ala Leu
660 665 670

[0196]

Arg Asp Asp Leu Glu Pro Gly Thr Phe Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Glu
675 680 685

Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala
690 695 700

Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys
705 710 715

<210> 69

<211> 844

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (690)

<400> 69

atg gat tcc aac act gtg tca agc ttt cag gta gac tgt ttt ctt tgg 48
Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp
1 5 10 15

cat gtc cgt aaa cga ttc gca gac caa gaa ctg ggt gat gcc cca ttc 96
His Val Arg Lys Arg Phe Ala Asp Gln Glu Leu Gly Asp Ala Pro Phe
20 25 30

ctt gac cgg ctt cgc cga gac cag aag tcc cta agg gga aga ggt agc 144
Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser
35 40 45

act ctt ggt ctg gac atc gaa aca gcc act cat gca gga aag cag ala 192
Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr His Ala Gly Lys Gln Ile
50 55 60

gtg gag cag att ctg gaa aag gaa tca gat gag gca ctt aaa atg acc 240
Val Glu Gln Ile Leu Glu Lys Glu Ser Asp Glu Ala Leu Lys Met Thr
65 70 75 80

[0197]

att gcc tct gtt cct gct tca cgc tac tta act gac atg act ctt gat Ile Ala Ser Val Pro Ala Ser Arg Tyr Leu Thr Asp Met Thr Leu Asp 85 90 95	288
gag atg tca aga gac tgg ttc atg ctc atg ccc aag caa aaa gta aca Glu Met Ser Arg Asp Trp Phe Met Leu Met Pro Lys Gln Lys Val Thr 100 105 110	336
ggc tcc cta tgt ata aga atg gac cag gca atc atg gat aag aac atc Gly Ser Leu Cys Ile Arg Met Asp Gln Ala Ile Met Asp Lys Asn Ile 115 120 125	384
ata ctt aaa gca aac ttt agt gtg att ttc gaa agg ctg gaa aca cta Ile Leu Lys Ala Asn Phe Ser Val Ile Phe Glu Arg Leu Glu Thr Leu 130 135 140	432
ata cta ctt aga gcc ttc acc gaa gaa gga gca gtc gtt ggc gaa att Ile Leu Leu Arg Ala Phe Thr Glu Glu Gly Ala Val Val Gly Glu Ile 145 150 155 160	480
tca cca tta cct tct ctt cca gga cat act aat gag gat gtc aaa aat Ser Pro Leu Pro Ser Leu Pro Gly His Thr Asn Glu Asp Val Lys Asn 165 170 175	528
gca att ggg gtc ctc atc gga gga ctt aaa tgg aat gat aat acg gtt Ala Ile Gly Val Leu Ile Gly Gly Leu Lys Trp Asn Asp Asn Thr Val 180 185 190	576
aga atc tct gaa act cta cag aga ttc gct tgg aga agc agt cat gaa Arg Ile Ser Glu Thr Leu Gln Arg Phe Ala Trp Arg Ser Ser His Glu 195 200 205	624
aat ggg aga cct tca ttc cct tca aaa cag aaa cga aaa atg gag aga Asn Gly Arg Pro Ser Phe Pro Ser Lys Gln Lys Arg Lys Met Glu Arg 210 215 220	672
aca att aag cca gaa att tgaagaaata agatggttga ttgaagaagt Thr Ile Lys Pro Glu Ile 225 230	720
gcgacataga ttgaaaata cagaaaatag ttttgaacaa ataacattta tgcaagcctt	780
acaactattg ctigaagtag aacaagagat aagaacttgc tegtctcagc ttattttaatg	840

[0198]

ataa

844

<210> 70

<211> 230

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 70

Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp

1

5

10

15

His Val Arg Lys Arg Phe Ala Asp Gln Glu Leu Gly Asp Ala Pro Phe

20

25

30

Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser

35

40

45

Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr His Ala Gly Lys Gln Ile

50

55

60

Val Glu Gln Ile Leu Glu Lys Glu Ser Asp Glu Ala Leu Lys Met Thr

65

70

75

80

Ile Ala Ser Val Pro Ala Ser Arg Tyr Leu Thr Asp Met Thr Leu Asp

85

90

95

Glu Met Ser Arg Asp Trp Phe Met Leu Met Pro Lys Gln Lys Val Thr

100

105

110

Gly Ser Leu Cys Ile Arg Met Asp Gln Ala Ile Met Asp Lys Asn Ile

115

120

125

Ile Leu Lys Ala Asn Phe Ser Val Ile Phe Glu Arg Leu Glu Thr Leu

130

135

140

[0199]

Ile Leu Leu Arg Ala Phe Thr Glu Glu Gly Ala Val Val Gly Glu Ile
145 150 155 160

Ser Pro Leu Pro Ser Leu Pro Gly His Thr Asn Glu Asp Val Lys Asn
165 170 175

Ala Ile Gly Val Leu Ile Gly Gly Leu Lys Trp Asn Asp Asn Thr Val
180 185 190

Arg Ile Ser Glu Thr Leu Gln Arg Phe Ala Trp Arg Ser Ser His Glu
195 200 205

Asn Gly Arg Pro Ser Phe Pro Ser Lys Gln Lys Arg Lys Met Glu Arg
210 215 220

Thr Ile Lys Pro Glu Ile
225 230

<210> 71

<211> 1497

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1497)

<400> 71

atg gcg tct caa ggc acc aaa cga tcc tat gaa cag atg gaa act gat 48
Met Ala Ser Gln Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Asp
1 5 10 15

ggg gaa cgc cag aat gca act gaa atc aga gca tct gtc gga agg atg 96
Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met
20 25 30

[0200]

gtg gga gga atc gga cgg ttt tat gtc cag atg tgt act gag ctt aaa	144
Val Gly Gly Ile Gly Arg Phe Tyr Val Gln Met Cys Thr Glu Leu Lys	
35 40 45	
cta aac gac cat gaa ggg cgg ctg att cag aac agc ata aca ata gaa	192
Leu Asn Asp His Glu Gly Arg Leu Ile Gln Asn Ser Ile Thr Ile Glu	
50 55 60	
agg atg gtg ctt tcg gca ttc gac gaa aga aga aac aag tat ctc gag	240
Arg Met Val Leu Ser Ala Phe Asp Glu Arg Arg Asn Lys Tyr Leu Glu	
65 70 75 80	
gag cat ccc agt gct ggg aaa gac cct aag aaa acg gga ggc ccg ata	288
Glu His Pro Ser Ala Gly Lys Asp Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Ile	
85 90 95	
tac aga aga aaa gat ggg aaa tgg atg agg gaa ctc atc ctc cat gat	336
Tyr Arg Arg Lys Asp Gly Lys Trp Met Arg Glu Leu Ile Leu His Asp	
100 105 110	
aaa gaa gaa atc atg aga atc tgg cgt cag gcc aac aat ggt gaa gac	384
Lys Glu Glu Ile Met Arg Ile Trp Arg Gln Ala Asn Asn Gly Glu Asp	
115 120 125	
gct act gct ggt ctt act cat atg atg atc tgg cac tcc aat ctc aat	432
Ala Thr Ala Gly Leu Thr His Met Met Ile Trp His Ser Asn Leu Asn	
130 135 140	
gac acc aca tac caa aga aca agg gct ctt gtt cgg act ggg atg gat	480
Asp Thr Thr Tyr Gln Arg Thr Arg Ala Leu Val Arg Thr Gly Met Asp	
145 150 155 160	
ccc aga atg tgc tct ctg atg caa ggc tca acc ctc cca cgg aga tct	528
Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser	
165 170 175	
gga gcc gct ggt gct gca gta aaa ggc gtt gga aca atg gta atg gaa	576
Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu	
180 185 190	
ctc atc aga atg atc aag cgc gga ata aat gat cgg aat ttc tgg aga	624
Leu Ile Arg Met Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg	
195 200 205	

[0201]

ggt gaa aat ggt cga aga acc aga att gct tat gaa aga atg tgc aat Gly Glu Asn Gly Arg Arg Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn 210 215 220	672
atc ctc aaa ggg aaa ttt cag aca gca gca caa cgg gct atg atg gac Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp 225 230 235 240	720
cag gtg agg gaa ggc cgc aat cct gga aac gct gag att gag gat ctc Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu 245 250 255	768
att ttc ttg gca cga tca gca ctt att ttg aga gga tca gta gcc cat Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His 260 265 270	816
aaa tca tgc cta cct gcc tgt gtt tat ggc ctt gca cta acc agt ggg Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Leu Thr Ser Gly 275 280 285	864
tat gac ttt gag aag gaa gga tac tct ctg gtt gga att gat cct ttc Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe 290 295 300	912
aaa cta ctc cag aac agt caa att ttc agt cta atc aga cca aaa gaa Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu 305 310 315 320	960
aac cca gca cac aaa agc cag ttg gtg tgg atg gca tgc cat tct gca Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala 325 330 335	1008
gca ttt gag gat ctg aga gtt tta aat ttc att aga gga acc aaa gta Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val 340 345 350	1056
atc cca aga gga cag tta aca acc aga gga gtt caa att gct tca aat Ile Pro Arg Gly Gln Leu Thr Thr Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn 355 360 365	1104
gaa aac atg gag aca ata aat tct agc aca ctt gaa ctg aga agc aaa Glu Asn Met Glu Thr Ile Asn Ser Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Lys 370 375 380	1152

[0202]

320

Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met
20 25 30

Val Gly Gly Ile Gly Arg Phe Tyr Val Gln Met Cys Thr Glu Leu Lys
35 40 45

Leu Asn Asp His Glu Gly Arg Leu Ile Gln Asn Ser Ile Thr Ile Glu
50 55 60

Arg Met Val Leu Ser Ala Phe Asp Glu Arg Arg Asn Lys Tyr Leu Glu
65 70 75 80

Glu His Pro Ser Ala Gly Lys Asp Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Ile
85 90 95

Tyr Arg Arg Lys Asp Gly Lys Trp Met Arg Glu Leu Ile Leu His Asp
100 105 110

Lys Glu Glu Ile Met Arg Ile Trp Arg Gln Ala Asn Asn Gly Glu Asp
115 120 125

Ala Thr Ala Gly Leu Thr His Met Met Ile Trp His Ser Asn Leu Asn
130 135 140

Asp Thr Thr Tyr Gln Arg Thr Arg Ala Leu Val Arg Thr Gly Met Asp
145 150 155 160

Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser
165 170 175

Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu
180 185 190

[0204]

Leu Ile Arg Met Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg
195 200 205

Gly Glu Asn Gly Arg Arg Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn
210 215 220

Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp
225 230 235 240

Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu
245 250 255

Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His
260 265 270

Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Leu Thr Ser Gly
275 280 285

Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe
290 295 300

Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu
305 310 315 320

Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala
325 330 335

Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val
340 345 350

Ile Pro Arg Gly Gln Leu Thr Thr Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn
355 360 365

[0205]

Glu Asn Met Glu Thr Ile Asn Ser Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Lys
370 375 380

Tyr Trp Ala Ile Arg Thr Arg Ser Gly Gly Asn Thr Ser Gln Gln Arg
385 390 395 400

Ala Ser Ala Gly Gln Ile Ser Val Gln Pro Thr Phe Ser Val Gln Arg
405 410 415

Asn Leu Pro Phe Glu Arg Ala Thr Ile Met Ala Ala Phe Thr Gly Asn
420 425 430

Thr Glu Gly Arg Thr Ser Asp Met Arg Thr Glu Ile Ile Arg Met Met
435 440 445

Glu Asn Ala Lys Ser Glu Asp Val Ser Phe Gln Gly Arg Gly Val Phe
450 455 460

Glu Leu Ser Asp Glu Lys Ala Thr Asn Pro Ile Val Pro Ser Phe Asp
465 470 475 480

Met Ser Asn Glu Gly Ser Tyr Phe Phe Gly Asp Asn Ala Glu Glu Phe
485 490 495

Asp Ser

<210> 73

<211> 1413

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

[0206]

<221> CDS

<222> (1)..(1413)

<400> 73

atg aat cca aat caa aag ata ata gca att gga ttt gca tca ttg ggg 48

Met Asn Pro Asn Gln Lys Ile Ile Ala Ile Gly Phe Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

ata tta atc att aat gtc att ctc cat gta gtc agc att ata gta aca 96

Ile Leu Ile Ile Asn Val Ile Leu His Val Val Ser Ile Ile Val Thr

20 25 30

gta ctg gtc ctc aat aac aat aga aca gat ctg aac tgc aaa ggg acg 144

Val Leu Val Leu Asn Asn Asn Arg Thr Asp Leu Asn Cys Lys Gly Thr

35 40 45

atc ata aga gaa tac aat gaa aca gta aga gta gaa aaa ctt act caa 192

Ile Ile Arg Glu Tyr Asn Glu Thr Val Arg Val Glu Lys Leu Thr Gln

50 55 60

tgg tat aat acc agt aca att aag tac ata gag aga cct tca aat gaa 240

Trp Tyr Asn Thr Ser Thr Ile Lys Tyr Ile Glu Arg Pro Ser Asn Glu

65 70 75 80

tac tac atg aat aac act gaa cca ctt tgt gag gcc caa ggc ttt gca 288

Tyr Tyr Met Asn Asn Thr Glu Pro Leu Cys Glu Ala Gln Gly Phe Ala

85 90 95

cca ttt tcc aaa gat aat gga ata cga att ggg tcg aga ggc cat gtt 336

Pro Phe Ser Lys Asp Asn Gly Ile Arg Ile Gly Ser Arg Gly His Val

100 105 110

ttt gtg ata aga gaa cct ttt gta tca tgt tcg ccc tca gaa tgt aga 384

Phe Val Ile Arg Glu Pro Phe Val Ser Cys Ser Pro Ser Glu Cys Arg

115 120 125

acc ttt ttc ctc aca cag ggc tca tta ctc aat gac aaa cat tct aac 432

Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn

130 135 140

ggc aca ata aag gat cga agt ccg tat agg act ttg atg agt gtc aaa 480

Gly Thr Ile Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys

145 150 155 160

[0207]

ata ggg caa tca cct aat gta tat caa gct agg ttt gaa tcg gtg gca Ile Gly Gln Ser Pro Asn Val Tyr Gln Ala Arg Phe Glu Ser Val Ala 165 170 175	528
tgg tca gca aca gca tgc cat gat gga aaa aaa tgg atg aca gtt gga Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly 180 185 190	576
gtc aca ggg ccc gac aat caa gca att gca gta gtg aac tat gga ggt Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly 195 200 205	624
gtt ccg gtt gat att att aat tca tgg gca ggg gat att tta aga acc Val Pro Val Asp Ile Ile Asn Ser Trp Ala Gly Asp Ile Leu Arg Thr 210 215 220	672
caa gaa tca tca tgc acc tgc att aaa gga gac tgt tat tgg gta atg Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met 225 230 235 240	720
act gat gga ccg gca aat agg caa gct aaa tat agg ata ttc aaa gca Thr Asp Gly Pro Ala Asn Arg Gln Ala Lys Tyr Arg Ile Phe Lys Ala 245 250 255	768
aaa gat gga aga gta att gga caa act gat ata agt ttc aat ggg gga Lys Asp Gly Arg Val Ile Gly Gln Thr Asp Ile Ser Phe Asn Gly Gly 260 265 270	816
cac ata gag gag tgt tct tgt tac ccc aat gaa ggg aag gtg gaa tgc His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Asn Glu Gly Lys Val Glu Cys 275 280 285	864
ata tgc agg gac aat tgg act gga aca aat aga cca att ctg gta ata Ile Cys Arg Asp Asn Trp Thr Gly Thr Asn Arg Pro Ile Leu Val Ile 290 295 300	912
tct tct gat cta tcg tac aca gtt gga tat ttg tgt gct ggc att ccc Ser Ser Asp Leu Ser Tyr Thr Val Gly Tyr Leu Cys Ala Gly Ile Pro 305 310 315 320	960
act gac act cct agg gga gag gat agt caa ttc aca ggc tca tgt aca Thr Asp Thr Pro Arg Gly Glu Asp Ser Gln Phe Thr Gly Ser Cys Thr 325 330 335	1008

[0208]

agt cct ttg gga aat aaa gga tac ggt gta aaa ggc ttc ggg ttt cga	1056
Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg	
340 345 350	
caa gga act gac gta tgg gcc gga agg aca att agt agg act tca aga	1104
Gln Gly Thr Asp Val Trp Ala Gly Arg Thr Ile Ser Arg Thr Ser Arg	
355 360 365	
tca gga ttc gaa ata ata aaa atc agg aat ggt tgg aca cag aac agt	1152
Ser Gly Phe Glu Ile Ile Lys Ile Arg Asn Gly Trp Thr Gln Asn Ser	
370 375 380	
aag gac caa atc agg agg caa gtg att atc gat gac cca aat tgg tca	1200
Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser	
385 390 395 400	
gga tat agc ggt tct ttc aca ttg ccg gtt gaa ctg aca aaa aag gga	1248
Gly Tyr Ser Gly Ser Phe Thr Leu Pro Val Glu Leu Thr Lys Lys Gly	
405 410 415	
tgt ttg gtc ccc tgt ttc tgg gtt gaa atg att aga ggt aaa cct gaa	1296
Cys Leu Val Pro Cys Phe Trp Val Glu Met Ile Arg Gly Lys Pro Glu	
420 425 430	
gaa aca aca ata tgg acc tct agc agc tcc att gtg atg tgt gga gta	1344
Glu Thr Thr Ile Trp Thr Ser Ser Ser Ser Ile Val Met Cys Gly Val	
435 440 445	
gat cat aaa att gcc agt tgg tca tgg cac gat gga gct att ctt ccc	1392
Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro	
450 455 460	
ttt gac atc gat aag atg taa	1413
Phe Asp Ile Asp Lys Met	
465 470	

<210> 74

<211> 470

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 74

[0209]

Met Asn Pro Asn Gln Lys Ile Ile Ala Ile Gly Phe Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Ile Leu Ile Ile Asn Val Ile Leu His Val Val Ser Ile Ile Val Thr
20 25 30

Val Leu Val Leu Asn Asn Asn Arg Thr Asp Leu Asn Cys Lys Gly Thr
35 40 45

Ile Ile Arg Glu Tyr Asn Glu Thr Val Arg Val Glu Lys Leu Thr Gln
50 55 60

Trp Tyr Asn Thr Ser Thr Ile Lys Tyr Ile Glu Arg Pro Ser Asn Glu
65 70 75 80

Tyr Tyr Met Asn Asn Thr Glu Pro Leu Cys Glu Ala Gln Gly Phe Ala
85 90 95

Pro Phe Ser Lys Asp Asn Gly Ile Arg Ile Gly Ser Arg Gly His Val
100 105 110

Phe Val Ile Arg Glu Pro Phe Val Ser Cys Ser Pro Ser Glu Cys Arg
115 120 125

Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn
130 135 140

Gly Thr Ile Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys
145 150 155 160

Ile Gly Gln Ser Pro Asn Val Tyr Gln Ala Arg Phe Glu Ser Val Ala
165 170 175

[0210]

Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly
180 185 190

Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly
195 200 205

Val Pro Val Asp Ile Ile Asn Ser Trp Ala Gly Asp Ile Leu Arg Thr
210 215 220

Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met
225 230 235 240

Thr Asp Gly Pro Ala Asn Arg Gln Ala Lys Tyr Arg Ile Phe Lys Ala
245 250 255

Lys Asp Gly Arg Val Ile Gly Gln Thr Asp Ile Ser Phe Asn Gly Gly
260 265 270

His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Asn Glu Gly Lys Val Glu Cys
275 280 285

Ile Cys Arg Asp Asn Trp Thr Gly Thr Asn Arg Pro Ile Leu Val Ile
290 295 300

Ser Ser Asp Leu Ser Tyr Thr Val Gly Tyr Leu Cys Ala Gly Ile Pro
305 310 315 320

Thr Asp Thr Pro Arg Gly Glu Asp Ser Gln Phe Thr Gly Ser Cys Thr
325 330 335

Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg
340 345 350

[0211]

Gln Gly Thr Asp Val Trp Ala Gly Arg Thr Ile Ser Arg Thr Ser Arg
355 360 365

Ser Gly Phe Glu Ile Ile Lys Ile Arg Asn Gly Trp Thr Gln Asn Ser
370 375 380

Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser
385 390 395 400

Gly Tyr Ser Gly Ser Phe Thr Leu Pro Val Glu Leu Thr Lys Lys Gly
405 410 415

Cys Leu Val Pro Cys Phe Trp Val Glu Met Ile Arg Gly Lys Pro Glu
420 425 430

Glu Thr Thr Ile Trp Thr Ser Ser Ser Ile Val Met Cys Gly Val
435 440 445

Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro
450 455 460

Phe Asp Ile Asp Lys Met
465 470

<210> 75

<211> 981

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (756)

<400> 75

atg agt ctt cta acc gag gtc gaa acg tac gtt ctc tct atc gta cca

48

[0212]

Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro	
1 5 10 15	
tca ggc ccc ctc aaa gcc gag atc gcg cag aga ctt gaa gat gtc ttt	96
Ser Gly Pro Leu Lys Ala Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe	
20 25 30	
gcg gga aag aac acc gat ctt gag gca ctc atg gaa tgg cta aag aca	144
Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr	
35 40 45	
aga cca atc ctg tca cct ctg act aaa ggg att tta gga ttt gta ttc	192
Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe	
50 55 60	
acg ctc acc gtg ccc agt gag cga gga ctg cag cgt aga cgc ttt gtc	240
Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val	
65 70 75 80	
caa aat gcc ctt agt gga aac gga gat cca aac aac atg gac aga gca	288
Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala	
85 90 95	
gta aaa ctg tac agg aag ctt aaa aga gaa ata aca ttc cat ggg gca	336
Val Lys Leu Tyr Arg Lys Leu Lys Arg Glu Ile Thr Phe His Gly Ala	
100 105 110	
aaa gag gtg gca ctc agc tat tcc act ggt gca cta gcc agc tgc atg	384
Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met	
115 120 125	
gga ctc ata tac aac aga atg gga act gtt aca acc gaa gtg gca ttt	432
Gly Leu Ile Tyr Asn Arg Met Gly Thr Val Thr Thr Glu Val Ala Phe	
130 135 140	
ggc ctg gta tgc gcc aca tgt gaa cag att gct gat tcc cag cat cga	480
Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg	
145 150 155 160	
tct cac agg cag atg gtg aca aca acc aac cca tta atc aga cat gaa	528
Ser His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu	
165 170 175	
aac aga atg gta tta gcc agt acc acg gct aaa gcc atg gaa cag atg	576

[0213]

Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met	
180 185 190	
gca gga tcg agt gag cag gca gca gag gcc atg gag gtt gct agt agg	624
Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Arg	
195 200 205	
gct agg cag atg gta cag gca atg aga acc att ggg acc cac cct agc	672
Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser	
210 215 220	
tcc agt gcc ggt ttg aaa gat gat ctc ctt gaa aat tta cag gcc tac	720
Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr	
225 230 235 240	
cag aaa cgg atg gga gtg caa atg cag cga ttc aag tgatcctctc	766
Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys	
245 250	
gtcatgtcag caagtatcat tgggatcttg cacttgatat tgtggattct tgatcgtctt	826
ttcttcaaat tcatttatcg tcgccttaaa tacgggttga aaagagggcc ttctacggaa	886
ggagtacctg agtctatgag ggaagaatat cggcaggaac agcagaatgc tgtggatgtt	946
gacgatggtc attttgtcaa catagagctg gagta	981

<210> 76

<211> 252

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 76

Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro
1 5 10 15

Ser Gly Pro Leu Lys Ala Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe
20 25 30

Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr

[0214]

35	40	45
Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe		
50	55	60
Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val		
65	70	75 80
Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala		
85	90	95
Val Lys Leu Tyr Arg Lys Leu Lys Arg Glu Ile Thr Phe His Gly Ala		
100	105	110
Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met		
115	120	125
Gly Leu Ile Tyr Asn Arg Met Gly Thr Val Thr Thr Glu Val Ala Phe		
130	135	140
Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg		
145	150	155 160
Ser His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu		
165	170	175
Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met		
180	185	190
Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Arg		
195	200	205
Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser		

[0215]

210	215	220	
Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr			
225	230	235	240
Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys			
	245	250	
<210> 77			
<211> 1698			
<212> DNA			
<213> 流感病毒			
<220>			
<221> CDS			
<222> (1).. (1698)			
<400> 77			
atg aag aca acc att att tta ata cta ctg acc cat tgg gcc tac agt			48
Met Lys Thr Thr Ile Ile Leu Ile Leu Leu Thr His Trp Ala Tyr Ser			
1	5	10	15
caa aac cca atc agt ggc aat aac aca gcc aca ctg tgt ctg gga cac			96
Gln Asn Pro Ile Ser Gly Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His			
	20	25	30
cat gca gia gca aat gga aca ttg gta aaa aca atg agt gat gat caa			144
His Ala Val Ala Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Met Ser Asp Asp Gln			
	35	40	45
att gag gtg aca aat gct aca gaa tta gtt cag agc att tca atg ggg			192
Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly			
	50	55	60
aaa ata tgc aac aaa tca tat aga att cta gat gga aga aat tgc aca			240
Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr			
65	70	75	80
tta ata gat gca atg cta gga gac ccc cac tgt gac gcc ttt cag tat			288
Leu Ile Asp Ala Met Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Ala Phe Gln Tyr			

[0216]

85	90	95	
gag agt tgg gac ctc ttt ata gaa aga agc agc gct ttc agc aat tgc			336
Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Ser Ala Phe Ser Asn Cys			
100	105	110	
tac cca tat gac atc cct gac tat gca ccg ctc cga tcc att gta gca			384
Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Pro Leu Arg Ser Ile Val Ala			
115	120	125	
tcc tca ggg aca gtg gaa ttc aca gca gag gga ttc aca tgg aca ggt			432
Ser Ser Gly Thr Val Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly			
130	135	140	
gta act caa aac gga aga agt gga gcc tgc aaa agg gga tca gcc gat			480
Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp			
145	150	155	160
agt ttc ttt agc cga ctg aat tgg cta aca aaa tct gga agc tct tac			528
Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr			
165	170	175	
ccc aca ttg aat gtg aca atg cct aac aat aaa aat ttc gac aag cta			576
Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu			
180	185	190	
tac atc tgg ggg att cat cac ccg agc tca aat caa gag cag aca aaa			624
Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Ser Asn Gln Glu Gln Thr Lys			
195	200	205	
ttg tac atc caa gaa tca gga cga gta aca gtc tca aca aaa aga agt			672
Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser			
210	215	220	
caa caa aca ata atc cct aac atc gga tct aga ccg ttg gtc aga ggt			720
Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly			
225	230	235	240
caa tca ggc agg ata agc ata tac tgg acc att gta aaa cct gga gat			768
Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp			
245	250	255	
atc cta atg ata aac agt aat ggc aac tta gtt gca ccg cgg gga tat			816
Ile Leu Met Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Val Ala Pro Arg Gly Tyr			

[0217]

260	265	270	
ttt aaa ttg aac aca ggg aaa agc tct gta atg aga tcc gat gta ccc			864
Phe Lys Leu Asn Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Val Pro			
275	280	285	
ata gac att tgt gtg tct gaa tgt att aca cca aat gga agc atc tcc			912
Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser			
290	295	300	
aac gac aag cca ttc caa aat gtg aac aaa gtt aca tat gga aaa tgc			960
Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys			
305	310	315	320
ccc aag tat atc agg caa aac act tta aag ctg gcc act ggg atg agg			1008
Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg			
325	330	335	
aat gta cca gaa aag caa acc aga gga atc ttt gga gca ata gcg gga			1056
Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly			
340	345	350	
ttc atc gaa aac ggc tgg gaa gga atg gtt gat ggg tgg tat ggg ttc			1104
Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe			
355	360	365	
cga tat caa aac tct gaa gga aca ggg caa gct gca gat cta aag agc			1152
Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser			
370	375	380	
act caa gca gcc atc gac cag att aat gga aag tta aac aga gtg att			1200
Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile			
385	390	395	400
gaa aga acc aat gag aaa ttc cat caa ata gag aag gaa ttc tca gaa			1248
Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu			
405	410	415	
gta gaa gga aga att cag gac ttg gag aaa tat gta gaa gac acc aaa			1296
Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys			
420	425	430	
ata gac cta tgg tcc tac aat gca gaa ttg ctg gtg gct cta gaa aat			1344
Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn			

[0218]

435	440	445	
caa cat aca att gac tta aca gat gca gaa atg aat aaa tta ttt gag			1392
Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu			
450	455	460	
aag act aga cgc cag tta aga gaa aac gca gaa gac atg gga ggt gga			1440
Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly			
465	470	475	480
tgt ttc aag att tac cac aaa tgt gat aat gca tgc att gaa tca ata			1488
Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Glu Ser Ile			
485	490	495	
aga act ggg aca tat gac cat tac ata tac aaa gat gaa gca tta aac			1536
Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Lys Asp Glu Ala Leu Asn			
500	505	510	
aat cga ttt cag atc aaa ggt gta gag ttg aaa tca ggc tac aaa gat			1584
Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp			
515	520	525	
tgg ata ctg tgg att tca ttc gcc ata tca tgc ttc tta att tgc gtt			1632
Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val			
530	535	540	
gtt cta ttg ggt ttc att atg tgg gct tgc caa aaa ggc aac atc aga			1680
Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile Arg			
545	550	555	560
tgc aac att tgc att tga			1698
Cys Asn Ile Cys Ile			
565			

<210> 78

<211> 565

<212> PRT

<213> 流感病毒

<400> 78

Met Lys Thr Thr Ile Ile Leu Ile Leu Leu Thr His Trp Ala Tyr Ser

1

5

10

15

[0219]

Gln Asn Pro Ile Ser Gly Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His
20 25 30

His Ala Val Ala Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Met Ser Asp Asp Gln
35 40 45

Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly
50 55 60

Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr
65 70 75 80

Leu Ile Asp Ala Met Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Ala Phe Gln Tyr
85 90 95

Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Ser Ala Phe Ser Asn Cys
100 105 110

Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Pro Leu Arg Ser Ile Val Ala
115 120 125

Ser Ser Gly Thr Val Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly
130 135 140

Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp
145 150 155 160

Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr
165 170 175

Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu
180 185 190

[0220]

Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Ser Asn Gln Glu Gln Thr Lys
195 200 205

Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser
210 215 220

Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly
225 230 235 240

Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp
245 250 255

Ile Leu Met Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Val Ala Pro Arg Gly Tyr
260 265 270

Phe Lys Leu Asn Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Val Pro
275 280 285

Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser
290 295 300

Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys
305 310 315 320

Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg
325 330 335

Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly
340 345 350

Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe
355 360 365

[0221]

Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser
370 375 380

Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile
385 390 395 400

Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu
405 410 415

Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys
420 425 430

Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn
435 440 445

Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu
450 455 460

Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly
465 470 475 480

Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Glu Ser Ile
485 490 495

Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Lys Asp Glu Ala Leu Asn
500 505 510

Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp
515 520 525

Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val
530 535 540

[0222]

Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile Arg
545 550 555 560

Cys Asn Ile Cys Ile
565

<210> 79

<211> 20

<212> DNA

<213> 流感病毒

<400> 79

tatgcatcgc tccgatccat

20

<210> 80

<211> 21

<212> DNA

<213> 流感病毒

<400> 80

gctccacttc ttccgttttg a

21

<210> 81

<211> 30

<212> DNA

<213> 流感病毒

<400> 81

aattcacagc agagggattc acatggacag

30

<210> 82

<211> 24

<212> DNA

<213> 流感病毒

<220>

[0223]

<221>	变异	
<222>	(7)..(7)	
<223>	r = a 或 g	
<400>	82	
	catggartgg ctaaagacaa gacc	24
<210>	83	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	流感病毒	
<220>		
<221>	变异	
<222>	(18)..(18)	
<223>	k = g 或 t	
<400>	83	
	agggcatttt ggacaaakcg tcta	24
<210>	84	
<211>	18	
<212>	DNA	
<213>	流感病毒	
<400>	84	
	acgctcaccg tgcccagt	18
<210>	85	
<211>	28	
<212>	DNA	
<213>	流感病毒	
<400>	85	
	tattcgtctc agggagcaaa agcagggg	28
<210>	86	
<211>	42	
<212>	DNA	

[0224]

<213> 流感病毒

<400> 86

tgtaatacga ctcactatag ggtccactt cticcgtttt ga

42

<210> 87

<211> 30

<212> DNA

<213> 流感病毒

<400> 87

gacgctctt caggagcaa aagcaggtag

30

<210> 88

<211> 40

<212> DNA

<213> 流感病毒

<400> 88

tgtaatacga ctcactatag ggcatitttg acaaagcgtc

40

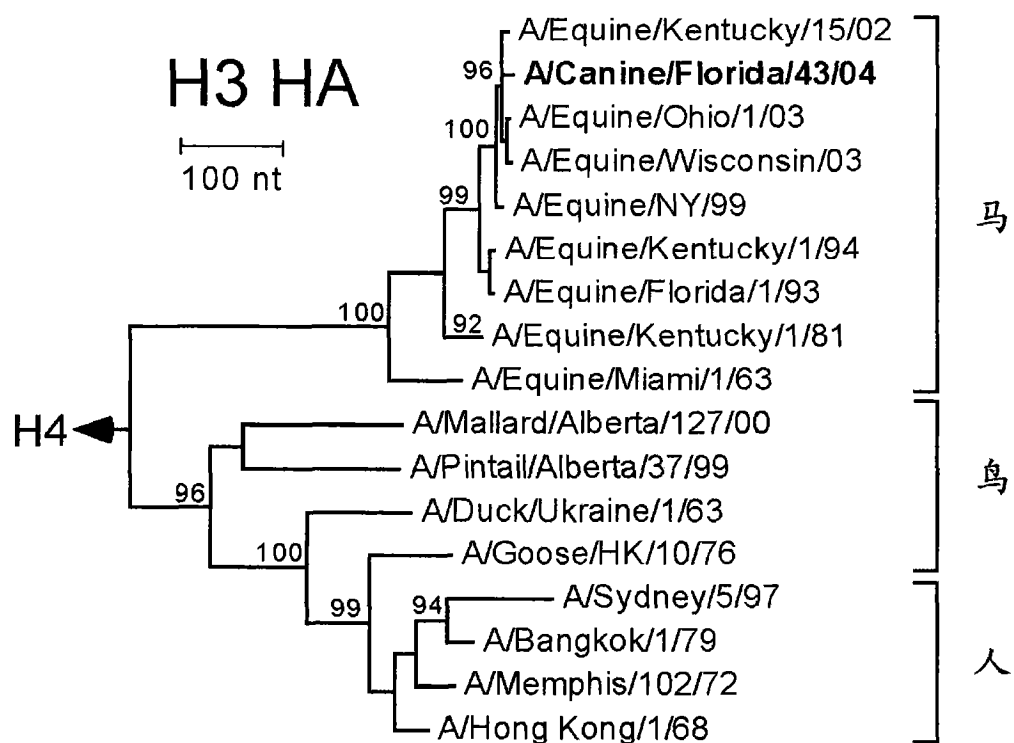


图 1A

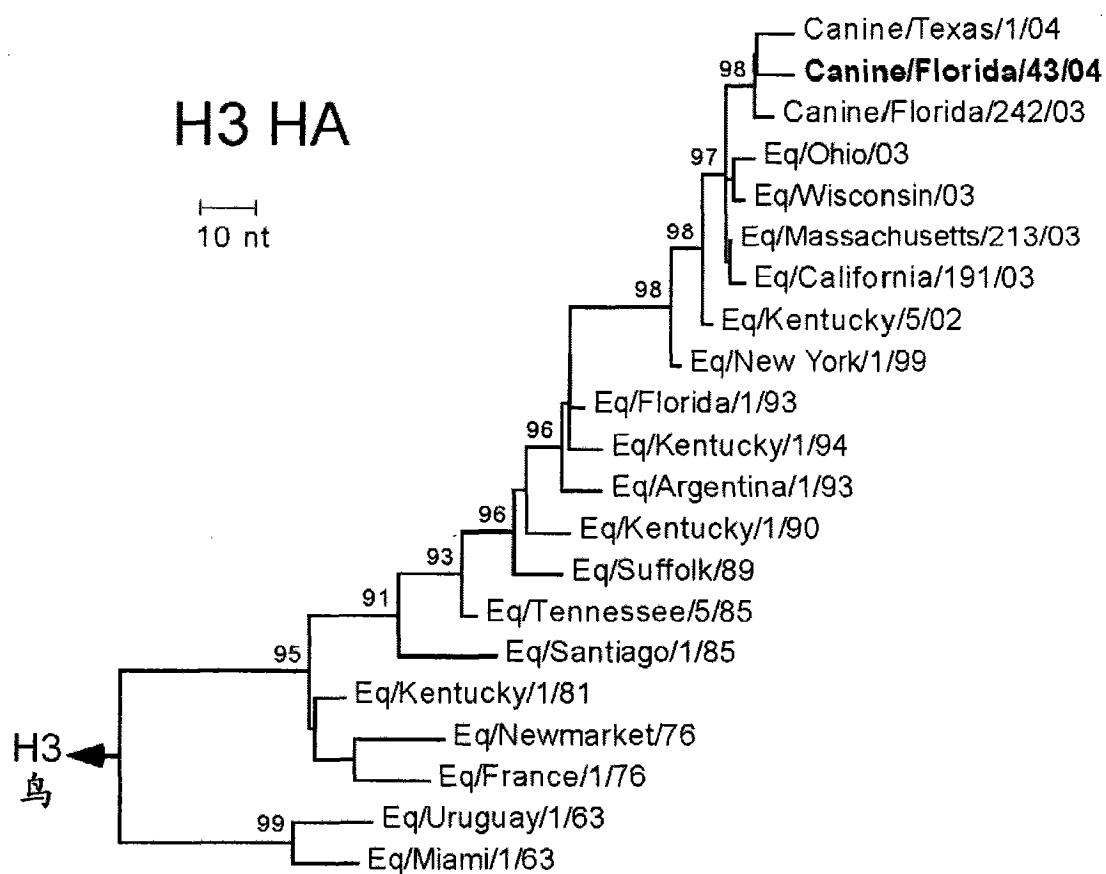


图 1B

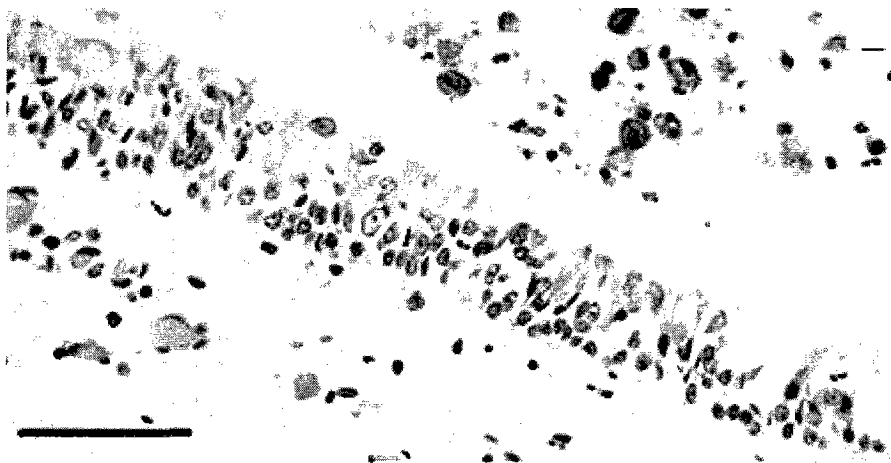


图 2A

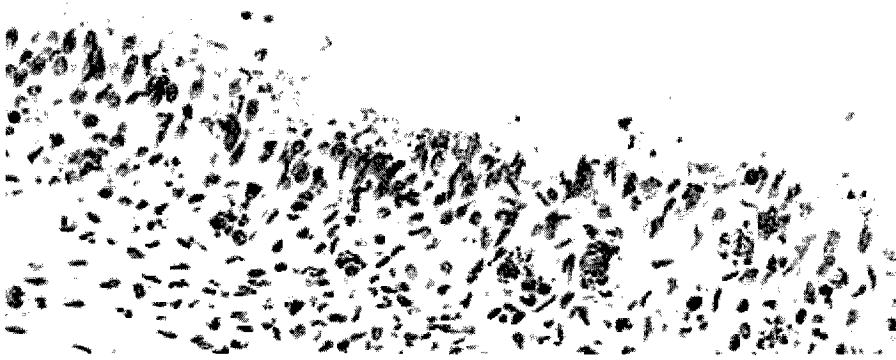


图 2B



图 3A



图 3B

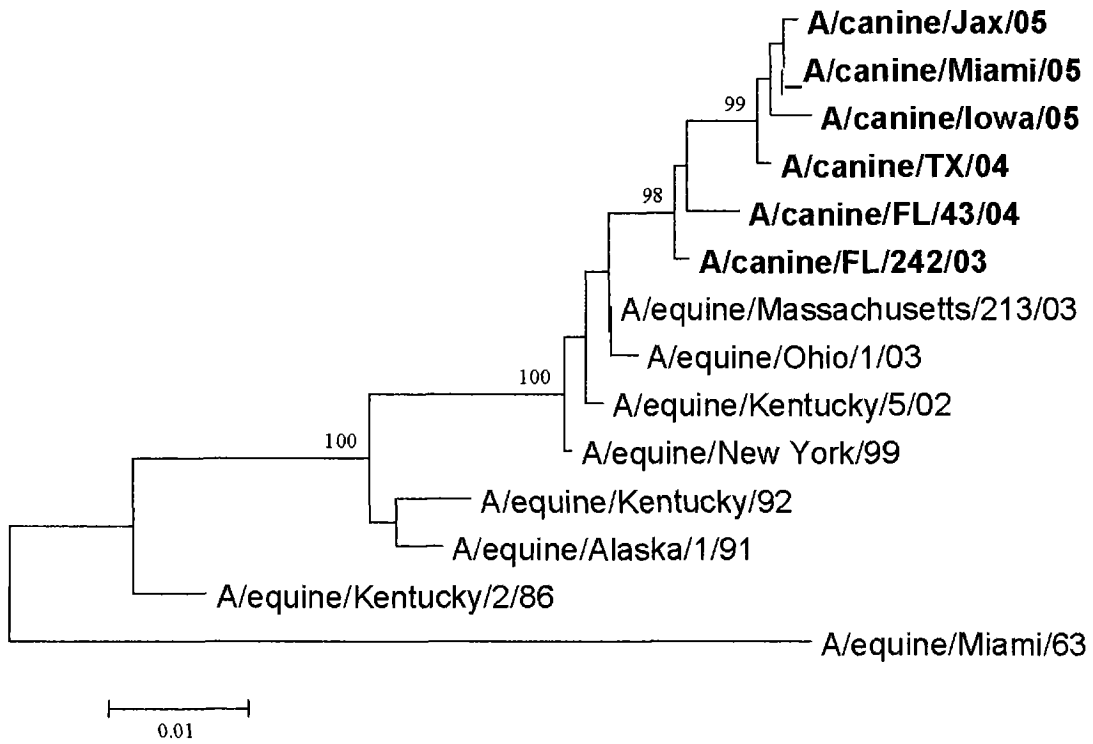


图 4A

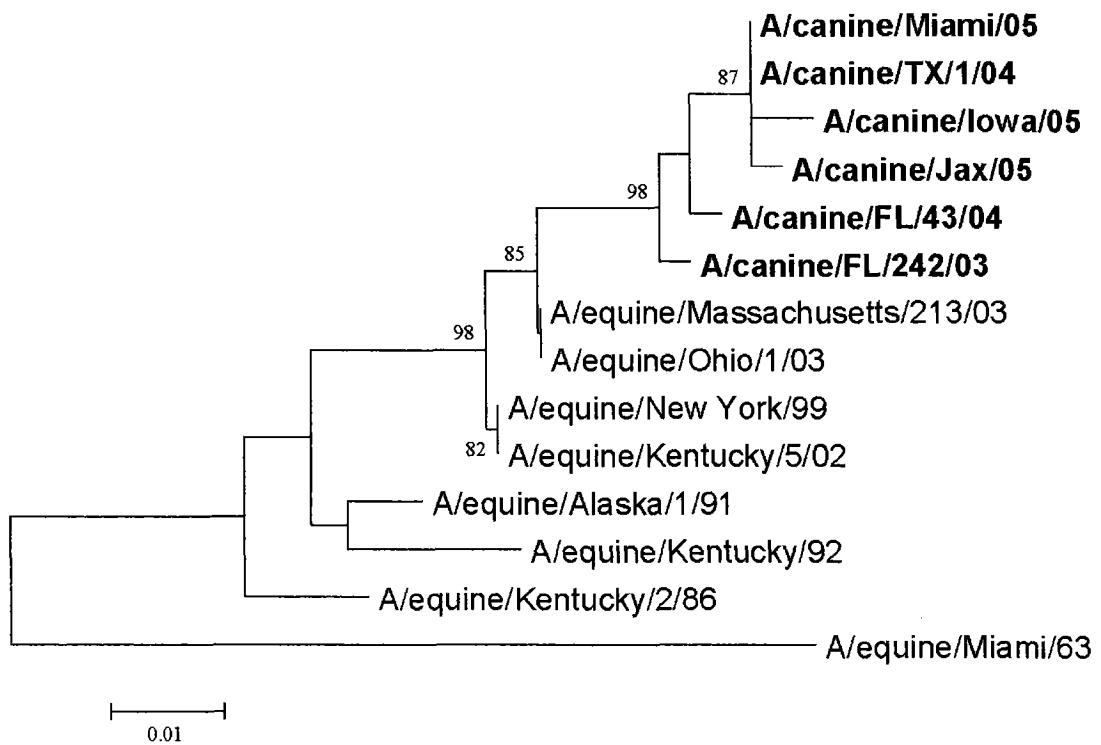


图 4B

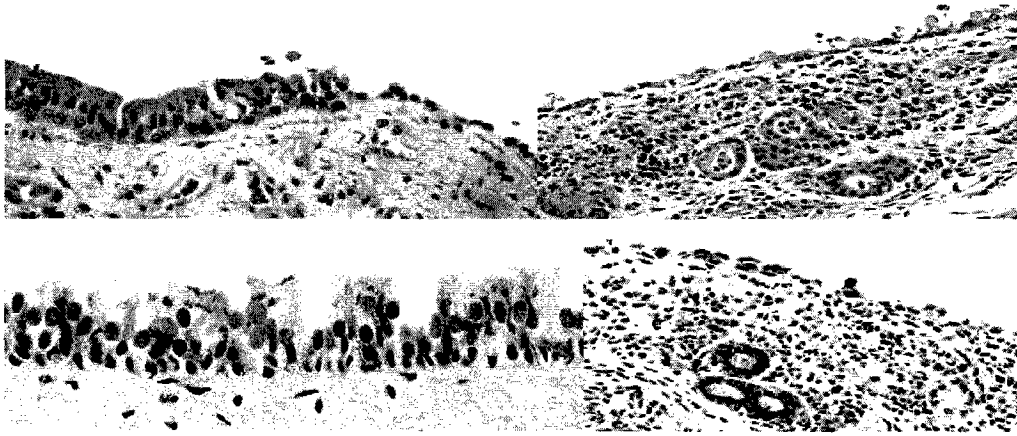


图 5

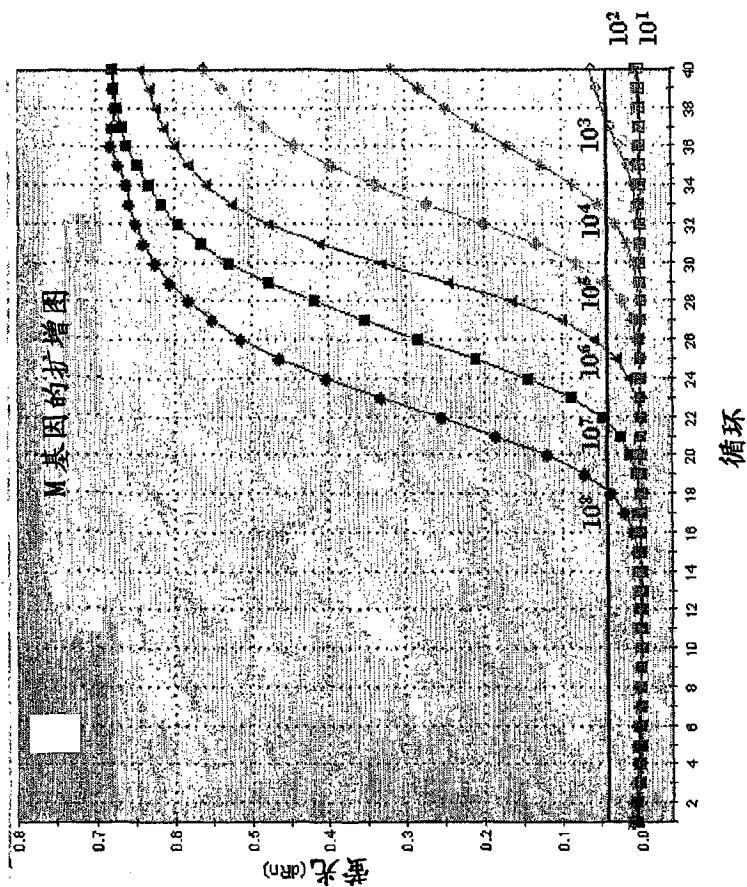
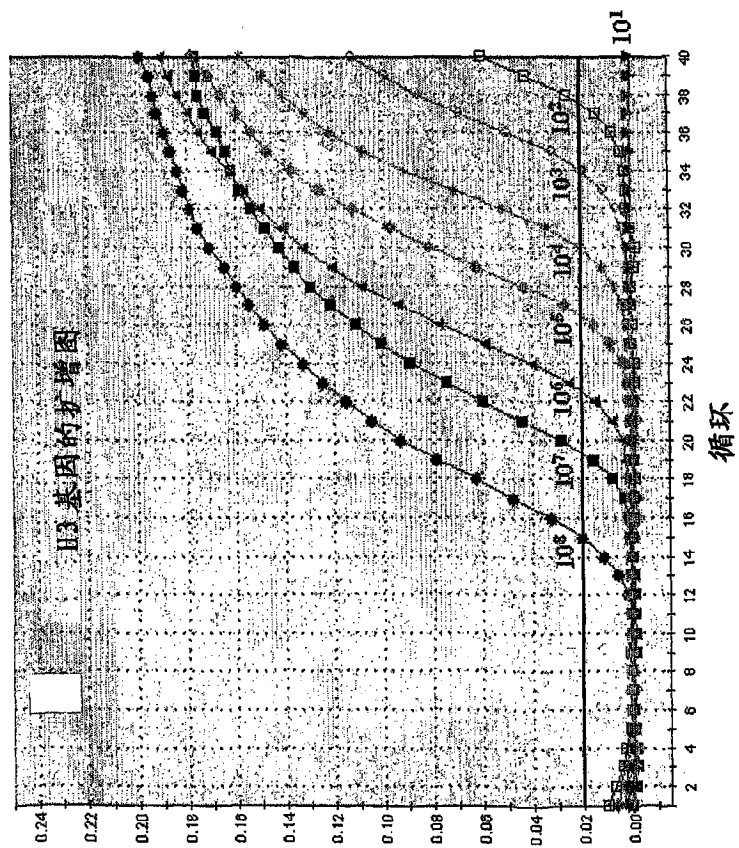


图 6B



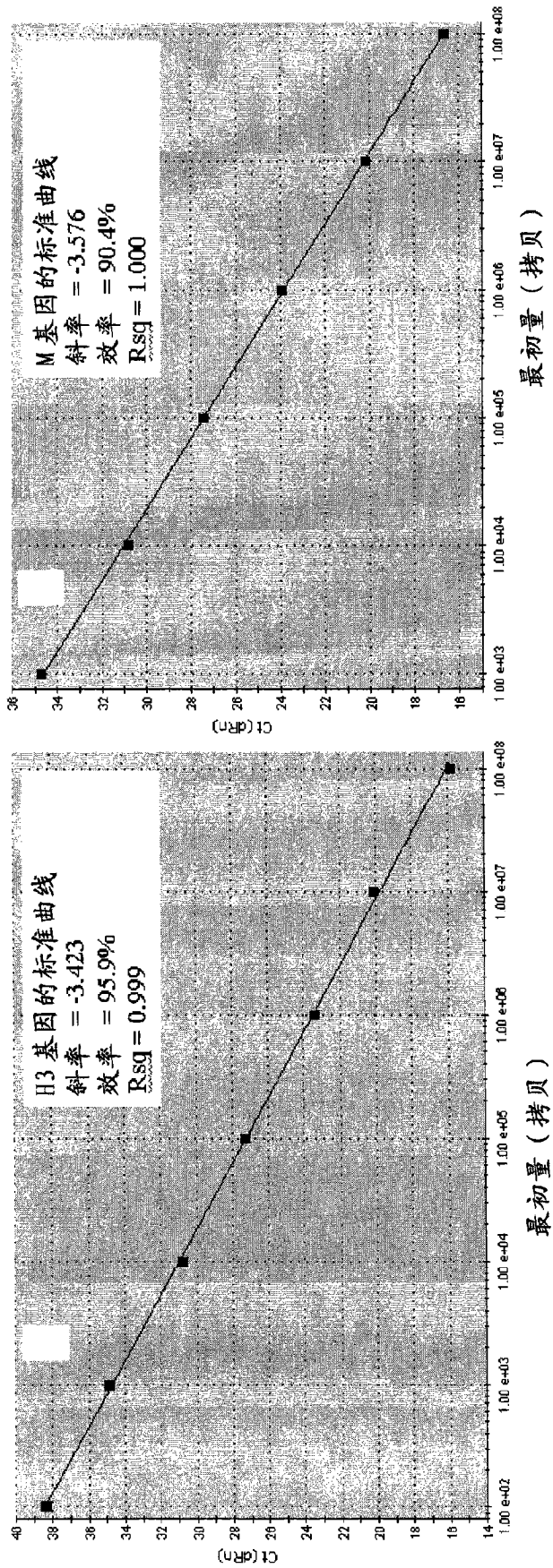


图 6C

图 6D

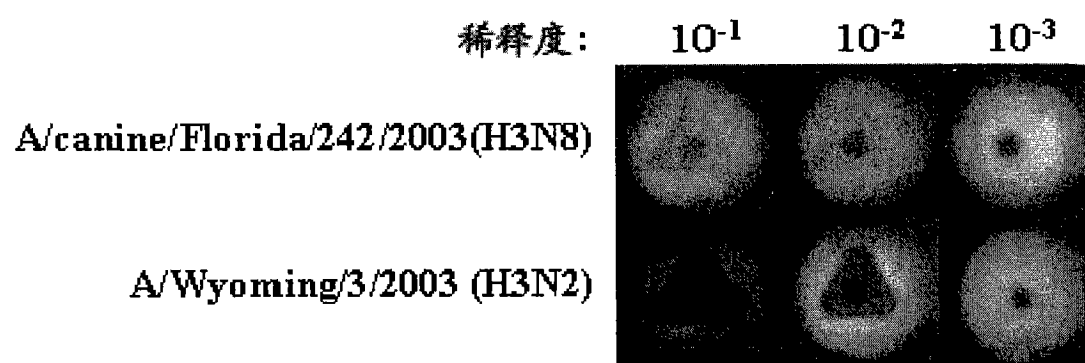


图 7