



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년06월08일
 (11) 등록번호 10-1738940
 (24) 등록일자 2017년05월17일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/145 (2006.01) *A61K 38/16* (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01) *A61K 48/00* (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/145 (2013.01)
A61K 38/16 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7015702(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2006년04월21일
 심사청구일자 2015년07월09일
- (85) 번역문제출일자 2015년06월12일
- (65) 공개번호 10-2015-0082628
- (43) 공개일자 2015년07월15일
- (62) 원출원 특허 10-2014-7017285
 원출원일자(국제) 2006년04월21일
 심사청구일자 2014년06월23일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2006/015090
- (87) 국제공개번호 WO 2006/116082
 국제공개일자 2006년11월02일
- (30) 우선권주장
 60/673,443 2005년04월21일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
 The detectives, CORNELL VETERINARY MEDICINE
 NEWSLETTER(2014.12.31.)*
 WO2001060849 A2*
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
 더 거버먼트 오브 더 유나이티드 스테이츠 오브
 아메리카, 애즈 레프리젠티드 바이 더 세크러테
 리, 디파트먼트 오브 헬스 앤드 휴먼 서비스즈,
 센터스 포 디지즈 컨트롤 앤드 프리벤션
 미국 조지아 30341 아틀란타 엠에스 케이-79 부포
 드 하이웨이 4770 테크놀로지 트랜스퍼 오피스
 유니버시티 오브 플로리다 리서치 파운데이션, 인
 크.
 미국 32611-5500 플로리다 가이네스빌 그린터 홀
 223
 코넬 리서치 화운데이션, 인크.
 미국, 14850 뉴욕, 이타카, 수트 105, 쏘우드 드
 라이브 20
- (72) 발명자
 크로우포드, 패티, 씨.
 미국, 플로리다 32607, 게인스빌, 놀스웨스트 79
 번 드라이브 210
 깁스, 폴, 제이.
 미국, 플로리다 32605, 게인스빌, 놀스웨스트 80
 번 플레이스 3650
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인
 허용록

전체 청구항 수 : 총 25 항

심사관 : 김정태

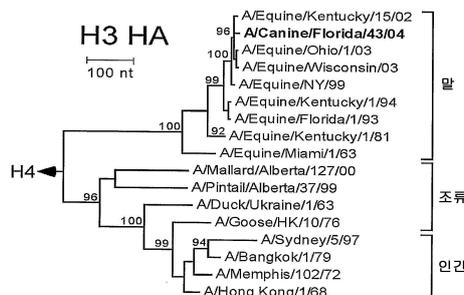
(54) 발명의 명칭 개과 동물의 호흡기 질병 조절을 위한 물질 및 방법들

(57) 요약

본 발명은 개과 동물들을 감염시키고 상기 개과 동물에 호흡기 질병을 야기시킬 수 있는 분리된 인플루엔자 바이러스에 관한 것이다. 본 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스에 대한 면역 반응을 유도하는 조성물 및 방법들에 관한 것이기도 하다. 본 발명은 본 발명의 바이러스를 확인하고 본 발명의 바이러스를 지닌 동물의 감염을 진

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1a



단하는 조성물 및 방법들에 관한 것이기도 하다.

(52) CPC특허분류

A61K 39/12 (2013.01)

A61K 48/00 (2013.01)

C12N 7/00 (2013.01)

C12N 2760/16111 (2013.01)

(72) 발명자

두보비, 에드워드, 제이.

미국, 뉴욕 14850-1087, 이타카, 첼시스 워크 33

도니스, 로벤, 오.

미국, 조지아 30307, 아틀란타, 애모리 드라이브
놀스이스트 429

캣즈, 자쿠라인

미국, 조지아 30307, 아틀란타, 하덴도프 에베뉴
놀스이스트 447

클리모브, 알렉산더, 아이.

미국, 조지아 30345, 아틀란타, 엠블우드 코트
3197

콕스, 낸시, 제이.

미국, 조지아 30307, 아틀란타, 오크데일 로드 857

캐스틀맨, 윌리엄, 엘.

미국, 플로리다 32608, 게인스빌, 사우스웨스트 7
7번 스트리트 4330

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 또는 33으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 바이러스 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드, 또는 그의 기능적 단편; 또는 서열번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 또는 33으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 또는 그의 기능적 단편을 암호화하는 폴리뉴클레오티드; 또는 상기 바이러스 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 개과 인플루엔자 바이러스; 또는 재조합 바이러스 벡터 또는 폴리뉴클레오티드 벡터를 포함하는 백신 조성물에 있어서,

상기 벡터는 서열번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 또는 33으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드, 또는 그의 기능적 단편을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 백신 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 조성물은 무세포 전 바이러스(cell-free whole virus), 또는 그의 일부; 또는 바이러스 감염된 세포를 포함하는 것을 특징으로 하는 백신 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 벡터 또는 상기 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 또는 15로 표시되는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 백신 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 재조합 바이러스 벡터는 아데노바이러스, 아비폭스(avipox), 헤르페스바이러스(herpesvirus), 백신니아(vaccinia) 바이러스, 카나리아폭스(canarypox), 엔토모폭스(entomopox), 돈두(swinepox) 또는 웨스트 나일 바이러스로부터 유래되는 것을 특징으로 하는 백신 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 재조합 바이러스 벡터는 카나리폭스 바이러스 벡터인 것을 특징으로 하는 백신 조성물.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오티드 벡터는 바이러스 벡터인 것을 특징으로 하는 백신 조성물.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 바이러스 단백질, 폴리펩티드, 또는 펩티드는 서열번호: 33으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하며, 이때 상기 단백질, 폴리펩티드, 또는 펩티드는 상기 아미노산 서열의 82번 위치에 세린을, 221번 위치에 류신을, 327번 위치에 트레오닌을, 그리고 482번 위치에 트레오닌을 포함하는 것을 특징으로 하는 백신 조성물.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

상기 개과 인플루엔자 바이러스는 서열번호: 33으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 적혈구응집소(HA) 단백질, 또는 상기 적혈구응집소 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하며, 이때 상기 적혈구응집소 단백질은 상기 아미노산 서열의 82번 위치에 세린을, 221번 위치에 류신을, 327번 위치에 트레오닌을, 그리고 482번 위치에 트레오닌을 포함하는 것을 특징으로 하는 백신 조성물.

청구항 9

제 1 항에 있어서,

상기 백신은 서열번호: 33으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 적혈구응집소(HA) 단백질을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하며, 이때 상기 적혈구응집소 단백질은 상기 아미노산 서열의 82번 위치에 세린을, 221번 위치에 류신을, 327번 위치에 트레오닌을, 그리고 482번 위치에 트레오닌을 포함하는 것을 특징으로 하는 백신 조성물.

청구항 10

삭제

청구항 11

제 1 항에 있어서,

상기 인플루엔자 바이러스는 비활성화(inactivated)되거나 약독화 (attenuated)되는 것을 특징으로 하는 백신 조성물.

청구항 12

제 1 항에 있어서,

약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 백신 조성물.

청구항 13

제 1 항에 있어서,

하나 이상의 보강제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 백신 조성물.

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

개과 동물에서 A형 개과 인플루엔자 바이러스에 대하여 면역 반응을 유도하는 방법에 있어서, 상기 방법은 제 1항 내지 제 9항 및 제 11항 내지 제 13항 중 어느 한 항에 따른 백신 조성물의 유효량을 상기 개과 동물에게 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 개과 동물에서 A형 개과 인플루엔자 바이러스에 대하여 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 21

제 20 항에 있어서,

상기 면역 반응은 인플루엔자 바이러스에 의해 상기 개과 동물의 감염을 예방하거나 억제하는 보호성 면역 반응인 것을 특징으로 하는 개과 동물에서 A형 개과 인플루엔자 바이러스에 대하여 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 22

제 20 항에 있어서,

상기 인플루엔자 바이러스는 H3 및 H5로부터 선택된 HA 혈청형을 가지는 것을 특징으로 하는 개과 동물에서 A형 개과 인플루엔자 바이러스에 대하여 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 23

제 20 항에 있어서,

상기 인플루엔자 바이러스는 혈청형 H3N8을 가지는 것을 특징으로 하는 개과 동물에서 A형 개과 인플루엔자 바이러스에 대하여 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 24

제 20 항에 있어서,

상기 조성물은 보강제(adjuvant)를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 개과 동물에서 A형 개과 인플루엔자 바이러스에 대하여 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 25

제 20 항에 있어서,

상기 개과 동물은 길들여진 개(domesticated dog)인 것을 특징으로 하는 개과 동물에서 A형 개과 인플루엔자 바이러스에 대하여 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 26

제 20 항에 있어서,

상기 조성물은 비경구적으로(parenterally) 투여되는 것을 특징으로 하는 개과 동물에서 A형 개과 인플루엔자 바이러스에 대하여 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 27

제 20 항에 있어서,

상기 조성물은 피하(subcutaneously), 정맥내(intravenously), 복강내(intraperitoneally), 근육내(intramuscularly), 비강내(nasally), 또는 구강내(orally)로 투여되는 것을 특징으로 하는 개과 동물에서 A형 개과 인플루엔자 바이러스에 대하여 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 28

서열번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 또는 33으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 바이러스 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드, 또는 그의 기능적 단편; 또는 서열번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 또는 33으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 또는 그의 기능적 단편을 암호화하는 폴리뉴클레오티드; 또는 상기 바이러스 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 개과 인플루엔자 바이러스; 또는 재조

합 바이러스 벡터 또는 폴리뉴클레오티드 벡터를 포함하는 면역원성 조성물로서,

상기 벡터는 서열번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 또는 33으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드, 또는 그의 기능적 단편을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 면역원성 조성물.

청구항 29

제 28항에 있어서, 상기 면역원성 조성물은 무세포 전 바이러스(cell-free whole virus), 또는 바이러스 감염된 세포를 포함하는 것을 특징으로 하는, 면역원성 조성물.

청구항 30

제 28항에 있어서, 상기 면역원성 조성물은 보강제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 면역원성 조성물.

청구항 31

제 28항에 있어서, 상기 개과 인플루엔자 바이러스는 서열번호: 33으로 표시되는 아미노산 서열을 포함하는 적혈구응집소(HA) 단백질을 포함하며, 상기 적혈구응집소 단백질은 상기 아미노산 서열의 82번 위치에 세린을, 221번 위치에 류신을, 327번 위치에 트레오닌을, 그리고 482번 위치에 트레오닌을 포함하는 것을 특징으로 하는, 면역원성 조성물.

청구항 32

개과 동물에서 A형 개과 인플루엔자 바이러스에 대하여 면역 반응을 유도하는 방법에 있어서, 상기 방법은 제 28항 내지 제 31항 중 어느 한 항에 따른 면역원성 조성물의 유효량을 상기 개과 동물에게 투여하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는, 개과 동물에서 A형 개과 인플루엔자 바이러스에 대하여 면역 반응을 유도하는 방법.

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] [관련 출원의 상호 참조]

[0002] 본 출원은 2005년 4월 21에 출원된 미합중국 임시 출원 일련 번호 60/673,443호의 우선권을 갖으며, 모든 수치, 표, 핵산 서열, 아미노산 서열 및 도면들을 포함하여 그대로 여기에 참조로 포함된다.

배경 기술

[0003] [본 발명의 배경]

[0004] "개 기관지염(kennel cough)" 또는 전염성 기관기관지염(infectious tracheobronchitis: ITB)은 주로 기침에 의해 특징되는 개의 급성, 전염성 호흡기 감염이다(Ford *et al.*, 1998). 개과 기관지염은 전세계적으로 가장 널리 퍼진 개의 전염성 호흡기 질병들 중 하나로 여겨지고, 발병하면 개들이 사육장과 같은 고밀집 개체 환경에 수용시에 풍토병 수준에 이를 수 있다. 대부분의 발병은 호흡기 분비물이 직접적인 1:1(dog-to-dog) 접촉에 의하거나 분무주입(aerosolization)에 기인한 것이다(Ford *et al.*, 1998). 임상 징후는 상기도 및 하기도의 상피(epithelium)에 박테리아 및 바이러스 작용체(viral agent)들 중 하나 또는 그 조합으로 감염에 의해 초래된다. 개과 파라인플루엔자 바이러스(CPiV) 및 보르데텔라속 브론치셉티카(Bordetella bronchiseptica) 박테리아는 감염된 개들로부터 분리시킨 가장 흔한 유기체들이지만, 연쇄상구균, 파스튜렐라균 및 대장균과 같은 박테리아와 함께 개 디스토펜퍼 바이러스(canine distemper virus: CDV), 개 아데노바이러스-1 및 -2(canine adenoviruses-1 and -2: CAV-1, CAV-2)와 같은 다수의 다른 바이러스들이 임상경과 및 결과에 영향을 미칠 수 있다(Ford *et al.*, 1998). 발병은 높은 이병률(morbidity)을 지닌 고밀도 개체군에서 매우 효과적으로 급속히 생기는 반면에, 호흡기 합병 감염 및 사망은 흔하지 않다. 생명을 위협하는 2차 세균성 폐렴으로 발전할 수 있지만, 대부분의 ITB 증세는 자기 제한적(self-limiting)이며 어떠한 치료 없이도 해결된다(Ford *et al.*, 1998).

[0005] 1992년 7월에, "개 기관지염"으로 추정된 호흡기 감염은 뉴 잉글랜드(New England), 플로리다(Florida), 웨스트 버지니아(West Virginia), 위스콘신(Wisconsin), 캔자스(Kansas), 콜로라도(Colorado), 오클라호마(Oklahoma) 및 아리조나(Arizona) 주의 몇몇 그레이하운드 경주장에서 유행하게 되었다. 수의사들에 따르면, 병에 걸린 개들 대부분은 경미한 기침을 앓아서 해결되었지만, 수십 마리 이상의 그레이하운드들은 급성 출혈성 폐렴으로 발전하여 급사하게 되었다(Greyhound Daily News, 1999).

[0006] 1998년 말에서 1999년 초에, 전국에 걸친 그레이하운드 경주 사육장에서 발생한 "개 기관지염"의 몇몇 발병 사례들로 인해 미국에서 수주 동안 경주장의 강제 폐쇄(mandatory closure) 및 모든 경주용 그레이하운드들의 격리 조치로 이어졌다(Greyhound Daily News, 1999). 플로리다 주의 한 경주장(Palm Beach Kennel Club)에서, 단 하루에만 개 개체군의 거의 40 %가 기침을 한 것으로 기록되었다(Personal communication from Dr. William Duggar). 1992년의 발병과 유사하게, 기침은 대부분의 그레이하운드들에게서는 해결되었지만, 플로리다에서 10 마리의 개들이 "개 기관지염"의 특징이 없는 출혈성 폐렴 증후군(hemorrhagic pneumonia syndrome)으로 죽었다(Putnam, 1999).

[0007] 2003년 3월-4월에, 또 다른 "개 기관지염" 발병 사례가 미국 동부의 그레이하운드 경주장들에서 발생하였다. 상기 발병은 플로리다 주 소재 4개 경주장의 사육장에서 기원했다고 믿어지며 거의 3 주 동안 경주가 중단되었고 개들을 격리하게 되었다. 웨스트 팜 비치(West Palm Beach)의 경주장에 있는 개들의 거의 25 %는 병을 앓게 되었고 세인트 피터스버그(St. Petersburg)의 더비 레인(Derby Lane)에서 1400 마리의 개들 중 거의 50 %가 기침으로 발전하였다. 다시 대부분의 개들이 회복되었지만, 몇몇 개들은 호흡기 감염으로 죽었다. 더비 레인 경주장 한 군데에서만 호흡기 발병으로 추산되는 경제적 손실은 2백만 달러였다.

[0008] 1992년, 1998년-1999년, 또는 2003년에 경주용 그레이하운드 사육장들에서 "개 기관지염" 병인 또는 임상병리학을 기록한 출간된 보고서들은 없다. 상기 감염은 개 기관지염의 가장 흔한 2 가지 원인인 개과 파라인플루엔자 바이러스(CPiV) 및 보르데텔라속 브론치셉티카(Bordetella bronchiseptica)에 기인한 것이었다고 추측하고

있다. 웹 사이트들과 같은 입증되지 않은 통신 매체들은 몇몇 기침하는 개들에서 보고된 치명적인 출혈성 폐렴 사례들을 베타-용혈성(β -hemolytic) *Streptococcus equi* 아종 *zooepidemicus*에 의한 감염으로 원인을 돌리고 있으며, 그러한 증후군을 가리켜 "개 연쇄상구균 독성 충격(canine streptococcal toxic shock)"이라고 칭한다.

[0009] 한 숙주로부터 다른 숙주로의 바이러스 전염은 인플루엔자 바이러스의 환경과 역학의 중요한 특징이다(Webster, 1998). 인플루엔자 바이러스의 종간 전염(interspecies transmission)의 2 가지 기본적인 메커니즘이 가능하다(Webster *et al.*, 1992; Lipatov *et al.*, 2004). 한 가지는 근본적으로 변하지않은 바이러스가 한 종(species)으로부터 다른 종으로 직접 전염되는 것이다. 이러한 메커니즘의 예들은 조류 인플루엔자 바이러스의 H5N1 아형(subtype)에 의한 최근의 인간 감염 사례들(Subbarao *et al.*, 1998; Peiris *et al.*, 2004; Guan *et al.*, 2004) 및 아마도 스페인 독감으로 알려진 1918년의 전세계적인 유행병을 포함한다.

[0010] 다른 종들로부터 온 바이러스들로 숙주를 동시에 감염시키면(co-infection) 세그먼트된 바이러스 유전자의 재조합(reassortment) 및 다른 종들을 감염시키는 능력을 지닌 재조합체(recombinant)의 발생할 가능성이 있다. 예를 들어, 조류 및 인간 인플루엔자 바이러스들 사이의 유전자 재조합에 의해 발생된 신규한 바이러스들은 1957년과 1968년에 세계적인 인간 인플루엔자 유행병을 일으켰다(Webster *et al.*, 1992; Lipatov *et al.*, 2004; Kawaoka *et al.*, 1989).

[0011] 대부분의 경우인 변하지 않은 바이러스들이 자연적인 숙주 종으로부터 다른 종들의 직접적인 전염은 새로운 종의 개체들 사이에 지속적인(sustained) 전염이 일어나지 않기 때문에 최종 단계(terminal event)이다. 다양한 바이러스-숙주 상호작용들은 복제 및 수평 전염(horizontal transmission)에 필요하며, 새로운 숙주에서의 인플루엔자 바이러스들의 영속화(perpetuation)에 가공할만한 장애를 제공한다(Webby *et al.*, 1992; Lipatov *et al.*, 2004). 따라서, 인플루엔자 바이러스의 새로운 숙주-특이적 혈통을 정착시키기가 흔한 경우가 아니며 단지 가끔, 양돈, 말 및 인간에게서만 발생하여 왔다(Webster *et al.*, 1992; Lipatov *et al.*, 2004).

[0012] 인플루엔자 바이러스 감염의 심각한 특성 때문에, 인플루엔자 바이러스에 의한 감염의 진단, 예방 및 치료의 방법에 대한 요구가 존재한다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

[0013] [본 발명의 간단한 요약]

[0014] 본 발명은 개과 동물을 감염시키고 개과 동물의 호흡기 질병을 발생시킬 수 있는 분리된(isolated) 인플루엔자 바이러스에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스에 대한 면역 반응을 유도하는 조성물 및 방법들에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 발명의 바이러스를 확인하고 발명의 바이러스로 동물 감염을 진단하는 조성물 및 방법들에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0015] 특허 또는 출원 파일은 칼리로 처리된 적어도 하나의 도면을 포함한다. 칼라 도면들과 함께 본 특허 또는 특허 출원 간행물의 사본들은 요청이 있을 시에 필요한 수수료를 지불하면 특허청(Patent Office)에 의해 제공될 것이다.

도 1A-도 1B는 적혈구응집소(hemagglutinin) 유전자들 사이의 계통발생적(phylogenetic) 관계들을 보여준다. **도 1A**는 A/Budgerigar/Hokkaido/1/77(H4)를 외군(outgroup)으로 포함하여 대표적인 개, 인간, 조류, 돼지 및 말 분리군들로부터 나온 HA 유전자들의 트리(tree)를 도시한다. **도 1B**는 A/Duck/Ukraine/63(H3)를 외군으로 이용하여 현대 및 오래 전 말 HA 유전자들을 지닌 개 인플루엔자 바이러스 HA 유전자들의 트리를 도시한다. 계통발생 트리들은 이웃 접속 방법(neighbor joining method)에 의한 뉴클레오티드 서열들로부터 추론 되었고 90 % 이상인 부트스트랩(bootstrap) 분석 수치가 도시된다. 상기 바(bar)는 수평 트리 가지들의 단위 길이 당 뉴클레오티드 변화들의 숫자를 나타낸다.

도 2A-도 2B는 폐에서의 인플루엔자 H3 항원의 면역조직화학적(immunohistochemical) 검출을 도시한다. 폐 조직 단면들을 마우스 단일 클론성 항체로 H3 적혈구항응집소에 탐침으로 검사하였고 결합되어 있음(binding)을 면역 과산화효소(immunoperoxidase) 반응에 의해 검출되었다(갈색 침전). **도 2A**는 자발성 질병(spontaneous disease)을 지닌 그레이하운드로부터 나온 기관지 상피(bronchial epithelium)를 도시한다. 바이러스 H3 항원이

기관지 상피 세포 세포질에서 검출되었다. 도 2B는 A/canine/Florida/43/04 (H3N8) 접종 후 5일 된 개로부터 얻은 기관지 상피를 보여준다. 스케일 바(scale bar), 66 μm .

도 3은 인플루엔자 바이러스 감염과 관련된 출혈성 폐렴으로 죽은 그레이하운드들의 기관지들에서의 특징적인 조직학적인 변화들을 도시한다. 상기 조직들은 H&E로 염색된다. 상부 패널: 섬모 세포(ciliated cell), 점액성 세포(mucous cell) 및 기저 세포(basal cell)들을 지닌 정상 기관지. 하부 패널: 자발성 인플루엔자를 지닌 그레이하운드로부터 나온 기관지. 스케일 바, 100 μm .

도 4A-도 4B는 H3 항적혈구응집소 유전자들 사이의 계통발생적인 관계들을 도시한다. 도 4A는 현대 및 오래 전 말 HA 유전자들을 지닌 개 인플루엔자 바이러스 HA 유전자들의 계통발생 트리를 도시한다. 도 4B는 현대 및 오래 전 말 HA를 지닌 인플루엔자 바이러스 HA 단백질의 계통발생 트리를 보여준다. 계통발생 트리는 이웃 접속 방법(neighbor joining method)에 의한 유전자 또는 아미노산 서열들로부터 추론 되었고 80 % 이상인 부트스트랩(bootstrap) 분석 수치가 도시된다. 상기 바(bar)는 수평 트리 가지들의 단위 길이 당 아미노산 변화들의 숫자를 나타낸다.

도 5는 인플루엔자 바이러스 감염과 관련된 폐렴으로 죽은 개들의 폐에 있는 기관지들 및 기관지샘들(bronchial glands)의 상피 세포들에서의 인플루엔자 바이러스 H3 단백질을 도시한다. 상부 패널들: 기관지들에서의 섬모성 기관지 상피 세포들의 미란. 상기 조직들은 H&E로 염색된다. 하부 패널들: 기관지(왼쪽) 및 기관지샘(오른쪽) 상피 세포들의 세포질에서의 인플루엔자 바이러스 H3 단백질. 조직들은 면역과산화효소(immunoperoxidase) 반응에 의해 검출(갈색 침전)되고 헤마톡실린(hematoxylin)으로 대비염색된(counterstained) 인플루엔자 H3에 대한 단일 클론성 항체로 염색되었다.

도 6A-도 6D는 10-배 연속으로 희석된 생체 내 전사된 RNA 표준들의 증폭으로부터 구해진 H3 및 매트릭스(Matrix) 유전자들의 증폭 플롯(amplification plot)들을 도시한다. H3 및 매트릭스 유전자들(**도 6C 및 도 6D**)의 표준 커브들은 각각을 희석하여 구해진 역치 사이클(threshold cycle, Ct)에 대한 시작 RNA 농도들의 로그 값을 플로팅하여 그려졌다.

도 7은 A/Wyoming/3/2003 및 A/canine/FL/242/2003을 포함하는 10-배 연속 희석 바이러스 스탁(stock)들로 Directigen Flu A의 감도가 시험되었음을 도시한다. 자잘빛 삼각형은 결과가 양성임을 나타낸다.

[서열의 간단한 설명]

서열 ID 번호: 1은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 PB2 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(Florida/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 2는 서열 ID 번호:1에 의해 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 3은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 PB1 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(Florida/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 4는 SEQ ID: 3에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 5는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 PA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(Florida/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 6은 SEQ ID: 5에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 7은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 NS 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(Florida/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 8은 SEQ ID: 7에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 9는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 NP 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(Florida/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 10은 SEQ ID: 9에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 11은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 NA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(Florida/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 12는 SEQ ID: 11에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 13은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 MA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Florida/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 14은 SEQ ID: 13에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 15은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 HA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Florida/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 16은 SEQ ID: 15에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 17은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 PB2 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 18은 SEQ ID: 17에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 19은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 PB1 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 20은 SEQ ID: 19에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 21은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 PA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 22은 SEQ ID: 21에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 23은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 NS 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 24은 SEQ ID: 23에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 25은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 NP 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 26은 SEQ ID: 25에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 27은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 NA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 28은 SEQ ID: 27에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 29은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 MA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 30은 SEQ ID: 29에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 31은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 HA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 32은 SEQ ID: 31에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 33은 상기 N-터미널 16 아미노산 신호 서열이 제거된 서열 ID 번호: 16에서 도시된 HA 단백질의 성숙한 형태(mature form)이다.

서열 ID 번호: 34는 상기 N-터미널 16 아미노산 신호 서열이 제거된 서열 ID 번호: 32에서 도시된 HA 단백질의 성숙한 형태이다.

서열 ID 번호: 35은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

서열 ID 번호: 36은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

서열 ID 번호: 37은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

서열 ID 번호: 38은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

서열 ID 번호: 39은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

- 서열 ID 번호: 41은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- 서열 ID 번호: 42는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- 서열 ID 번호: 43은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- 서열 ID 번호: 44는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- 서열 ID 번호: 45는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- 서열 ID 번호: 46은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- 서열 ID 번호: 47은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 PB2 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Miami/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- 서열 ID 번호: 48은 서열 ID 번호: 47에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.
- 서열 ID 번호: 49는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 PB1 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Miami/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- 서열 ID 번호: 50은 서열 ID 번호: 49에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.
- 서열 ID 번호: 51은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 PA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Miami/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- 서열 ID 번호: 52는 서열 ID 번호: 51에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.
- 서열 ID 번호: 53은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 NS 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Miami/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- 서열 ID 번호: 54는 서열 ID 번호: 53에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.
- 서열 ID 번호: 55는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 NP 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Miami/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- 서열 ID 번호: 56은 서열 ID 번호: 55에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.
- 서열 ID 번호: 57은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 NA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Miami/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- 서열 ID 번호: 58은 서열 ID 번호: 57에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.
- 서열 ID 번호: 59는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 MA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Miami/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- 서열 ID 번호: 60은 서열 ID 번호: 59에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.
- 서열 ID 번호: 61은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 HA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Miami/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- 서열 ID 번호: 62는 서열 ID 번호: 61에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.
- 서열 ID 번호: 63은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 PB2 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Jacksonville/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- 서열 ID 번호: 64는 서열 ID 번호: 63에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.
- 서열 ID 번호: 65는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 PB1 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Jacksonville/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- 서열 ID 번호: 66은 서열 ID 번호: 65에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.
- 서열 ID 번호: 67은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 PA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Jacksonville/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- 서열 ID 번호: 68은 서열 ID 번호: 67에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 69는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 NS 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Jacksonville/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 70은 서열 ID 번호: 69에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 71은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 NP 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Jacksonville/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 72는 서열 ID 번호: 71에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 73은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 NA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Jacksonville/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 74는 서열 ID 번호: 73에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 75은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 MA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Jacksonville/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 76은 서열 ID 번호: 75에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 77은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 HA 단백질을 인코딩하는 개 인플루엔자 바이러스 (Jacksonville/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.

서열 ID 번호: 78은 서열 ID 번호: 77에 의하여 인코딩되는 아미노산 서열이다.

서열 ID 번호: 79는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

서열 ID 번호: 80은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

서열 ID 번호: 81은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

서열 ID 번호: 82는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

서열 ID 번호: 83은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

서열 ID 번호: 84는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

서열 ID 번호: 85는 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

서열 ID 번호: 86은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

서열 ID 번호: 87은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

서열 ID 번호: 88은 본 발명에 의하여 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 본 발명은 개를 감염시키고 호흡기 질병을 야기할 수 있는 분리된 인플루엔자 바이러스에 관한 것이다. 일 실시예에서, 본 발명의 인플루엔자 바이러스는 서열 ID 번호: 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, 또는 78 중 어느 하나에서 나타낸 아미노산 서열을 가지는 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 또는 그 기능성 및/또는 면역원성 단편이나 그 변형체를 포함한다. 구체적인 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 서열 ID 번호: 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, 또는 77 중 어느 하나에서 나타낸 뉴클레오티드 서열 또는 그 단편이나 변형체를 포함한다. 구체적인 일 실시예에서, 본 발명의 인플루엔자 바이러스는 아형 H3이다. 여기에 설명된 방법들에 의하여 감염된 개들로부터 바이러스를 분리하고 세포 또는 배아에서 배양될 수 있다. 대표적인 일 실시예에서, 상기 인플루엔자 바이러스는 인플루엔자 A 바이러스이다.

[0017] 또한, 본 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 유전자 또는 유전자들 또는 게놈의 세그먼트의 전부 또는 일부를 포함하는 폴리뉴클레오티드들에 관한 것이다. 일 실시예에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 인플루엔자 적혈구응집소(influenza hemagglutinin: HA) 유전자, 뉴라미니다제(neuraminidase: NA) 유전자, 핵단백질(nucleoprotein: NP) 유전자, 매트릭스 단백질(matrix protein: MA or M) 유전자, 중합효소 염기성(polymerase basic: PB) 단백질 유전자, 중합효소 산성(polymerase acidic: PA) 단백질 유전자, 비구조성(non-structural:

NS) 단백질 유전자, 또는 이러한 유전자들 중 어느 하나의 기능성 단편 또는 변형체를 포함한다. 구체적인 일 실시예에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 적혈구응집소 유전자, 또는 그 기능성 단편 또는 변형체를 포함한다. 다른 일 실시예에서, 상기 적혈구응집소 유전자는 하기의 하나 이상을 가지는 적혈구응집소 단백질을 인코딩한다: 말의 H3 일치 서열(consensus sequence)의 아미노산 서열에 대해(versus) 83 위치에서의 세린(serine); 222 위치에서의 류신(leucine); 328 위치에서의 트레오닌(threonine); 및/또는 483 위치에서의 트레오닌. 일 실시예에서, 상기 적혈구응집소 유전자는 서열 ID 번호: 16, 32, 62 또는 78에서 보인 아미노산 서열 또는 그 기능성 및/또는 면역원성 단편 또는 변형체를 가진 폴리펩티드를 인코딩한다. 구체적인 일 실시예에서, 상기 적혈구응집소 유전자는 서열 ID 번호: 15, 31, 61 또는 77에서 나타난 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0018] 일 실시예에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 서열 ID 번호: 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 또는 78 중 어느 하나에서 나타난 아미노산 서열 또는 그 기능성 및/또는 면역원성 단편 또는 변형체를 가진 폴리펩티드를 인코딩한다. 구체적인 일 실시예에서, 서열 ID 번호: 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 또는 78에서 보인 아미노산 서열을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드는 서열 ID 번호: 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 또는 77 각각을 또는 서열 ID 번호: 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, 또는 78 중 어느 하나의 기능성 및/또는 면역원성 단편 또는 변형체를 인코딩하는 서열을 포함한다. 따라서, 본 발명은 서열 ID 번호: 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, 또는 77 중 어느 하나의 퇴화 변형체(degenerate variant)를 포함하는 서열 ID 번호: 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, 또는 77에서 보인 뉴클레오티드 서열 또는 단편 또는 변형체를 포함하는 폴리뉴클레오티드 서열들에 관한 것이다. 또 다른 구체적인 일 실시예에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 하기를 포함할 수 있다: 서열 ID 번호: 3의 뉴클레오티드들 1-2271; 서열 ID 번호: 5의 뉴클레오티드들 1-2148; SEQ ID NO: 7의 뉴클레오티드들 1-657; SEQ ID: 9의 뉴클레오티드들 1-1494; 서열 ID 번호: 11의 뉴클레오티드들 1-1410; 서열 ID 번호: 13의 뉴클레오티드들 1-756; SEQ ID: 15의 뉴클레오티드들 1-1695; 서열 ID 번호: 19의 뉴클레오티드들 1-2271; 서열 ID 번호: 21의 뉴클레오티드들 1-2148; 서열 ID 번호: 23의 뉴클레오티드들 1-657; 서열 ID 번호: 25의 뉴클레오티드들 1-1494; 서열 ID 번호: 29의 뉴클레오티드들 1-756; SEQ ID: 31의 뉴클레오티드들 1-1695; 서열 ID 번호: 47의 뉴클레오티드들 1-2277; 서열 ID 번호: 49의 뉴클레오티드들 1-2271; 서열 ID 번호: 51의 뉴클레오티드들 1-2148; 서열 ID 번호: 53의 뉴클레오티드들 1-690; 서열 ID 번호: 55의 뉴클레오티드들 1-1494; 서열 ID 번호: 57의 뉴클레오티드들 1-1410; 서열 ID 번호: 59의 뉴클레오티드들 1-756; 서열 ID 번호: 61의 뉴클레오티드들 1-1695; 서열 ID 번호: 63의 뉴클레오티드들 1-2277; 서열 ID 번호: 65의 뉴클레오티드들 1-2271; 서열 ID 번호: 67의 뉴클레오티드들 1-2148; 서열 ID 번호: 69의 뉴클레오티드들 1-690; 서열 ID 번호: 71의 뉴클레오티드들 1-1494; 서열 ID 번호: 73의 뉴클레오티드들 1-1410; 서열 ID 번호: 75의 뉴클레오티드들 1-756; 및 서열 ID 번호: 77의 뉴클레오티드들 1-1695. 본 발명의 범위 내에서 의도된 바이러스 폴리뉴클레오티드 및 폴리펩티드 서열들의 뉴클레오티드 및 아미노산 서열들은 유전자은행에 등록 번호들 DQ124147에서 DQ124161 및 DQ124190로 기탁되었으며, 이의 개시는 여기에 참조로 포함된다.

[0019] 또한, 본 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 폴리뉴클레오티드들에 의해 인코딩되는 폴리펩티드들에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 본 발명의 기능성 및/또는 면역원성 단편 및 변형체들에 관한 것이다. 의도된 폴리펩티드들은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 적혈구응집소(HA) 단백질, 뉴라미니다제(NA) 단백질, 비구조성(NS) 단백질, 핵단백질, 중합효소 염기성(PB) 단백질, 중합효소 산성(PA) 단백질 및 매트릭스 단백질을 포함한다. 대표적인 일 실시예에서, 본 발명의 폴리펩티드는 서열 ID 번호: 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 또는 78 중 어느 하나에서 나타난 아미노산 서열 또는 그 기능성 및/또는 면역원성 단편 또는 변형체를 포함한다.

[0020] 또한, 본 발명은 본 발명의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 발현 구성체들(expression constructs)에 관한 것이다. 일 실시예에서, 본 발명의 발현 구성체는 서열 ID 번호: 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 또는 78 중 어느 하나에서 나타난 아미노산 서열 또는 그 기능성 및/또는 면역원성 단편 또는 변형체를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 구체적인 일 실시예에서, 서열 ID 번호: 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 또는 78에서 나타낸 아미노산 서열을 인코딩하는 상기 폴리뉴클레오티드는 서열 ID 번호: 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 또는 77 각각에서 보인 뉴클레오티드 서열 또는 서열 ID 번호: 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, 또는 78 중 어느 하나의 기능성 및/또는 번역원성 단편 또는 변형체를 인코딩하는 서열을 포함한다. 따라서, 본 발명은 서열 ID 번호: 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 또는 77 중 어느 하나에서 나타낸 뉴클레오티드 서열 또는 서열 ID 번호: 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 또는 77 중 어느 하나의 퇴화 변형체를 포함한 단편 또는 변형체를 포함하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 구성체들에 관한 것이다. 바람직한 일 실시예에서, 본 발명의 발현 구성체는 본 발명의 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드의 과잉발현(overexpression)을 제공한다.

[0021] 본 발명의 발현 구성체들은 일반적으로 상기 발현 구성체가 발현되는 의도된 숙주 세포에서 기능적인 조절 요소들을 포함한다. 따라서, 당업자는 예를 들어, 인간 숙주 세포, 포유류 숙주 세포, 곤충 숙주 세포, 효모 숙주 세포, 박테리아 숙주 세포 및 식물 숙주 세포들에의 사용 목적을 위한 조절 요소들을 선택할 수 있다. 일 실시예에서, 상기 조절 요소들은 개 세포들에서의 기능적인 요소들이다. 조절 요소들은 프로모터(promoter), 전사 종결 서열, 번역 종결 서열, 엔핸서(enhancer) 및 폴리아데닐화 요소들을 포함한다. 여기에 사용된 바와 같이, "발현 구성체"라는 용어는 작동 가능하게 연결된 핵산 서열의 전사를 제공하는 핵산 서열들의 결합(combination)을 의미한다. 여기에 사용된 바와 같이, "작동 가능하게 연결된"이라는 용어는 상기 설명된 요소들의 근위(juxtaposition)를 의미하며, 상기 요소들은 그 의도된 방식으로 기능하게 하는 관계에 있다. 일반적으로, 작동 가능하게 연결된 요소들은 인접한 관계에 있다.

[0022] 본 발명의 발현 구성체는 본 발명의 폴리펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열에 작동 가능하게 연결된 프로모터 서열을 포함할 수 있다. 프로모터들은 업계에 공지된 표준 기술들을 이용하여 폴리뉴클레오티드에 포함될 수 있다. 프로모터들의 복수의 카피들 또는 복수의 프로모터들은 본 발명의 발현 구성체에 사용될 수 있다. 바람직한 일 실시예에서, 프로모터는 발현 구성체에서 그 자연적인 유전자 환경에서 전사 개시 사이트로부터 떨어진 거리와 상기 발현 구성체에 있는 전사 개시 사이트로부터 떨어진 거리와 대략 동일한 거리에 위치될 수 있다. 이러한 거리에서 약간의 변화는 프로모터 활성에서의 실질적인 감소 없이 허용된다. 전사 개시 사이트는 통상 발현 구성체 내에 포함된다. 바람직하게는, 본 발명의 발현 구성체와 연관된 상기 프로모터는 본 발명의 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드의 과잉발현을 제공한다.

[0023] 진핵 세포들에서 본 발명의 발현 구성체와의 사용 목적을 위한 프로모터들은 바이러스 또는 세포 기시(origin)일 수 있다. 바이러스 프로모터들은 사이토메갈로바이러스(cytomegalovirus: CMV) 유전자 프로모터, SV40 초기 또는 후기 프로모터(early or late promoter) 또는 로우스 육종 바이러스(Rous sarcoma virus: RSV) 유전자 프로모터들을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 세포 기시 프로모터들은 데스민(desmin) 유전자 프로모터 및 액틴 유전자 프로모터를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 효모 세포들에서 본 발명의 발현 구성체와의 사용 목적에 적합한 프로모터들은 3-인산글리세린산염 키나아제(3-phosphoglycerate kinase) 프로모터, 글리세르알데히드-3-인산염 탈수소효소(glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase) 프로모터, 메탈로티오네인(metallothionein) 프로모터, 알코올 탈수소효소-2(alcohol dehydrogenase-2) 프로모터 및 헥소키나아제(hexokinase) 프로모터를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다.

[0024] 상기 발현 구성체가 식물 세포에 제공되거나 도입하고자 하면, 예를 들어, 꽃양배추 모자이크 바이러스(cauliflower mosaic virus: CaMV) 35S(엔핸스된(enhanced) CaMV 35S 프로모터 포함(예를 들어, 미합중국 특허 번호 5,106,739 and An, 1997 참조)) 또는 CaMV 19S 프로모터가 사용될 수 있다. 식물에서 발현 구성체들로 사용될 수 있는 다른 프로모터들은 예를 들어, 프로리페라(prolifera) 프로모터, Ap3 프로모터, 열 충격(heat shock) 프로모터, *A. tumefaciens*의 T-DNA 1'-또는 2'-프로모터, 폴리갈락투로나아제(polygalacturonase) 프로모터, 페추니아(petunia)로부터 나온 칼콘 생성효소(chalcone synthase) A(chalcone synthase A(CHS-A)) 프로모터, 타바코 PR-1a 프로모터, 유비퀴틴(ubiquitin) 프로모터, 액틴 프로모터, alcA 유전자 프로모터, pin2 프로모터(Xu *et al.*, 1993), 옥수수(maize) WipI 프로모터, 옥수수 trpA 유전자 프로모터(미합중국 특허 번호. 5,625,136), 옥수수 CDPK 유전자 프로모터, 루비스코 에스에스유(RUBISCO SSU) 프로모터(미합중국 특허 번호. 5,034,322)도 사용될 수 있다. 미합중국 특허 번호. 6,455,760 또는 미합중국 특허 번호. 6,696,623 또는 간행된 미합중국 특허 출원 번호. 20040078841; 20040067506; 20040019934; 20030177536; 20030084486; 또는 20040123349에서 설명된 프로모터 서열들 중 임의의 것과 같은 뿌리-특이적 프로모터들은 본 발명의 발현 구성

체와 함께 사용될 수 있다. 구성 프로모터(constitutive promoter)(CaMV, 유비퀴틴, 액틴 또는 NOS 프로모터와 같은), 발생학적으로(developmentally)-조절된 프로모터 및 유도 프로모터(inducible promoter)(열, 빛, 호르몬 또는 화학물질에 의해 유도될 수 있는 그러한 프로모터들과 같은)들도 본 발명의 폴리뉴클레오티드 발현 구성체들과 함께 사용 의도된다. 토마토의 E8 프로모터(등록 번호: AF515784; Good *et al.* (1994))와 같은 예를 들어, 과일-특이적 프로모터들과 같은 조직-특이적 프로모터들도 사용될 수 있다. β -과세올린(phaseolin) 유전자(예를 들어, 강낭콩의) 또는 글리시닌(glycinin) 유전자(예를 들어, 대두의)로부터 나온 프로모터와 같은 종자-특이적 프로모터들 및 다른 것들도 사용될 수 있다.

[0025] 원핵 생물계에서의 발현에 대해, 본 발명의 발현 구성체는 예를 들어, 알칼리성 인산가수분해효소(alkaline phosphatase) 프로모터, 트립토판(tryptophan: trp) 프로모터, 람다(lambda) P_L 프로모터, β -락타마아제(lactamase) 프로모터, 젖당(lactose) 프로모터, phoA 프로모터, T3 프로모터, T7 프로모터 또는 tac 프로모터와 같은 프로모터들을 포함할 수 있다(de Boer *et al.*, 1983).

[0026] 본 발명의 발현 구성체들은 선택적으로 전사 종결 서열, 번역 종결 서열, 신호 펩티드를 인코딩하는 서열 및/또는 엔헨서 요소들을 함유할 수 있다. 전사 종결 영역들은 일반적으로 진핵 또는 바이러스 유전자 서열의 3' 번역되지 않은 영역으로부터 얻어질 수 있다. 전사 종결 서열들은 효과적인 종결을 제공하는 코딩 서열의 하류(downstream)에 위치될 수 있다. 신호 펩티드 서열은 특이적인 세포소기관 구획(organelle compartment)에서 단백질 작용(protein action)의 사이트 및 세포의 환경에 이르는 광범한 범위의 번역 후(post-translational) 세포 목적지(cellular destination)들에 작동 가능하게 연결된 성숙한 폴리펩티드의 재배치(relocation)에 원인이 되는 단백질의 아미노산 터미널에 일반적으로 존재하는 짧은 아미노산 서열이다. 작동 가능하게 연결된 신호 펩티드 서열의 사용을 통한 의도된 세포 및/또는 세포의 목적지에 유전자 생성물들을 타겟팅하는 것은 본 발명의 폴리펩티드들과 함께 사용을 위해 의도된다. 고전적인 엔헨서들은 유전자 전사를 증가시키는 시스-작용(cis-acting) 요소들이고 발현 구성체에 포함될 수도 있다. 고전적인 엔헨서 요소들은 업계에 공지되어 있고 CaMV 35S 엔헨서 요소, 사이토메갈로바이러스(cytomegalovirus: CMV) 초기 프로모터 엔헨서 요소 및 SV 40 엔헨서 요소를 포함하지만 여기에 한정되지 않는다. 유전자 발현을 엔헨싱하는 인트론-매개성 엔헨서 요소들도 업계에 공지되어 있다. 이러한 요소들은 전사된 영역 내부에 존재하여야 하고 방향성 종속적(orientation dependent)이다.

[0027] 상기 발현 구성체로부터 전사된 mRNA의 폴리아데닐화를 지시하는 DNA 서열들도 상기 발현 구성체에 포함될 수 있고 옥토피린 생성효소(octopine synthase) 또는 노팔린 생성효소(nopaline synthase) 신호를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다.

[0028] 발현 구성체들도 예를 들어 형질전환된 세포들을 선택하기 위해 항생제 내성 및/또는 제초제-내성을 인코딩하는 유전자를 포함하여 하나 이상의 지배적인 선발 표지 유전자들을 포함할 수 있다. 항생제-내성 유전자들은 하나 이상의 하기 항생제들에 내성을 제공할 수 있다: 하이그로마이신(hygromycin), 카나마이신(kanamycin), 블레오마이신(bleomycin), G418, 스트렙토마이신(streptomycin), 파로모마이신(paromomycin), 네오마이신(neomycin) 및 스펙티노마이신(spectinomycin). 카나마이신 내성은 네오마이신 인산전이효소(neomycin phosphotransferase: NPT II)에 의하여 제공될 수 있다. 제초제-내성 유전자들은 포스포노트리신 아세틸기전이효소(phosphinothricin acetyltransferase) 또는 글리포세이트(glyphosate)에 내성을 제공할 수 있다. 형질 전환 스크리닝을 위해 사용되는 다른 표지들은 β -글루쿠로니다아제(glucuronidase: GUS), β -갈락토시다아제(galactosidase), 루시페라아제(luciferase), 노팔린 생성효소, 클로람페니콜아세틸기전이효소(chloramphenicol acetyltransferase: CAT), 녹색 형광 단백질(green fluorescence protein: GFP) 또는 엔헨싱된 GFP를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다(Yang *et al.*, 1996).

[0029] 또한, 본 발명은 본 발명의 폴리펩티드를 인코딩하는 본 발명의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 벡터들에 관한 것이다. 독특한 제한 효소 사이트들이 발현 구성체 또는 발명의 폴리뉴클레오티드의 5' 및 3' 말단들에 포함되어 폴리뉴클레오티드 벡터로 삽입이 일어나게 할 수 있다. 여기에 사용된 "벡터"라는 용어는 예를 들어, 플라스미드들, 코스미드들, 염색체들, 파지(phage), 바이러스 등을 포함하여 적절한 조절 요소들(control elements)과 연관될 시에 복제가 가능하고 세포들 사이에 폴리뉴클레오티드 서열들을 전달할 수 있는 임의의 유전적 요소를 뜻한다. 벡터들은 선택된 숙주 세포에서 벡터가 복제되도록 하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 발현 및/또는 클로닝에 이용 가능한 수 많은 벡터들은 pBR322, pUC 계열, M13 계열, pGEM 계열 및 pBLUESCRIPT 벡터들을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다(Stratagene, La Jolla, CA and Promega, Madison, WI).

[0030] 또한, 본 발명은 중합효소 연쇄 반응(polymerase chain reaction: PCR) 프라이머들과 같이 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 암호화 또는 비암호화된 서열에 혼성화 될 수 있는 올리고뉴클레오티드 프로브들(probes) 및 프라이머들에 관한 것이다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드 프로브들은 인플루엔자 바이러스 핵산 서열들의 검출 방법들에 사용될 수 있다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드 프라이머들은 PCR 방법들 및 핵산 증폭을 포함하는 다른 방법들에 사용될 수 있다. 바람직한 일 실시예에서, 본 발명의 프로브 또는 프라이머는 엄격한 조건 하에 있는 본 발명의 폴리뉴클레오티드에 혼성화 될 수 있다. 본 발명의 프로브들 및 프라이머들은 형광 분자들, 효소들, 방사성 모이어티(radioactive moiety) 등과 같은 검출 가능한 표지 또는 보고분자(report molecule)를 선택적으로 포함할 수 있다. 본 발명의 프로브들 및 프라이머들은 그들이 채용되는 방법 또는 시험법에 이용되기 위해 임의의 적절한 크기일 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 프로브들 및 프라이머들은 길이가 10에서 500 이상의 뉴클레오티드일 것이다. 길이가 10에서 20, 21에서 30, 31에서 40, 41에서 50, 51에서 60, 61에서 70, 71에서 80, 81에서 90, 91에서 100 또는 101 이상의 뉴클레오티드는 본 발명의 범위 내에서 의도된다. 일 실시예에서, 프로브들 및 프라이머들은 길이가 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30인 뉴클레오티드들 중 어느 하나이다. 본 발명의 프로브들 및 프라이머들은 폴리뉴클레오티드 서열과 완전한(100%) 뉴클레오티드 서열 일치성을 가질 수 있거나 서열 일치성이 100% 미만일 수 있다. 예를 들어, 프로브 또는 프라이머 및 서열 사이의 서열 일치성은 상기 프로브 또는 프라이머가 엄격한 조건 하에서 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열에 혼성화 될 수 있는 한 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70% 또는 다른 백분율의 서열 일치성 일 수 있다. 본 발명의 대표적인 프로브들 및 프라이머들은 서열 ID 번호: 35, 서열 ID 번호: 36, 서열 ID 번호: 37, 서열 ID 번호: 38, 서열 ID 번호: 39, 서열 ID 번호: 40, 서열 ID 번호: 41, 서열 ID 번호: 42, 서열 ID 번호: 43, 서열 ID 번호: 44, 서열 ID 번호: 45, 서열 ID 번호: 46 중 어느 하나에서 나타난 뉴클레오티드 서열 또는 서열 ID 번호: 35-46의 중 어느 하나의 기능성 단편 또는 변형체를 가진 프로브들 및 프라이머들을 포함한다.

[0031] 여기에 사용된 "핵산", "폴리뉴클레오티드" 및 "올리고뉴클레오티드" 라는 용어들은 단일 또는 이중 가닥 형태 중 어느 하나의 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드 또는 혼합된 데옥시리보뉴클레오티드 및 리보뉴클레오티드 고분자를 뜻하며, 달리 제한하지 않는다면 자연적으로 발생하는 뉴클레오티드들과 유사한 방식으로 작동할 수 있는 자연적인 뉴클레오티드의 알려진 유사체들을 포함한다. 폴리뉴클레오티드 서열들은 번역되어 단백질로 될 수 있는 RNA 및 RNA 가닥으로 전사될 수 있는 DNA 가닥 서열을 포함한다. 본 발명의 임의의 핵산, 폴리뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드의 상보적인 서열도 본 발명의 범위 내에 의도된다. 폴리뉴클레오티드 서열들도 전체-길이 서열들로부터 유래된 짧은 서열뿐만 아니라 전체 길이 서열 양쪽 모두를 포함한다. 본 발명은 또한 여기에 개시된 폴리뉴클레오티드들에 서열상 상보적인 그러한 폴리뉴클레오티드들을 포함한다. 본 발명의 폴리뉴클레오티드들 및 폴리펩티드들은 정제된 또는 분리된 형태로 제공될 수 있다.

[0032] 유전자 코드의 퇴화(degeneracy)로 인하여, 다양한 다른 폴리뉴클레오티드 서열들은 본 발명의 폴리펩티드를 인코딩 할 수 있다. 모든 가능한 삼중 코돈들(U도 T에 대응한다) 및 각각의 코돈이 인코딩하는 아미노산을 보여주는 표가 Lewin에서 설명된다(1985). 또한, 이러한 표는 본 발명의 동일하거나 본질적으로 동일한 폴리펩티드들을 인코딩하는 다른 폴리뉴클레오티드 서열들을 만들어내는 당업자의 기술 범위 내에 있다. 이러한 퇴화된 변형체 및 다른 폴리뉴클레오티드 서열들은 본 발명의 범위 내에 있다. 여기에 사용된 "본질적으로 동일한"이라고 언급한 사항들은 본 발명의 폴리뉴클레오티드들에 의해 인코딩되는 폴리펩티드의 기능성 및 면역원성 활성을 유형적으로 변화시키지 않는 아미노산 치환, 결실, 첨가 또는 삽입을 인코딩하는 서열들을 뜻한다.

[0033] 본 발명은 본 발명의 폴리펩티드들을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드들의 변형체들에 관한 것이기도 하다. 변형체 서열들은 상기 서열의 하나 이상의 뉴클레오티드가 치환, 결실 및/또는 삽입되는 그러한 서열들을 포함한다. DNA의 자연적인 뉴클레오티드들에 치환될 수 있는 뉴클레오티드들은 이노신(inosine), 5-플루오로우라실(flourouracil), 5-브로모우라실(bromouracil), 하이포크산틴(hypoxanthine), 1-메틸구아닌(methylguanine), 5-메틸사이토신(methylcytosine) 및 트리틸레이티드 염기들(tritylated bases)을 포함할 수 있지만, 여기에 한정되지 않는 염기 모이어티를 가진다. 서열에서의 뉴클레오티드의 당 모이어티도 변형될 수 있고 아라비노스(arabinose), 크실룰로오스(xylulose) 및 육탄당(hexose)를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 또한, 뉴클레오티드들의 아데닌, 사이토신, 구아닌, 티민 및 우라실 염기들은 아세틸, 메틸 및/또는 티오 기들로 변형될 수 있다. 뉴클레오티드 치환, 결실 및/또는 삽입을 포함하는 서열들은 업계에 공지된 표준 기술들을 이용하여 제조되고 시험될 수 있다.

[0034] 본 발명의 폴리펩티드에 특이적으로 대표되거나 자연적으로 존재하는 아미노산들 이외의 아미노산들의 치환도 본 발명의 범위 내에서 의도된다. 예를 들어, 비-자연적인 아미노산들은 치환된 아미노산들을 가진 폴리펩티드

가 아미노산들이 치환되지 않은 폴리펩티드와 실질적으로 동일한 기능적 활성을 유지하는 한, 폴리펩티드의 아미노산들로 치환될 수 있다. 비-자연적인 아미노산의 예들은 오르니틴(ornithine), 시트룰린(citrulline), 히드록시프롤린(hydroxyproline), 호모세린(homoserine), 페닐글리신(phenylglycine), 타우린(taurine), 요오드티로신(iodotyrosine), 2,4-디아미노부틸산(diaminobutyric acid), α-아미노 부틸산(amino butyric acid), 4-아미노 부틸산, 2-아미노 부틸산, γ-아미노 부틸산, ε-아미노 헥산산(hexanoic acid), 6-아미노 헥산산, 2-아미노 부틸산, 3-아미노 프로피온산(propionic acid), 노르류신(norleucine), 노르발린(norvaline), 사르코신(sarcosine), 호모시트룰린(homocitrulline), 시스테르산(cysteric acid), τ-부틸글리신(butyglycine), τ-부틸알라닌(butylalanine), 페닐글리신(phenylglycine), 사이클로헥실알라닌(cyclohexylalanine), β-알라닌(alanine), 플루오로 아미노산류(fluoro-amino acids), β-메틸 아미노산, C-메틸 아미노산, N-메틸 아미노산 및 일반적인 아미노산 유사체류와 같은 디자인어 아미노산류를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 비-자연적인 아미노산류도 유도화된(derivatized) 측기들(side groups)을 가지는 아미노산류를 포함한다. 또한, 단백질에 있어서 임의의 아미노산은 D(우회전성(dextrorotary)) 형태 또는 L(좌회전성(levorotary)) 형태일 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드의 단백질 서열의 대립형질인(allelic) 변형체들도 본 발명의 범위 내에 포함된다.

[0035] 아미노산들은 일반적으로 하기의 종류들로 분류될 수 있다: 비극성, 비전하성 극성(uncharged polar), 염기성 및 산성. 보존적 서브치환(conservative substitution)으로 한 종류의 아미노산을 가지는 본 발명의 폴리펩티드가 상기 서브치환을 지닌 폴리펩티드가 서브치환을 가지지 않는 폴리펩티드와 실질적으로 동일한 기능적 활성을 여전히 유지하는 한, 본 발명의 범위 내에 속하는 동일한 종류의 다른 아미노산으로 대체된다. 상기 서열에서 하나 이상의 아미노산 서브치환들을 가지는 폴리펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드들은 본 발명의 범위 내에서 의도된다. 아래 표 11은 각각의 종류에 속하는 아미노산 예들의 목록을 제공한다. 단일 글자 아미노산 약어들은 표 12에 정의된다.

[0036] 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 폴리펩티드의 단편들 및 변형체들은 업계에 공지된 표준 방법들을 이용하여 생성되고 업계에 공지된 표준 기술들을 이용하여 기능성 또는 면역원성의 존재여부를 시험할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 뉴라미니다제 폴리펩티드의 단편들 및/또는 변형체들의 시험을 위해, 효소적인 활성이 시험될 수 있다. 따라서, 당업자는 본 발명의 폴리펩티드의 단편 및 변형체들을 용이하게 제조하고 시험할 수 있고 전체 길이 또는 비-변형체 폴리펩티드와 대비해서 상기 단편 또는 변형체가 활성을 유지하는지의 여부를 결정할 수 있다.

[0037] 본 발명의 범위 내에 의도된 폴리뉴클레오티드들 및 폴리펩티드들은 여기에 특이적으로 예시된 본 발명의 서열들과 좀 더 특정한 동일성 및/또는 유사성 범위에 관하여 정의될 수 있다. 상기 서열 일치성은 일반적으로 60 % 초과, 바람직하게는 75 % 초과, 더 바람직하게는 80 % 초과, 더 바람직하게는 90 % 초과할 수 있으며 95 % 초과할 수 있다. 서열의 동일성 및/또는 유사성은 여기에 예시된 서열과 비교하여 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 또는 99 % 일수 있다. 달리 특정하지 않는 한, 여기에 사용된 두 서열간의 퍼센트 서열 일치성 및/또는 유사성은 Karlin 및 Altschul(1993)와는 변형된 Karlin 및 Altschul(1990)의 알고리즘을 이용하여 결정될 수 있다. 그러한 알고리즘은 Altschul *et al.* (1990)의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램들에 포함된다. BLAST 조사들은 상기 NBLAST 프로그램으로, 점수(score) = 100, 단어길이(wordlength) = 12로 수행되어 원하는 퍼센트 서열 일치성을 지닌 서열들을 얻을 수 있게 한다. 비교 목적을 위해 갭된(gapped) 정렬들을 얻으려면, Gapped BLAST를 Altschul *et al.* (1997)에서 설명된 바와 같이 사용할 수 있다. BLAST 및 Gapped BLAST 프로그램들을 이용시에 개별 프로그램들(NBLAST 및 XBLAST)의 디폴트 파라미터들(default parameters)이 사용될 수 있다. NCBI/NIH 웹사이트 참조.

[0038] 또한, 본 발명은 표준적인 엄격한 조건 하에서 그리고 표준 방법들에 의한 그러한 서열로 혼성화를 이루기 위해서 여기에 예시된 폴리뉴클레오티드 서열들과 충분히 상동적인 서열들을 가지는 그러한 폴리뉴클레오티드 분자들을 계획한다(Maniatis *et al.*, 1982). 혼성화를 위해 여기에 사용된 "엄격한" 조건은 6 x SSPE, 5 x Denhardt's 용액, 0.1 % SDS, 0.1 mg/ml 변질된(denatured) DNA에 DNA 하이브리드의 녹는점(Tm) 미만인 20-25 °C에서 하룻밤 만에 혼성화가 일반적으로 수행되는 조건들을 의미한다. 녹는점(Tm)은 하기의 공식에 의해 표현된다(Beltz *et al.*, 1983):

[0039] $T_m = 81.5^{\circ}\text{C} + 16.6\text{Log}[\text{Na}^+] + 0.41(\%G+C) - 0.61(\% \text{포름아미드}) - 600/\text{염기 쌍으로 이루어진 듀플렉스 길이}$

[0040] 일반적으로 하기와 같이 세척한다:

[0041] (1) 상온, 1 x SSPE, 0.1 % SDS 에서 15분 동안 2회 세척(저 강도 세척).

[0042] (2) Tm-20, 2 x SSPE, 0.1 % SDS 에서 15분 동안 1회 세척(중 강도 세척).

[0043] 본 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 유전자들에 의해 인코딩되는 바이러스 단백질들과 펩티드들에 관한 것이다. 일 실시예에서, 상기 바이러스 단백질은 성숙한 적혈구응집소(HA) 단백질이다. 특정한 일 실시예에서, 상기 성숙한 적혈구응집소 단백질은 하나 이상의 하기를 포함한다: 82 위치에서의 세린; 221 위치에서의 류신; 327 위치에서의 트레오닌; 및/또는 482 위치에서의 트레오닌. 대표적인 일 실시예에서, 상기 적혈구응집소 단백질은 서열 ID 번호: 33 또는 서열 ID 번호: 34에서 보인 아미노산 서열 또는 SEQ ID: 33 또는 서열 ID 번호: 34의 기능성 및/또는 면역원성 단편 또는 변형체를 가진다. 다른 실시예에서, 상기 바이러스 단백질은 뉴라미니다제(NA) 단백질, 비구조성(NS) 단백질, 중합효소 염기성(PB) 단백질, 중합효소 산성(PA) 단백질 또는 매트릭스(MA) 단백질이다. 본 발명의 바이러스 단백질 및 펩티드들은 사용되어 상기 단백질 또는 펩티드에 특이적으로 구속되는 항체들을 생성할 수 있다. 본 발명의 바이러스 단백질 및 펩티드들은 면역원으로 그리고 백신 조성물들에서도 사용될 수 있다.

[0044] 본 발명은 감수성 숙주 동물을 감염시키고 호흡기 질병을 야기시킬 수 있는 인플루엔자 바이러스에 대한 면역 반응을 유도하는 조성물 및 방법들에 관한 것이기도 하다. 본 발명은 감수성 숙주 동물에서 임의의 아형 인플루엔자 바이러스에 대한 면역 반응 유도에 사용될 수 있다. 예를 들어, 상기 인플루엔자 바이러스는 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 또는 H16의 HA 아형 및 N1, N2, N3, N4, N5, N6, N7, N8 또는 N9의 NA 아형일 수 있다. 일 실시예에서, 상기 HA 아형은 H3 또는 H5이다. 또 다른 실시예에서, 상기 NA 아형은 N7 또는 N8이다. 구체적인 일 실시예에서, 면역 반응은 아형 H3N8의 인플루엔자 바이러스에 대하여 유도된다. 일 실시예에서, 상기 숙주 동물은 개과 동물이다. 개과 동물은 늑대, 코요테 및 여우와 같은 야생, 동물원 및 사육(domestic) 개과 동물이다. 개과 동물은 개, 예를 들어, 순종 및/또는 잡종 반려견(companion dog), 쇼견(show dog), 사역견(working dog), 목양견(herding dog), 수렵견(hunting dog), 호위견(guard dog), 경찰견(police dog), 경주견(racing dog) 및/또는 실험견(laboratory dog)과 같은 개들, 특히 사육견(domestic dog)도 포함한다. 구체적인 일 실시예에서, 상기 숙주 동물은 그레이하운드와 같이 길들여진 개이다. 일 실시예에서, 동물에게 본 발명의 인플루엔자 바이러스에 대한 면역 반응을 유도하기에 충분한 본 발명의 면역원성 조성물의 유효량이 투여 된다. 상기 면역 반응은 체액성(humoral) 및/또는 세포성(cellular) 면역 반응일 수 있다. 구체적인 일 실시예에서, 상기 면역 반응은 면역화(immunization) 이후 일정 시간 동안 면역화된 숙주 동물에서 바이러스 감염을 방지하거나 최소화할 수 있는 보호성 면역 반응이다. 따라서, 본 발명은 백신 투여된 동물에 본 발명의 바이러스에 대한 보호성 면역 반응을 제공할 수 있는 백신 조성물 및 방법들에 관한 것이기도 하다.

[0045] 여기에 설명된 바와 같이, 본 발명의 상기 백신 또는 면역항원 조성물들은 바이러스 감염된 세포계 뿐만 아니라 약독화 또는 비활성 바이러스를 포함한 무세포 전 바이러스(cell-free whole virus) 또는 서브비리온 입자들(비리온이 바이러스 지질의 일부 또는 전부를 제거하도록 처리되는 "분할 백신(split vaccine)"을 포함), 바이러스 단백질(개별 단백질 및 다중 단백질들의 거대분자 복합체들 포함), 폴리펩티드 및 펩티드 또는 이러한 것들 중 어느 하나의 조합을 포함할 수 있다. 바이러스 감염된 세포계를 포함한 백신 또는 면역원성 조성물들은 각자가 다른 바이러스 균주로 감염된 다중 세포계들을 포함할 수 있다.

[0046] 본 발명의 상기 백신 또는 면역원성 조성물들은 예를 들어, 적혈구응집소(HA) 단백질, 뉴라미니다제(NA) 단백질, 핵단백질, 중합효소 염기성 단백질, 중합효소 산성 단백질 및/또는 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 매트릭스 단백질을 인코딩하는 유전자를 포함할 수 있는 재조합 바이러스 벡터-베이스(vector-based) 구성체들도 포함한다. 재조합 벡터/바이러스 구성체의 제조에 사용될 수 있는 임의의 적당한 바이러스 벡터는 본 발명의 사용 목적을 위해 의도된다. 예를 들어, 아데노바이러스, 아비폭스(avipox), 헤르페스바이러스(herpesvirus), 백신니아(vaccinia), 카나리아폭스(canarypox), 엔토모폭스(entomopox), 돈두(swinepox), 웨스트 나일 바이러스 및 업계에 알려진 다른 바이러스들로부터 유래된 바이러스 벡터들은 본 발명의 조성물 및 방법들과 함께 사용될 수 있다. 구성 요소들을 인코딩하고 발현시키는 재조합 폴리뉴클레오티드 벡터들은 업계에 공지된 표준 유전 공학 기술들을 이용하여 제작될 수 있다. 또한, 여기에 설명된 다양한 백신 조성물들은 독립적으로 그리고 서로 조합하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 동물의 제1 면역화는 단일 또는 다중 균주 요소들을 가지는 재조합 벡터-베이스 구성체들을 사용할 수 있고 비활성 바이러스 또는 비활성 바이러스 감염된 세포계를 포함하는 백신 조성물들로 제2 부스트(boost)들을 실시하게 된다. 본 발명의 백신 조성물들로 다른 면역화 프로토콜들(protocols)은 당업자에게 명백하며 본 발명의 범위 내에서 의도된다.

[0047] 본 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 적어도 하나의 유전자 또는 게놈릭 세그먼트 및 본 발명의 다른 인플루엔자 바이러스 또는 본 발명의 바이러스와는 다른 인플루엔자 바이러스로부터 유래한 바이러스 유전자 또는

게노믹 세그먼트들(genomic segments)의 나머지를 포함하는 재집합체(reassortant) 바이러스에 관한 것이기도 하다. 재집합체 바이러스는 본 발명의 공여자(donor) 인플루엔자 바이러스의 핵산과 수용체(recipient) 인플루엔자 바이러스의 핵산과의 유전적 재집합에 의해 생성될 수 있고 그리고 나서 공여자 바이러스의 핵산을 포함하는 재집합체 바이러스를 선택한다. 재집합체 바이러스를 생성하고 분리시키는 방법들은 업계에 공지되어 있다 (Fields *et al.*, 1996). 일 실시예에서, 본 발명의 재집합체 바이러스는 인간, 조류, 돼지 또는 말 인플루엔자 바이러스의 유전자 또는 게노믹 세그먼트들을 포함한다. 본 발명의 재집합체 바이러스는 상기 재집합체 바이러스가 본 발명의 공여자 인플루엔자 바이러스로부터 유래한 적어도 하나의 유전자 또는 게노믹 세그먼트를 포함하는 한, 공여자 및 수용체 인플루엔자 바이러스로부터 임의의 핵산 조합을 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 수용체 인플루엔자 바이러스는 말 인플루엔자 바이러스일 수 있다.

[0048] 바이러스 단백질의 자연적, 재조합 또는 합성 폴리펩티드 및 그 펩티드 단편들은 본 발명에 의한 백신 조성물들로 사용될 수도 있다. 일 실시예에서, 다중 균주들로부터 유래된 바이러스 폴리펩티드들은 백신 조성물들에 조합될 수 있고 숙주 동물의 백신접종에 사용된다. 예를 들어, 본 발명의 적어도 2 개의 다른 인플루엔자 바이러스 균주들로부터 유래된 바이러스 적혈구응집소 단백질에 근거한 폴리펩티드들은 상기 백신에 조합될 수 있다. 상기 폴리펩티드들은 일 균주에 상동이거나 "하이브리드" 또는 "키메라(chimeric)" 폴리펩티드들을 포함할 수 있으며, 그러한 폴리펩티드들의 아미노산 서열은 적어도 서로 다른 2 개의 균주들로부터 유래된 결합 또는 연결 폴리펩티드들로부터 유도된다. 바이러스 폴리펩티드들의 제조 절차들은 업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 바이러스 폴리펩티드들과 펩티드들은 고체상 합성 방법들을 이용하여 합성될 수 있다(Merrifield, 1963). 바이러스 폴리펩티드들과 펩티드들은 재조합 DNA 기술들을 이용하여 생성될 수 있으며, 바이러스 단백질 또는 펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 분자가 박테리아, 효모 또는 포유류 세포계와 같은 숙주 세포에 발현되고 발현된 단백질은 업계의 표준 기술들을 이용하여 정제된다.

[0049] 본 발명의 백신 조성물들은 나출된(naked) 핵산 조성물들도 포함한다. 일 실시예에서, 핵산은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 적혈구응집소(HA) 및/또는 뉴라미니다제(NA) 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 핵산 백신접종의 방법들은 업계에 공지되어 있고 예를 들어, 미합중국 특허 번호 6,063,385 및 6,472,375에 설명되어 있다. 상기 핵산은 플라스미드 또는 유전자 발현 카세트(expression cassette)의 형태일 수 있다. 일 실시예에서, 상기 핵산은 동물에 투여되는 리포솜에 둘러싸여진 채로 제공된다.

[0050] 본 발명에 따라서 사용될 수 있는 폴리펩티드 및 핵산들과 같은 백신 조성물과 면역원들은 약학적으로 수용 가능한 담체 또는 희석제로 제공될 수 있다. 본 발명에 유용한 화합물과 조성물들은 약학적으로 유용한 조성물들을 제조하는 공지된 방법들에 의하여 제형될 수 있다. 당업자에게 공지되어 있고 용이하게 이용될 수 있는 수많은 소스들(sources)에서 제형법들이 상세히 설명되어 있다. 예를 들어, *Remington's Pharmaceutical Science* by E. W. Martin, Easton Pennsylvania, Mack Publishing Company, 19th ed., 1995는 본 발명과 연계하여 이용될 수 있는 제형법들을 설명한다. 일반적으로, 본 발명의 조성물들은 상기 조성물의 효과적인 투여를 촉진하기 위해 면역원의 유효량이 적당한 담체와 결합되도록 제형될 것이다. 본 방법들에 사용되는 조성물들은 다양한 형태일 수도 있다. 여기에는 예를 들어, 정제, 알약, 분말, 액체 용액 또는 현탁액, 좌약, 주입식(injectable and infusible) 용액 및 스프레이와 같은 고체, 반-고체 및 액체 투여 형태를 포함한다. 바람직한 형태는 투여 및 치료 응용의 의도된 방식에 의존한다. 상기 조성물들은 바람직하게는 당업자에게 공지된 기존의 약학적으로 수용 가능한 담체 및 희석제들을 포함하기도 한다. 당해 펩티드모방체들(peptidomimetics)과의 사용을 위한 담체 또는 희석제의 예들은 물, 식염수, 광유(mineral oil)를 포함한 오일류, 에탄올, 디메틸 술폭시드(dimethyl sulfoxide), 젤라틴, 사이클로덱스트란류(cyclodextrans), 마그네슘 스테아레이트(magnesium stearate), 포도당, 셀룰로오스, 당류, 칼슘 카보네이트, 글리세롤, 알루미늄, 전분 및 균등(equivalent) 담체 및 희석제들 또는 이러한 것들 중 어느 하나의 혼합물들을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 본 발명의 면역원 제형들은 현탁제(suspension agent), 보호제(protectant), 운환제, 완충제(buffer), 보존제(preservative) 및 안정화제(stabilizer)를 포함할 수도 있다. 바람직한 치료 처리를 위한 투여량의 투여를 제공하기 위하여, 본 발명의 약학적 조성물들은 유리하게는 담체 또는 희석제를 포함하는 총 조성물의 중량 당 면역원 또는 면역원들의 중량 대비 약 0.1 %에서 45 %사이, 특히 1 %에서 15 %를 포함할 것이다.

[0051] 본 발명의 상기 백신 및 면역원성 조성물들은 업계에 공지된 절차들에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 상기 백신 또는 면역원들은 일반적으로 예를 들어, 액체 용액 또는 현탁액과 같이 주입식으로 제조된다. 상기 백신 또는 면역원들은 투여 제형과 용화될 수 있는 방식 및 수용자에게 치료적으로 효과적이고 면역원이 생성될 양으로 투여된다. 특정한 백신 또는 면역원들의 제형을 위한 최적 투여량 및 투여 패턴은 당업자에 의해 용이하게

결정된다.

[0052] 본 발명의 펩티드들 및/또는 폴리펩티드들은 다중 항원성 펩티드(multiple antigenic peptide: MAP) 구성체의 형태로 제공될 수도 있다. MAP 구성체의 제조는 Tam(1988)에서 설명되어 있다. MAP 구성체들은 일 면역원의 다중 카피들이 합성되는 리신 잔존물들의 코어 매트릭스(core matrix)를 이용한다(Posnett *et al.*, 1988). 다중적인 MAP 구성체들은 그 각각이 동일하거나 다른 면역원들을 포함하며 본 발명의 방법들에 따라서 제조되고 백신 조성물에 투여된다. 일 실시예에서, MAP 구성체는 하나 이상의 보강제(adjuvant)와 함께 제공 되고/제공 되거나 투여 된다. 본 발명의 인플루엔자 폴리펩티드들은 하나 이상의 폴리펩티드들을 포함하는 거대분자 단백질 구조들로 생성되고 투여 될 수도 있다. 발간된 미합중국 특허 출원 US2005/0009008은 인플루엔자 바이러스에 대한 백신으로 바이러스 같은(virus-like) 입자들을 생성하는 방법들을 설명한다.

[0053] 본 발명의 방법들에 의하면, 여기에 설명된 상기 백신 및 면역원성 조성물들은 감수성 숙주, 일반적으로 개과 동물들 및 좀 더 일반적으로는 길들여진 개들에게 바이러스에 의해 숙주의 후속 공격 또는 감염에 대한 보호 면역을 유도할 만큼의 유효량 및 효과적인 방식으로 투여된다. 일 실시예에서, 상기 숙주 동물은 개과 동물이다. 개과 동물은 늑대, 코요테 및 여우와 같은 야생, 동물원 및 사육(domestic) 개과 동물을 포함한다. 개과 동물은 개, 예를 들어, 순종 및/또는 잡종 반려견, 쇼견, 사역견, 목양견, 수렵견, 호위견, 경찰견, 경주견 및/또는 실험견과 같은 개들, 특히 사육견도 포함한다. 구체적인 일 실시예에서, 상기 숙주 동물은 그레이하운드와 같이 길들여진 개이다. 상기 백신 또는 면역원들은 일반적으로 비경구적으로, 예를 들어, 피하(subcutaneously), 복강내(intraperitoneally) 또는 근내(intramuscularly)중 어느 하나로의 주입에 의해 투여 된다. 투여의 다른 적당한 방식은 경구 또는 비강 투여를 포함한다. 주로, 상기 백신 또는 면역원들은 각각의 투여 사이에 1 주 이상의 간격을 두고 적어도 2 회 동물에게 투여 된다. 그러나, 상기 백신 또는 면역원들의 최초 및 부스터 투여에 대한 다른 투여 계획들(regimens)이 계획되고 이는 실시자의 판단 및 처리되는 특정 숙주 동물에 의존할 수 있다.

[0054] 백신 제형에서의 바이러스 및 바이러스-감염 세포들은 업계에 공지된 방법들을 이용하여 비활성 또는 약독화될 수 있다. 예를 들어, 전체 바이러스 및 감염된 세포들은 파라포르말데히드(paraformaldehyde), 포르말린(formalin), 페놀(phenol), 자외선, 고온 등에 노출시켜 비활성 또는 약독화될 수 있다. 백신 투여에서 무세포 전체 바이러스의 양은 주로 약 0.1 mg에서 약 5 mg의 범위에 있을 것이고, 이보다 더는 약 0.2 mg에서 약 2 mg의 범위에 있게 될 것이다. 바이러스-감염 세포계를 포함하는 백신 제형의 투여량은 주로 투여 당 약 10^6 세포에서 약 10^8 세포를, 이보다 더는 투여 당 약 5×10^6 세포에서 약 7.5×10^7 세포를 포함하게 될 것이다. 한 동물에 대한 1회 투여에서 단백질 또는 펩티드 면역원의 양은 투약 받는 동물의 크기, 나이등에 따라 약 0.1 μ g에서 10000 μ g, 또는 약 1 μ g 내지 5000 μ g, 또는 약 10 μ g 내지 1000 μ g, 또는 약 25 μ g 내지 750 μ g, 또는 약 50 μ g 내지 500 μ g, 또는 100 μ g 내지 250 μ g 까지 변할 수 있다.

[0055] 바이러스 또는 바이러스 감염된 세포 또는 바이러스 단백질 또는 펩티드들과 같은 본 발명의 면역항원성 또는 백신 조성물은 일반적으로 투여 직전에 보강제와 함께 조합될 수 있다. 백신 제형들에 사용 목적을 위해 의도된 보강제들은 트레오닐 뮤라밀 디펩티드(threonyl muramyl dipeptide: MDP)(Byars *et al.*, 1987), 사포닌(saponin), 코르네박테리움 파르븀(*Cornebacterium parvum*), 프로인드 완전 및 프로인드 불완전 보강제(Freund's complete and Freund's incomplete adjuvants), 알루미늄 또는 이러한 것들 중 어느 하나의 혼합물을 포함한다. 명반(alum)과 같은 본 발명의 방법 및 백신들과 함께 사용 목적을 위한 적당한 다른 다양한 보강제들은 업계에 공지되어 있고 본 발명과 함께 사용되기 위해 의도된다.

[0056] 본 발명은 본 발명의 단백질 또는 펩티드에 특이적으로 결합하는 항체들에 관한 것이기도 하다. 본 발명의 항체들은 단일 클론성(monoclonal) 및 다중 클론성(polyclonal) 항체 조성물들을 포함한다. 바람직하게는 본 발명의 상기 항체들은 단일 클론성 항체들이다. 전체 항체 및 그 항원 결합 단편들이 본 발명에 의도된다. 따라서, 예를 들어, 적당한 항원 결합 단편들은 Fab₂, Fab 및 Fv 항체 단편들을 포함한다. 본 발명의 항체들은 형광 분자(예, 플루오레세인(fluorescein) 또는 효소)와 같은 검출 가능한 모이어티로 라벨이 붙여질 수 있다.

[0057] 본 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 검출 및 확인 본 발명의 인플루엔자 바이러스를 지닌 동물의 감염 진단을 위한 방법 및 조성물들에 관한 것이기도 하다. 본 발명의 방법들은 동물에서 나온 생물학적 표본에서 개과 인플루엔자의 존재 검출을 포함한다. 표본에서의 개과 인플루엔자의 검출은 동물에서의 개과 인플루엔자 진단에 유용하다. 번갈아서, 이런 정보는 시간에 걸쳐서 존재하는 개과 인플루엔자의 구별 레벨들(distinguishing levels)에 근거한 동물의 예측을 결정하는 능력을 제공할 수 있고 동물에 대한 치료 작용제 및 처리의 선별에

일조할 수 있으며 치료를 모니터링하는데 도움이 될 수 있다. 상기 방법은 시험되는 동물에서의 개과 인플루엔자의 부재를 입증할 수 있는 능력을 제공하기도 한다.

- [0058] 동물에서의 개과 인플루엔자 검출 능력은 지리적으로 다른 지역들에서 개과 인플루엔자의 발병 사례들의 평가를 할 수 있게 한다. 본 정보로 인해 감염된 동물들을 분리시켜 질병의 확산을 제한할 수 있도록 조기 검출을 가능하게 하기도 하여 처리 옵션으로 조기 개입을 가능하게 한다. 또한, 본 정보를 이용하게 되면 의료 기구의 조립 및 가능하다면 백신을 포함한, 수 많은 병든 동물들의 치료에 대한 지시 사항을 의료 요원들에게 제공할 수 있다.
- [0059] 일 실시예에서, 본 발명의 방법은 개과 동물과 같은 실험 동물로부터 나온 생물학적 표본의 수집을 포함한다. 상기 생물학적 표본은 세포, 조직, 모발, 전혈(whole blood), 혈청, 원형질(plasma), 유두 분비물(nipple aspirate), 폐 세척물(lung lavage), 뇌척수액(cerebrospinal fluid), 타액(saliva), 발한(sweat) 및 눈물(tears)을 포함한 임의의 생물학적 물질일 수 있다.
- [0060] 상기 동물 시험 표본은 개과 인플루엔자 바이러스를 가진 것으로 의심되는 동물이 그 질병의 징후를 보이느냐의 여부에 상관없이 그 동물로부터 유래할 수 있다. 대조 비교(control) 표본들은 개과 인플루엔자가 없는 것으로 알려진 동물들로부터 제공되거나 수집될 수 있는 것이기도 하다. 예를 들어, 잘못된 양성 및 잘못된 음성 결과들을 줄이기 위해 그리고 시험법에 사용된 시약들이 개과 인플루엔자 A 바이러스를 활발하게 검출한다는 것을 입증하기 위해 추가적인 대조 비교들이 제공될 수 있다.
- [0061] 생물학적 표본에서의 개과 인플루엔자의 존재 또는 부재의 검출에 더하여, 본 발명에 사용된 검출 방법들은 환경, 약물 처리, 유전자 조작 또는 돌연변이, 부상, 사료 변화(change in diet), 노화(aging) 또는 동물의 임의의 다른 특징(들)로부터 기인할 수 있는 핵산 서열의 변화와 같은 개과 인플루엔자 바이러스의 돌연변이들을 검출할 수 있다. 돌연변이들로 인해 개과 인플루엔자 A가 이전에 효능이 있었던 약물에 내성을 가지게 하거나 바이러스가 다른 동물 종 또는 인간을 감염시키고 퍼져나가게 하기도 한다. 예를 들어, 조류 인플루엔자 A 바이러스는 다른 동물 및 인간을 감염시키는 것으로 드러났다.
- [0062] 동물에 있어서 인플루엔자 바이러스 검출을 위한 일 실시예에서, 실험실 시험 전에 고품질(high-quality) 시료들의 수집, 시험 시설로 이를 신속히 이송 시키고 적절히 보관하게 되면 진단이 용이해진다. 바이러스는 감염된 세포와 분비물을 포함하는 시료에서 가장 잘 검출된다. 일 실시예에서, 바이러스 항원들의 직접 검출을 위한 시료들 및/또는 세포 배양액에서 핵산 및/또는 바이러스 분리를 위한 시료들을 임상적 징후가 개시된 지 첫 3일 동안에 취한다. 수 많은 유형의 시료들은 비강 면봉(nasal swab), 비인후 면봉(nasopharyngeal swab), 비인후 흡인물(nasopharyngeal aspirate), 비강 세척액(nasal wash) 및 인후 면봉(throat swabs)을 포함하지만 여기에 한정되지 않는 상기도(upper respiratory tract) 바이러스 감염의 진단에 적당하다. 면봉들에 이외에, 조직 또는 혈청 표본들을 취하여 침습성 절차들을 실시할 수도 있다.
- [0063] 일 실시예에서, 호흡기 시료들을 수집하여 1-5 ml의 바이러스 수송 배지(transport media)에 옮겨 놓는다. 다양한 바이러스들의 회수에 만족할만한 결과를 보인 수 많은 배지들이 상업적으로 구입 가능하다. 임상 시료들이 수송 배지에 첨가된다. 비강 또는 비인후 면봉들은 바이러스 수송 배지에 옮겨 놓아질 수도 있다. 수송 배지의 한 예는 송아지 고기 육수(veal infusion broth) 10 gm 및 소 알부민 부분 V(bovine albumin fraction V) 2 gm 를 소독한 증류수에 첨가하여 400 ml로 만든 것이다. 0.8 ml 황산 젠타마이신(gentamycin) 용액(50 mg/ml) 및 3.2 ml 암포테리신(amphotericin) B(250 µg/ml)와 같은 항생제가 첨가될 수도 있다. 상기 배지는 바람직하게는 여과막균법(filtration)에 의해 살균된다. 소독된 식염수(0.85 % NaCl)와 같은 비강 세척액은 호흡기 바이러스의 시료들의 수집에 사용될 수도 있다.
- [0064] 일 실시예에서, 임상적 징후가 개시되고 직후, 바람직하게는 7일을 초과하지 않은 급성 단계(acute-phase) 동물의 전혈 1-5 ml의 양으로 혈청액이 수집된다. 회복 단계(convalescent-phase) 혈청 시료는 예를 들어, 징후 개시 후 약 14일에 수집될 수도 있다. 혈청 시료들은 중화 시험에서 호흡기 바이러스에 대한 항체들의 검출에 유용할 수 있다.
- [0065] 일부 경우들에서, 일정 시간 주기(예, 하루에 1회, 일주일에 1회, 한 달에 1회, 2년에 1회 또는 1년에 1회)에 걸쳐서 표본들이 개별 동물들로부터 수집될 수 있다. 일정 시간 주기에 걸쳐서 개별 동물들로부터 수 많은 표본을 얻으면 이를 이용하여 이전 검출들로부터 얻은 결과들의 검증 및/또는 예를 들어, 선택된 치료 약물처럼 특이적인 치료에 대한 반응 또는 내성을 확인할 수 있다.
- [0066] 본 발명의 방법들은 이용되어 동물로부터 얻은 시험 표본에서 하나 이상의 병리학적 작용체의 존재 여부 및 각

각의 병리학적 작용체의 레벨을 검출할 수 있다. 효소 결합 면역 흡수법(enzyme-linked immunosorbent assays: ELISAs), 간접 형광 항체(indirect fluorescent antibody: IFA) 시험법, 적혈구응집(hemagglutinating), 적혈구응집반응(hemagglutination: HI) 시험법의 억제를 포함한 항체 시험법들 및 웨스턴 블롯(Western blot)을 포함하지만 여기에 한정되지 않은 임의의 병리학적 작용체 검출 방법이 사용될 수 있다. 공지된 세포-배양 방법들도 사용될 수 있다. 세포 배양액의 면역형광법(immunofluorescence) 또는 세포 배양 배지(상청액)의 적혈구응집소 시험법을 이용하여 양성 배양액들은 더 확인될 수 있다.

[0067] 또한, 핵산(DNA 또는 RNA) 또는 단백질 검출 방법들이 이용될 수 있다. 그러한 방법들은 중합효소 연쇄 반응(PCR), 역전사체(reverse transcriptase: RT) PCR 시험법, 실시간 시험법 및 정량 핵산가수분해효소 보호 시험법(quantitative nuclease protection assay)을 포함하지만 여기에 한정되지 않는다. 이러한 시험에 실시가능한 상업적으로 이용가능한 시험 키트들이 존재한다. 예를 들어, QIAGEN(Valencia, CA)사는 일 단계 RT-PCR 키트 및 바이러스 RNA 추출 키트를 판매한다.

[0068] 일 실시예에서, 상기 방법은 본 발명의 바이러스 또는 바이러스 단백질에 특이적인 항체를 이용한다. 구체적인 일 실시예에서, 본 발명의 바이러스의 적혈구응집소(HA) 단백질에 특이적인 항체가 이용된다. 다른 실시예에서, 본 발명의 바이러스의 NP 단백질에 특이적인 항체가 이용된다. 비강 또는 비인후 영역으로부터 유래한 것과 같은 적당한 표본은 동물로부터 구해진 것이고 바이러스 또는 바이러스 단백질은 거기에서 분리된 것이다. 그리고 나서 본 발명의 바이러스의 HA 또는 NP와 같은 단백질에 특이적인 항체의 결합 여부를 알아보기 위해 바이러스 요소들이 스크리닝 된다. 다른 실시예에서, 혈청 표본(또는 표본을 포함하는 다른 항체)은 동물 및 본 발명의 바이러스의 단백질에 결합하는 항체의 존재 여부를 알아보기 위해 스크리닝 된 혈청으로부터 구해진다. 예를 들어, 상기 플레이트 벽들이 HA 및/또는 NP 단백질 벽에 붙은 그 펩티드 단편을 가지는 곳에 ELISA 시험법이 실시될 수 있다. 그리고 나서 상기 플레이트 벽은 시험 동물의 혈청 또는 항체와 접촉된다. HA 및/또는 NP 단백질에 특이적으로 결합하는 동물 항체의 존재는 시험 동물이 본 발명의 인플루엔자 바이러스에 감염되는지 또는 감염되었는지의 여부를 가리킨다.

[0069] 일 실시예에서, 병리학적 작용체의 존재는 생물학적 표본에서 상기 작용체에 대한 항체들의 존재 또는 부재를 결정하여 검출된다. 동물이 감염된 후 어느 정도의 시간(예, 몇 달)이 걸리고 나서야 혈액 시험에서 항체들이 검출될 수 있다. 질병을 성공적으로 처리한 후라고 하여도 일단 형성되면 항체는 주로 수년 동안 지속한다. 개과 인플루엔자 A에 대한 항체들의 발견은 그 감염이 최근의 것인지 아니면 과거 어느 한 때의 것인지를 여부를 나타낼 수 없다.

[0070] 항체 시험은 유체(들)에도 실시될 수 있다. 항체 시험법들은 효소 결합 면역 흡수법(ELISAs), 간접 형광 항체(IFA) 시험법 및 웨스턴 블롯을 포함한다. 바람직하게는, 항체 시험은 예를 들어, ELISA 또는 IFA 실시한 후 웨스턴 블롯을 실시하는 것처럼 다중 시험법들을 이용하여 실시된다. 항체 시험은 Western 블롯 시험 전에 ELISA 또는 IFA 시험 중 하나를 사용한 2단계 과정으로 이루어질 수 있다. ELISA는 IFA 보다 더 신뢰성이 높고 정확한 시험법으로 여겨지지만, IFA는 ELISA가 이용 가능하지 않으면 이용될 수 있다. 상기 웨스턴 블롯 시험(좀 더 특이적인 시험이다)은 모든 동물들, 특히 ELISA 또는 IFA 시험법에서 양성 또는 경계선(borderline) 양성(두 가지 뜻)을 가진 동물들에게도 실시될 수 있다.

[0071] 인플루엔자 바이러스의 검출에 이용될 수 있는 다른 항체-베이스(based) 시험법은 적혈구응집반응 억제 시험법을 포함한다. 적혈구응집반응 활성은 설명된 것과 같이 닭 또는 칠면조 적혈구 세포들을 이용하여 동물로부터 얻는 생물학적 표본에서 검출될 수 있다(Burleson *et al.*, 1992 및 Kendal *et al.*, 1982). 일 실시예에서, 본 발명의 인플루엔자 또는 HA 단백질 또는 펩티드는 혈청 또는 항체를 포함하는 시험 표본과 접촉된다. 그리고 나서 새와 같은 동물의 적혈구 세포(red blood cell: RBC)들이 첨가 된다. 만약 HA에 대한 항체가 존재한다면, 상기 RBC는 접합(agglutinate)하지 않을 것이다. HA에 대한 항체가 존재하지 않으면, 상기 RBC는 HA의 존재시에 접합할 것이다. 표준 적혈구응집반응 억제 시험법에 변화 및 변형은 업계에 공지되어 있고 본 발명의 범위 내에서 의도된다.

[0072] 동물의 감염 여부는 비강 또는 비인후 면봉과 같은 표본으로부터 바이러스를 분리하여 결정될 수도 있다. 바이러스 분리는 세포 배양 및 알 접종(egg inoculation)을 포함한 표준 방법들을 이용하여 실시될 수 있다.

[0073] 또 다른 실시예에서, 본 발명의 바이러스의 검출을 위해 핵산-베이스 시험법이 이용될 수 있다. 일 실시예에서, 핵산 표본은 동물 및 핵산이 본 발명의 인플루엔자 바이러스에 특이적인 서열을 포함한다면 증폭 생성물을 발생시킬 프라이머들을 이용하는 PCR을 거치는 핵산으로부터 구해진다. 구체적인 일 실시예에서, RT-PCR은 피검 바이러스를 위한 시험법에 이용된다. 대표적인 일 실시예에서, 실시간 RT-PCR이 이용되어 본 발명의 인플루엔자

바이러스의 여부를 시험한다. PCR, RT-PCR 및 실시간 RT-PCR 방법들은 업계에 공지되어 있고 미합중국 특허 번호 4,683,202; 4,683,195; 4,800,159; 4,965,188; 5,994,056; 6,814,934; 및 Saiki *et al.* (1985); Sambrook *et al.* (1989); Lee *et al.* (1993); 및 Livak *et al.* (1995)에 설명되어 있다. 일 실시예에서, 상기 PCR 시험법은 인플루엔자 매트릭스(MA) 유전자 및/또는 HA 유전자에 특이적인 올리고뉴클레오티드들을 사용한다. 상기 증폭 생성물은 서열 배열되어 상기 생성물이 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 서열을 가졌는지 여부를 결정할 수 있다. 다른 핵산-베이스 시험법들이 이용되어 본 발명의 바이러스에 의한 바이러스 감염의 검출 및 진단에 이용될 수 있고 그러한 시험법들은 본 발명의 범위 내에서 의도된다. 일 실시예에서, 핵산을 포함하는 표본은 전진 프라이머(forward primer) 및 역전사 프라이머(reverse primer)가 바이러스 폴리뉴클레오티드 또는 유전자 서열에 특이적인 곳에서 상기 전진 프라이머 및 역전사 프라이머를 이용한 PCR-베이스 증폭을 거치게 된다. 만약 표본에 있는 상기 핵산이 RNA이라면, RT-PCR이 실행될 수 있다. 실시간 PCR에 대해, 검출 가능한 프로브가 프라이머들과 함께 이용된다.

[0074] 많은 순환하는 인플루엔자 바이러스들의 적혈구응집소(HA) 유전자에 특이적인 프라이머 세트들이 알려져 있고 계속적으로 개발되고 있다. 상기 인플루엔자 바이러스 게놈은 단일 가닥 RNA이고, DNA 카피(cDNA)는 역전사 효소(RT) 증합효소를 사용하여 제작되어야 한다. 예를 들어, RT-PCR을 이용한 상기 RNA 게놈의 증폭은 인플루엔자 A 아형들의 알려진 HA 서열 및 뉴라미니다아제-1(neuraminidase: NM-1)에 기초하여 일반적으로 설계된 올리고뉴클레오티드 프라이머들의 한 쌍을 필요로 한다. 상기 프라이머들은 오직 하나의 바이러스 아형의 RNA를 특이적으로 증폭하도록 선택될 수 있다. 아형-특이적 프라이머들을 이용함으로써 생성되는 DNA들은 서열화 (sequencing)과 같은 분자 유전자 기술들에 의해 더 분석될 수 있다. 상기 시험은 바람직하게는 양성 대조 비교로 운영되거나 생성물들이 공지된 서열화 및 공지된 서열들과의 비교에 의하여 확인 된다. 상기 PCR 생성물들 (즉, "음성적인" 결과)의 부재는 바이러스의 존재를 배제하지 않을 수 있다. 그리고 나서 임상 면봉들(clinical swabs) 또는 감염된 세포 배양액들 중 어느 하나로부터 몇 시간 이내에 결과들이 이용 가능하게 될 수 있다. 인플루엔자 A 바이러스에 대한 PCR 및 RT-PCR 시험들은 Fouchier *et al.*, 2000 및 Maertzdorf *et al.*, 2004에 의해 설명된다.

[0075] 또한, 본 발명은 본 발명의 바이러스에 대하여 항바이러스 활성을 가지는 혼합물 또는 약물들의 존재 여부를 스크리닝하는 방법들에 관한 것이다. 일 실시예에서, 본 발명의 바이러스로 감염된 세포들은 시험 화합물 또는 약물에 접촉된다. 접촉 후에 바이러스의 양 또는 바이러스 활성이 결정된다. 항바이러스 활성을 보이는 그러한 화합물 또는 약물들은 평가를 더 하기 위해 선택될 수 있다.

[0076] 본 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스로 감염된 분리된 세포들에 관한 것이기도 하다. 일 실시예에서, 상기 세포는 개과 신장 상피 세포(canine kidney epithelial cell)들과 같은 개과 세포이다.

[0077] 또한, 본 발명은 본 발명의 폴리펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드로 형질 전환된 세포들에 관한 것이다. 바람직하게는 상기 폴리뉴클레오티드 서열은 본 발명의 발현 구성체에 제공된다. 더 바람직하게는, 상기 발현 구성체는 본 발명의 작동 가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드의 세포에서 과잉발현을 제공한다. 일 실시예에서, 상기 세포는 서열 ID 번호: 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 또는 78 중 어느 하나에서 나타낸 아미노산 서열 또는 그 기능성 단편 또는 변형체를 인코딩하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 서열로 형질전환된다. 구체적인 일 실시예에서, 상기 세포는 서열 ID 번호: 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 또는 78에서 보인 아미노산 서열을 인코딩하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 서열로 형질전환되고, 서열 ID 번호: 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 또는 77, 각각에서 보인 뉴클레오티드 서열 또는 서열 ID 번호: 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 또는 78 중 어느 하나의 기능성 단편 또는 변형체를 인코딩 하는 서열을 포함한다. 따라서, 본 발명은 서열 ID 번호: 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 또는 77 중 어느 하나에서 나타낸 뉴클레오티드 서열 또는 서열 ID 번호: 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 또는 77 중 어느 하나의 퇴화 변형체를 포함한 단편 또는 변형체를 포함하는 폴리뉴클레오티드 서열로 형질 전환 된다.

[0078] 상기 형질 전환된 세포는 예를 들어, 원형질체들을 포함하여 식물 세포와 같은 진핵 세포이거나 예를 들어, 대장균(*E. coli*) 또는 바실러스 서브틸리스(*B. subtilis*)와 같은 박테리아 세포와 같은 원핵 세포일 수 있다. 동물 세포들은 인간 세포, 포유류 세포, 특히 개과 세포, 조류 세포 및 곤충 세포를 포함한다. 식물 세포는 쌍자

엽(dicotyledonous), 단자엽(monocotyledonous) 및 침엽수(conifer) 세포를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다.

- [0079] 본 발명은 본 발명의 바이러스 단백질 또는 폴리펩티드를 발현시키고 생산하는 형질 전환 식물을 포함한 식물에 관한 것이기도 한다. 식물, 식물 조직 및 본 발명의 폴리뉴클레오티드로 형질 전환되거나 본 발명의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 것으로 품종 개량된 식물 세포들은 본 발명에 의해 의도된다. 바람직하게는 본 발명의 상기 폴리뉴클레오티드는 식물, 식물 조직 또는 식물 세포에서 과다발현된다. 식물들이 사용되어 본 발명의 인플루엔자 백신 조성물들의 생성할 수 있고 상기 백신들은 식물의 소비(consumption)를 통해 투여될 수 있다(예들 들어, 미합중국 특허 번호 5,484,719 및 6,136,320 참조).
- [0080] 본 발명은 바이러스의 검출 또는 본 발명의 바이러스에 의한 감염 진단의 키트들에 관한 것이기도 하다. 일 실시예에서, 키트는 본 발명의 인플루엔자 바이러스 또는 그 항원 부분에 특이적으로 결합하는 본 발명의 항체를 포함한다. 구체적인 일 실시예에서, 상기 폴리펩티드들은 서열 ID 번호: 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 또는 78 중 어느 하나에서 나타낸 아미노산 서열 또는 그 기능성 및/또는 면역원성 단편 또는 변형체를 가진다. 또 다른 실시예에서, 키트는 본 발명의 하나 이상의 폴리뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드들을 포함한다. 구체적인 일 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오티드들은 서열 ID 번호: 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 또는 77 중 어느 하나에서 나타낸 뉴클레오티드 서열 또는 그 단편 또는 변형체를 가진다. 키트는 대조 비교 항체, 대조 비교 폴리펩티드 또는 펩티드 및/또는 대조 비교 폴리뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드를 선택적으로 포함할 수 있다. 상기 키트의 항체, 폴리펩티드들, 펩티드들, 폴리뉴클레오티드들 및/또는 올리고뉴클레오티드들은 적당한 용기 또는 포장으로 제공될 수 있다.
- [0081] 본 출원은 또한 인플루엔자 바이러스의 감염 및 병인론(pathogenesis)에 대한 모델로 잡종개들의 사용에 관한 것이다. 일 실시예에서, 잡종개는 본 발명의 개과 인플루엔자 바이러스와 같은 인플루엔자 바이러스로 접종된다. 선택적으로, 상기 개는 접종 이후에 치료 작용체가 투여될 수 있다. 상기 개에게 바이러스에 접종 되기 전에 인플루엔자 바이러스에 대한 면역 반응의 발생을 위한 조성물이 투여될 수도 있다. 조직, 혈액, 혈청 및 다른 생물학적 표본들은 접종 전 및/또는 접종 후에 구해질 수 있으며 PCR, RT-PCR, 핵산 서열화 및 면역조직화학(immunohistochemistry)을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는 방법들을 이용하여 바이러스의 존재 및 조직 병인론의 여부가 실험될 수 있다.
- [0082] 여기에 개시된 임의의 실시예의 임의의 요소는 여기에 개시된 임의의 다른 요소 또는 실시예와 결합될 수 있고 그러한 결합은 본 발명의 범위 내에서 구체적으로 의도된다.
- [0083] 여기에 언급되거나 인용된 모든 특허, 특허 출원, 임시 출원 및 간행물들은 그들이 본 명세서의 명시적인 교의들(teachings)에 어긋나지 않는 한 모든 숫자 및 표들을 포함하여 그대로 참조로 포함된다.
- [0084] 예 1-6에 대한 물질 및 방법들
- [0085] 그레이하운드의 혈액 및 비강 면봉(swab) 수집
- [0086] 호흡기 질병의 발병을 경험하고 있는 경주용 사육장에 있는 임상적으로 병들거나 정상인 그레이하운드들로부터 경부 정맥천자(jugular venipuncture)에 의하여 급성 및 회복중인 혈액 표본들이 수집되었다. 회복중인 표본들은 급성 표본 후 4 내지 12 주에 수집되었다. 혈청은 수거되어 -80 °C에서 저장되었다. 비강 면봉들이 수집되어 박테리아 분리를 위해 기탁 중인 숏(Becton Dickinson Biosciences)을 구비한 Amies 수송 배지에 옮겨 두었다.
- [0087] 그레이하운드들의 검시(postmortem examination)
- [0088] 플로리다 한 경주장에서 2004년 1월 발병으로 죽은 8마리의 그레이하운드들 중 5 마리에 대하여 University of Florida College of Veterinary Medicine(UF CVM) 소재의 해부 병리국(Anatomy Pathology Service)에 의하여 완전한 검시를 실시하였다. 다른 개의 검시는 한 개인 수의 진료소에서 실시되었고, 조직 병리학적 진단을 위해 UF CVM에 그 조직을 제출하였다. 조직들은 파라핀에 담겨 있는 10 % 중성 완충 포르말린에 고정 시키고 5- μ m 씩 섹션(section)들을 조직 병리학적인 진단을 위해 헤마톡실린(hematoxylin) 및 에오신(eosin)으로 염색하거나 아래에 설명된 것과 같이 면역조직화학을 위해 처리하였다. 고정되지 않은 조직들은 박테리아 배양을 위해 제출되었고 또한 -80 °C에서 저장되었다.
- [0089] 개과 바이러스 호흡기 병원체들에 대한 혈청학적 시험

- [0090] 급성 및 회복중인 쌍을 이룬 혈청 표본들이 개과 디스토프 바이러스, 아테노바이러스 2형 및 파라인플루엔자 바이러스에 대한 혈청 증성화 시험법을 위해 Cornell University College of Veterinary Medicine 소재 동물 건강 진단 실험실(Animal Health Diagnostic Laboratory: AHDL)에 제출되었다. 항체 정량들(tiers)은 세포 배양의 바이러스 감염을 억제하는 혈청의 마지막 희석으로 표현되었다. 급성 및 회복중인 표본 사이의 항체 정량에서 4-배 이상의 증가로 정의되는 혈청변환(seroconversion)은 바이러스 감염을 나타내었다. 이러한 바이러스 병원체들에 대한 어떠한 혈청변환도 검출되지 않았다.
- [0091] 개과 박테리아 호흡기 병원체들에 대한 미생물 시험
- [0092] 비강 면봉 및 검시 조직으로 쌍을 이룬 표본들이 박테리아 분리 및 확인을 위해 UF CVM 소재 진단 진료 미생물학/기생충학/혈청학국(Diagnostic Clinical Microbiology/Parasitology/Serology Service)에 제출되었다. 상기 표본들은 *Bordetella* 종(Regan-Lowe; Remel) 및 *Mycoplasma* 종(Remel)에 선택적인 배지 뿐만 아니라 비선택적인 배지에서 배양되었다. 모든 배양액들은 성장이 보고되지 않기 전 21 일 동안 두었다. 상기 몇몇 그레이하운드들의 비강 면봉들이 박테리아 배양을 위해 Kansas State University College of Veterinary Medicine 소재 진단 의학/병리학 국에 제출되기도 하였다. 임상적으로 병에 걸린 것으로 시험된 70 마리의 개들 중에 1 마리의 개의 비강으로부터 *Bordetella bronchiseptica*를 분리한 반면에 *Mycoplasma spp.*를 33 마리의 개의 비강으로부터 회수하였다. 파스투렐라균(*Pasteurella multocida*)은 화농성 비루(purulent nasal discharges)를 지닌 개들의 비강으로부터 주로 회수되었다. 2004년 1월 발병으로 죽은 개들 중 2 마리는 폐 검사에서 대장균(*Escherichia coli*)의 성장이 빈약하였는데, 개 한 마리는 *E. coli* 와 *Streptococcus canis*의 성장이 빈약하였던 반면에 나머지 한 마리는 *Pseudomonas aeruginosa* 와 효모의 성장이 빈약하였다. *Bordetella bronchiseptica*나 *Mycoplasma*의 어느 것도 죽은 개들의 기관 이나 폐에서 분리되지 않았다.
- [0093] 검시 조직들로부터 바이러스 분리
- [0094] 냉동된 조직들을 해동 시켜 0.5 % 소 혈청 알부민(bovine serum albumin: BSA) 및 항생제들로 보충된 최소 기본 배지(minimum essential medium(MEM))의 10 부피들로 균질화 시켰다(homogenized). 원심 분리법으로 고체 파편들을 제거하였고 상청액들이 배양 세포 및 10일 부화된 달걀들(10-day old embryonated chicken eggs)에 접종되었다. 죽은 그레이하운드들의 조직 균질액(homogenate)은 광범한 범위의 바이러스 병원체들의 복제를 지지하였던 다양한 세포 배양액들에 접종되었다. 세포 배양액들은 Vero(아프리카 녹색 원숭이 신장 상피 세포, ATCC No. CCL-81), A-72(개과 종양 섬유 아세포(canine tumor fibroblast, CRL-1542), HRT-18(인간 직장 상피 세포, CRL-11663), MDCK(개과 신장 상피 세포, CCL-34), 제1 개과 신장 상피 세포(primary canine kidney epithelial cells,)(AHDL, Cornell University), 제1 개과 폐 상피 세포(primary canine lung epithelial cells)(AHDL) 및 제1 소 고환 세포(primary bovine testicular cells)(AHDL)을 포함한다. MDCK 및 HRT 세포들은 2.5 ug/ml TPCK-처리된 트립신(시그마)으로 보충된 MEM에서 배양되었다; 나머지 세포계들은 10 % 태아 송아지 혈청과 항생제들로 보충된 MEM에서 배양되었다. 세포들은 37 °C, 5 % 이산화탄소를 포함하는 습기찬 대기에서 25 cm² 플라스크들에서 성장되었다. 대조 비교 배양은 보충된 MEM으로 접종 되었다. 상기 배양액들은 형태적 변화 여부를 위해 매일 관찰되었고 접종 후 5 일째 되는 날에 수거되었다. 수거된 유체와 세포들은 원심 분리법에 의하여 맑게 되었고 최초 접종을 위해 설명된 바와 같이 신선한 세포들로 접종 되었다; 블라인드 계대 접종(blind passage)이 2회 실시 되었다. 맑게 된 상청액들에서 적혈구응집소 활성은 설명된 바와 같이 닭 또는 칠면조 적혈구 세포들을 이용하여 측정되었다(Burleson *et al.*, 1992; Kendal *et al.*, 1982). 닭 배아에서의 바이러스 분리를 위해, 조직 균일체 0.1 mL이 요막낭에 접종되었고 35 °C에서 48 시간 동안 배양되었다. 블라인드 계대 접종 2회 후에, 상기 요막액에서의 적혈구응집소 활성은 설명된 바와 같이 결정되었다 (Burleson *et al.*, 1992; Kendal *et al.*, 1982).
- [0095] RT-PCR, 뉴클레오티드 서열화 및 계통발생적 분석
- [0096] 제조자 지시사항에 의하여 Rneasy 키트(Qiagen, Valencia, CA)를 이용하여 조직 배양 상청액 또는 요막액으로부터 전체 RNA가 추출되었다. 상기 전체 RNA(10 ng)는 제조자 지시사항에 의하여 1-단계 RT-PCR Kit(Qiagen, Valencia, CA)를 이용하여 cDNA로 역전사되었다. 상기 cDNA에서의 8 개 인플루엔자 바이러스 유전자들의 코딩 영역의 PCR 증폭은 보편적인 유전자-특이적 프라이머 세트들을 이용하여 상기에 서술된 바와 같이 실시되었다. 그 결과로 생긴 DNA 앰플리콘들(amplicons)이 사이클 서열화 염료 종결자 화학(cycle sequencing dye terminator chemistry)(ABI)를 이용하여 Applied Biosystems 3100 자동 DNA 시퀀서(sequencer) 상에서 자동 서열화를 위한 주형으로 사용되었다. GCG Package[®] Version 10.0 (Accelrys)(Womble, 2000)을 이용하여 뉴클레오

티드 서열들이 분석되었다. Phylogeny Inference Package[®] Version 3.5가 사용되어 계통 발생을 추정하였고 뉴클레오티드 서열들로부터 부트스트랩(bootstrap) 수치들을 계산하였다(Felsenstein, 1989). 계통발생학적 트리들이 MEGA[®] 프로그램(Kumar *et al.*, 2004)에서 실행된 Tamura-Nei 감마(gamma)를 지닌 이웃-연결(neighbor-joining) 분석에 의해 발생된 계통발생학적 트리들과 비교되었고 PAUP[®] 4.0 베타 프로그램(Sinauer Associates)에 의하여 확인되었다.

[0097] 개의 실험적 집중

[0098] 6 개월된 특이적 병원체가 없는 비글(beagle) 종 4 마리[2 마리는 수컷이고 2 마리는 암컷(Liberty Research)]를 사용하였다. 전혈 세포 계측(count)/감별(differential), 혈청 화학 패널(serum chemistry panel) 및 요 검사(urinalysis)를 포함한 물리적 검사 및 기본(baseline) 혈액 검사를 실시하여 상기 동물들이 건강하다는 판정을 내렸다. 이들을 Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care가 공인한 BSL-2 향상된(enhanced) 시설에 함께 수용하였다. 기본 직장(rectal) 온도를 7 일 동안 하루 2회씩 기록하였다. 상기 개들은 기관내관(endotracheal tube)으로 삽관법(intubation)을 위해 프로포폴(propofol)(Diprivan[®] Zeneca Pharmaceuticals, 효과 발생에는 0.4 mg/신체 중량 kg)의 정맥 주입에 의해 마취되었다. 각각의 개에게 A/Canine/Florida/43/2004(Canine/FL/04)(H3N8) 바이러스의 총 10^{6.6} 중간 조직 배양 전염성 투여량(median tissue culture infectious doses)(TCID₅₀)으로 접종시켰으며, 투여량의 절반은 기관내관을 통해 말단 기관(distal trachea)에 투여 하였고, 나머지 절반은 도관(catheter)을 통해 깊은 비강 통로(deep nasal passage)에 투여 하였다. 접종 후(p.i.) 14 일 동안 매일 2 회씩 물리적 검사 및 직장 온도 기록을 실시하였다. 접종 후 0, 3, 5, 7, 10 및 14일에 경부 정맥천자에 의해 혈액 표본들(4 mL)을 수집하였다. 폴리에스테르 면봉(Fisher Scientific)으로 각각의 개로부터 비강 및 비인후 시료들을 접종 후 0 내지 5, 7, 10 및 14 일에 수집하였다. 상기 면봉들을 바이러스 수송 배지(Remel)에 옮겨 넣어 -80 °C에 저장하였다. 검사를 위해 개 2 마리(1 마리는 수컷이고 1 마리는 암컷) 접종 후 5 일에 Beuthanasia-D[®] 용액(5 kg 체중 당 1 mL; Schering-Plough Animal Health Corp)을 정맥 접종에 의해 안락사 시켰고(euthanate) 나머지 2 마리는 14일 되는 날에 안락사 시켰다. 조직학적인 분석을 위해 조직들을 설명된 바와 같이 처리하였다. 바이러스 배양을 위한 조직들은 -80 °C에서 저장되었다. 본 연구를 University of Florida Institutional Animal Care and Use Committee에서 승인하였다.

[0099] 실험적으로 집중된 개들로부터 바이러스 증식(virus sheddings)

[0100] 원심 분리법에 의해 면봉 수송 배지를 정화시켜서 제조한 폐 균질물과 면봉 추출물들의 연속인 회석물들이 0.5 % BSA 및 항체들로 보충된 MEM에 설치되었다. 6-구(well) 조직 배양 플레이트들에 MDCK 세포들의 단일층들을 이용하여 플라크 시험법(plaque assay)을 설명된 바와 같이(Burleson *et al.*, 1992) 실시하였다. 집중된 세포 단일층을 0.8 % 아가로스 및 1.5 ug/mL TPCK-트립신을 포함하는 보충된 MEM으로 덮었다. 고정시켜 크리스탈 바이올렛(crystal violet)으로 염색하기 전에 5 % 이산화탄소를 포함하는 습기찬 대기에서 37 °C의 온도로 72 시간 동안 세포를 배양시켰다. 바이러스 농도는 조직 그램 당 또는 면봉 당 플라크 형성 단위(plaque forming units: PFU)으로 표현되었다.

[0101] 면역조직화학(Immunohistochemistry)

[0102] 그레이하운드 및 비글에서 파라핀을 제거하고 수분을 보충시킨 5-µm 폐 조직 섹션들을 Bond-Rite[™] 슬라이드(Richard-Allan Scientific, Kalamazoo, MI) 상에 장착하고 단백질가수분해효소 K(DakoCytomation, Carpinteria, CA)로 후속 처리하였고 이후 과산화효소 차단 시약(Dako[®] EnVision[™] Peroxidase Kit, Dako Corp.)을 사용하였다. 상기 섹션들을 개과 디스토펜 바이러스(VMRD, Inc.), 개과 아데노바이러스 유형 2(VMRD, Inc.), 개과 인플루엔자 바이러스(VMRD, Inc.) 또는 인플루엔자 A H3(Chemicon International, Inc.)에 단일 클론성 항체의 500:1 회석물로 상온에서 2 시간 동안 배양시켰다. 대조 비교는 동일한 섹션들을 쥐 IgG(1 mg/mL, Serotec, Inc.)으로 배양 과정 및 단일 클론성 항체들을 정상적인 개과 폐 섹션들로 배양 과정을 포함한다. 제 1 항체들로 처리한 후, 제조사 지시사항에 의하여 상기 섹션들을 제 2 면역과산화효소 및 과산화효소 기질 시약들(Dako[®] EnVision[™] Peroxidase Kit, Dako Corp.)로 배양시켰다. 상기 섹션들은 헤마톡실린(hematoxylin) 대비염색 시켰고, 클레리파이어(Clarifier) #2 및 블루잉 시약(Bluing Reagent)(Richard-Allan Scientific, Kalamazoo, MI)로 처리하였고, 탈수시키고, 커버슬립(cover slip)을 퍼마운트

(Permout)(ProSciTech)로 적용시켰다.

[0103] 적혈구응집반응 억제(HI) 시험법.

[0104] 혈청 표본들을 56 °C에서 60 분 동안 가열 비활성화(heat inactivation)시키기 전에 37 °C에서 16 시간 동안 수용체 파괴 효소(receptor destroying enzyme)(RDE, Denka)(1 part serum: 3 parts RDE)로 배양하였다. Influenza A/Canine/FL/04(H3N8) 바이러스는 37 °C에서 36-48 시간 동안 MDCK 세포에서 성장시켰다. 바이러스 배양 상청액들을 수거하여, 원심 분리법으로 정화시키고 -80 °C에서 저장하였다. 상기 HI 시험법은 이전에 설명된 바와 같이(Kendal *et al.*, 1982) 실시되었다. 간단히 말해서, 25 μ l에 바이러스 4 개의 적혈구응집소 단위들이 마이크로정량 웰들(wells)에서 동일한 부피의 계열적으로 희석된 혈청에 첨가되었고 상온에서 30 분 동안 배양되었다. 동일한 부피의 0.5 % v/v 칠면조 적혈구들의 첨가되고 적혈구응집반응 정량들이 30 분 후에 눈으로 측정되었다. 종말점(endpoint) HI 정량은 적혈구응집반응을 완전히 억제하는 혈청의 최종 희석으로 정의된다. 혈청변환은 급성 및 회복중인 쌍을 이루는 표본들 사이의 HI 정량에서 4-배 이상 증가로 정의된다. 단일 표본의 혈청반응양성(seropositivity)은 HI 항체 정량 \geq 1:32로 정의된다.

[0105] 마이크로뉴트럴리제이션(microneutralizaion: MN) 시험법.

[0106] A/Canine/FL/04(H3N8)에 대한 혈청 항체 반응의 중성화는 개과 혈청이 시험전에 상기에서 설명된 바와 같이 RDE-처리되었던 것을 제외하고는 상기에서 설명된 바와 같이 MN 시험법에 의해 검출되었다. 종말점 정량은 바이러스의 100 TCID₅₀을 50 % 중성화 시켰던 혈청의 최고 희석으로 정의된다. 혈청변환은 급성 및 회복중인 쌍을 이루는 표본들 사이의 MN 정량이 4-배 이상의 증가로 정의된다. 단일 표본의 혈청반응양성은 MN 정량 \geq 1:80으로 정의된다.

[0107] 이하는 본 발명을 실시하는 절차를 설명하는 예들이다. 이러한 예들은 한정적으로 해석되어서는 안 된다. 달리 특별한 언급이 없으면 모든 백분율은 중량에 의한 것이고 모든 용매 혼합물은 부피에 의한다.

[0108] 예 1

[0109] 2004년 1월에, 플로리다 경주장 2 개 사육장과 이 사육장에 개들을 공급하던 지역 농장에서 수용된 22 마리의 경주용 그레이하운드들에게서 호흡기 질병이 발생하였다. 각 사육장 건물에는 대략 60 마리의 개와 상기 농장에는 300 마리의 개들이 있었다. 상기 발병은 6-일간의 기간에 걸쳐 발생하였고, 이후 어떠한 새로운 발병 건도 확인되지 않았다. 상기 22 마리 개들 중 14 마리가 39.5 내지 41.5 °C의 열병을 앓았으며, 10 내지 14 일 동안 경증으로 숨막힐 만큼의 기침을 하였으며 결국 회복하였다. 나머지 8 마리 중에서 6 마리의 겉으로 보기에 건강한 개들이 입과 코에서 출혈을 일으키며 돌연히 죽었다. 다른 2 마리는 입과 코에서 출혈을 시작한지 24 시간 내에 급속한 악화로 인하여 안락사시켰다. 이들 개는 양쪽 모두 41 °C의 열병을 앓았다. 죽은 8 마리 중 4 마리는 사육장 건물에서 발생하였고 4 마리는 농장에서 발생하였다. 죽은 개들 중 50 퍼센트는 발병 한 지 3일에 발생하였다. 상기 22 마리는 태어난 지 17개월에서 4 살에 이르렀지만 73 %는 17 내지 33 개월 된 것이었다.

[0110] 2 건의 임상 증후군들은 차이가 뚜렷하였다: 초기 열병 이후 10-14 일간의 기침 이후에 회복하였거나 호흡기에 출혈과 관련된 과급성(peracute) 사망(8 마리 개는 사망률 36 %). 치사(fatal)한 8 마리 건 중 6 마리에 대하여 검사를 실시하였다. 모든 개들에게 폐, 종격(mediastinum) 및 흉막강에 광범한 출혈이 있었다. 기도를 조직학적으로 검사하면 폐출혈 이외에, 모든 개들이 기관염(tracheitis), 기관지염(bronchitis), 세기관지염(bronchiolitis) 및 화농성 기관지폐렴(suppurative bronchopneumonia)(도 3)을 앓은 것으로 드러났다. 이런 조직들에서 상피 내막 및 기도 루멘들(epithelial lining and airway lumens)은 호중구(neutrophil) 및 소식세포(microphage)들에 의해 침투되었다. 이러한 개들에서 준비한 폐 균일체들은 바이러스 배양을 위해 광범위하게 원숭이, 인간, 소 및 개과 세포계들에 접종되었다. 개 1 마리에서 나온 폐 균일체는 트립신이 존재한 곳에서 배양시킨 Madin-Derby 개과 신장 상피 세포(MDCK)에 세포변성(cytopathic) 효과를 야기시켰고, 상기 세포 배양 상청액은 닭 적혈구 세포들을 접합 시켰다. 인플루엔자 A 형 바이러스의 예비적 증거는 인플루엔자 A 및 B 바이러스들의 핵단백질 검출을 위해 상용 ELISA 및 인플루엔자 A 바이러스들의 매트릭스 유전자에 특이적인 프라이머들을 이용한 PCR 분석에 의하여 제공되었다. 또한, 적혈구응집반응 활성은 인간 인플루엔자 A 아형 H1-H11 및 H13(표 3)에 특이적인 항혈청에 의해서가 아니라, 말 인플루엔자 A H3 아형에 기준 항혈청에 의해 억제된다. 바이러스의 분자적 성질을 특성 기술하기 위하여, 우리는 바이러스 게놈의 8개의 상기 RNA 세그먼트들의 뉴클레오타이드 서열들을 결정하였다. 공지된 인플루엔자 바이러스와 서열 비교 및 계통발생적 분석을 통해 개과 분리군(isolate) 8개 유전자들은 현대 말 인플루엔자 A(H3N8) 바이러스로부터 유래한 것과 매우 유사하며 96-97 % 이상의 서열 일치성을 공유하는 것으로 나타났다(도 1 A, 표 4). 이에 비하여, 조류, 돼지 및 인간 인플루엔자 A

분리군들로부터 유래한 대표적인 유전자들은 개과 분리군과 $\leq 94\%$ 동일성을 가졌다. 이러한 데이터는 개과 분리군 A/Canine/Florida/43/04(Canine/FL/04)를 말 인플루엔자 바이러스들의 현대적 혈군(lineage)에 밀접하게 관련된 인플루엔자 A H3N8 바이러스로 확인하였다. 개과 분리군의 모든 유전자들은 말 인플루엔자 바이러스 기시(origin)였기 때문에, 우리는 개과 인플루엔자 바이러스의 전체 게놈이 개에서 전해졌다고 결론을 내렸다.

[0111] 예 2

[0112] 그레이하운드들에게서 임상 및 병리적 관찰에 Canine/FL/04의 역할을 조사하기 위하여, 우리는 인플루엔자 A H3에 단일 클론성 항체를 이용하여 폐 조직들에 대한 면역조직화학적 염색(immunohistochemical staining: IHC)를 실시하였다. 바이러스 H3 항원은 기관지 및 세기관지 상피 세포, 기관지 샘 상피 세포 및 기도 루멘들과 폐포강(alveolar space)들에서의 대식 세포(macrophage)들의 세포질에서 일관되게 검출되었다(도 2A). 이러한 데이터는 많은 개들에서 H3 아형의 인플루엔자 바이러스로 폐 감염의 진단을 지지한다.

[0113] 예 3

[0114] 호흡기 질병 발병의 병인에 Canine/FL/04 유사(like) 바이러스의 포함 여부를 결정하기 위해, 우리는 11 마리의 병든 개들과 적혈구응집반응 억제(HI) 및 마이크로뉴트리리제이션(MN)에 의한 16 건의 무증후반응 접촉으로부터 급성 및 회복중인 혈청들을 분석하였다. 급성에서 회복중인 상태로 Canine/FL/04에 항체 정량의 4배 증가로 정의된 혈청변환은 양쪽 시험법들에서 11 마리의 병든 개들 중 8 마리에서(73%) 발생하였다(표 1). 혈청변환은 HI 시험법에서는 16 건의 무증후반응 접촉 중 6 건(38%)에서 발생하였던 반면에, MN 시험법에서는 16 건 중 8 건이 혈청변환되었다(표 1). 상기 혈청변환 데이터는 대부분의 동물들에서 호흡기 질병의 시작과 일시적으로 일치하는 Canine/FL/04 유사 바이러스로 개가 감염되었음을 실증하였다.

[0115] 단일 혈청 표본들은 병든 개들과 함께 수용된 46 마리의 추가적인 무증후반응 개들로부터 발병이 일어난 지 3개월 후에 수집되었다. 이들 중에, 43 마리(93%)는 양쪽 시험법들 모두에서 혈청양성이 되었다. 전체 73 마리의 시험된 개체군에 대해, 병든 개의 82%(9/11) 및 건강한 접촉군의 95%(59/62)를 포함하여 93%가 혈청양성이었다. 호흡기 질병의 병력이 없는 개에서 높은 혈청학적발현율(seroprevalence)은 대부분의 개과 인플루엔자 바이러스에의 감염은 무증상(subclinical)이고 개들 사이에서 바이러스가 효과적으로 퍼지는 것을 나타낸다. 무증상 감염이 바이러스의 유포에 공헌하는지의 여부는 알려져 있지 않다.

[0116] 예 4

[0117] 개들을 감염시키는 Canine/FL/04 바이러스의 능력을 좀 더 잘 이해하기 위해, 6개월된 목적-번식시킨(purpose-bred) 4마리의 비글종들에게 $10^{6.6}$ 중간 조직 배양 전염성 투여량(TCID₅₀)으로 기관내 및 비강내 경로에 의해 각각 접종 시켰다. 모든 개들은 접종 후(p.i.) 첫 2일 동안 열병(직장 온도 $\geq 39\text{ }^{\circ}\text{C}$)으로 발전하였지만, 아무도 14일의 관찰 기간에 걸쳐서 기침 또는 비루와 같은 호흡기 증후군들을 보이지 않았다. 비강 및 비인후 면봉들에서의 바이러스 수치화에 의해 바이러스 증식이 검사되었다. 4마리 개들 중 2마리만 검출할 수 있는 만큼의 바이러스 양을 증식하였다. 1마리 개는 접종 후 1일 및 2일에 바이러스를 증식한 반면에(면봉 당 1.0-2.5 log₁₀ PFU) 다른 1마리는 접종 후 연속 4일 동안 바이러스를 증식하였다. 접종 후 5일에 2마리를 검사하여 괴사(necrotizing) 및 그레이하운드들에서의 자발성 질병에 발견되는 것과 유사한 과형성 기관염(hyperplastic tracheitis), 기관지염 및 세기관지염을 가진 것을 드러냈지만 폐 출혈 또는 기관지폐렴(bronchopneumonia)는 없었다. 바이러스 H3 항원은 면역조직화학적 염색(IHC)에 의해 기관지, 세기관지 및 기관지 샘들의 상피 세포의 세포질에서 검출되었다(도 2B). 감염성 바이러스는 상기 개들 중 한 마리의 폐 조직으로부터 회수되었다. 접종 후 14일에 남아있는 2마리 개들을 검사하면 호흡기 조직에서 최소한의 조직학적인 변화를 보였고, IHC에 의한 어떠한 바이러스 H3 항원도 없었고, 폐 균질체로부터 바이러스의 어떠한 회수도 없었다. 접종 후 7일까지 MN 시험법에서 이러한 2마리 개들의 혈청변환이 검출되었고, 14일까지 항체 정량에서 2 내지 3배 증가가 더 있었다. 이러한 결과는 발열 반응(febrile response), 폐 유조직에서의 바이러스 항원 및 감염성 바이러스의 존재, 인플루엔자에 대표적인 조직병리학적 소견(findings) 및 혈청변환에 의해 명시된 바와 같이 개들이 Canine/FL/04에의 감염에 감수성이 강함을 입증하였다. 실험적으로 접종된 비글들에게서 심각한 질병 및 사망이 재현되지 않았다는 사실은 자연적으로 감염된 그레이하운드의 많은 비율은 무증상적이라는 이유로 인해 그리 놀랄 일이 아니다.

[0118] 예 5

[0119] Canine/FL/04-유사 인플루엔자 바이러스가 2004년 1월 발병 이전에 플로리다의 그레이하운드 개체군들 사이에

유폐되었는지의 여부를 조사하기 위하여, 65 마리의 경주용 그레이하운드들로부터 보존용 혈청들(archival sera)을 HI 및 MN 시험법들을 이용하여 Canine/FL/04에 대한 항체의 존재 여부를 시험하였다. 1996년에서 1999년까지 표본된 33 마리의 개들에서 검출될만한 항체들은 없었다. 2000년에서 2003년 사이에 표본된 32 마리의 개들 중에 9 마리는 양쪽 시험법 모두에서 혈청 민감하였고, 2000년에는 1건, 2002년에는 2건 그리고 2003년에는 6건이 그러하였다(표 5). 상기 혈청 민감성 개들은 1999년에서 2003년까지 알려지지 않은 병인의 호흡기 질병의 발병들에 포함된 플로리다 경주장들에서 발견되었는데, 이는 Canine/FL/04-유사 바이러스는 그러한 발병들의 원인 인자(causative agent)일 수 있음을 암시한다. 이러한 가능성을 더 조사하기 위하여, 우리는 2003년 3월에 출혈성 기관지폐렴으로 죽은 그레이하운드들로부터 보존용 조직들(archival tissues)을 검사하였다. MDCK 세포들에 접종된 폐 균질체들 및 개 한 마리에서 나온 닭 배아들은 A/Canine/Florida/242/2003이라 칭한 H3N8 인플루엔자 바이러스를 내어 놓았다(Canine/FL/03). Canine/FL/03의 완전한 게놈을 서열 분석하면 Canine/FL/04 (표 4)에 $\geq 99\%$ 이상 동일성이 있는 것으로 드러났는데, 이는 Canine/FL/04-유사 바이러스들은 2004년 이전에 그레이하운드를 감염시켰음을 나타낸다.

[0120] 예 6

[0121] 2004년 6월에서 8월까지, Florida, Texas, Alabama, Arkansas, West Virginia 및 Kansas 주의 14개 경주장들의 경주용 그레이하운드 수천 마리들에서 호흡기 질병 발병이 있었다.

[0122] 일부 경주장들의 임원들은 적어도 80%의 개 개체군이 임상적 질병을 가진 것으로 추산하였다. 대부분의 개들은 2004년 1월 발병 때의 개들과 유사한 ($\geq 39^\circ\text{C}$)의 열병 임상증상 및 기침을 보였지만, 많은 개들이 점액 농축성 비루(mucopurulent nasal discharge)도 보였다. 다수의 사망 사례가 보고되었지만 정확한 치사율은 측정될 수 없었다.

[0123] 우리는 플로리다의 4개 경주장에 있던 94 마리의 개들로부터 급성 및 회복중인 짝을 이룬 혈청을 수집하였다: 그 중 56%는 Canine/FL/04에 항체 정량이 4배 이상 증가 하였고, 100%가 혈청 민감성이었다(표 6). West Virginia 및 Kansas의 29 마리 개들로부터 회복중인 혈청도 Canine/FL/04에 항체들을 가졌다. 우리는 Texas의 한 경주장에서 출혈성 기관지폐렴으로 죽은 그레이하운드의 폐로부터 인플루엔자 A(H3N8) 바이러스를 분리하였다. A/Canine/Texas/1/2004(Canine/TX/04)이라 칭한 본 균주체의 전체 게놈을 서열 분석하면 Canine/FL/04와 $\geq 99\%$ 동일성이 있음이 드러났다(표 4). 경주용 그레이하운드들 사이에 널리 퍼진 감염의 실질적인 혈청학적 증거와 함께 13개월 개간에 걸쳐 치명적인 건들 및 다른 지리적 위치로부터 밀접하게 관련된 인플루엔자 바이러스들을 3가지 분리할 수 있었던 것은 개 개체군에서 Canine/FL04-유사 바이러스의 지속적인 유폐가 있었음을 암시한다.

[0124] Canine/FL/03, Canine/FL/04 및 Canine/TX/04의 적혈구응집소 유전자들을 계통발생학적으로 분석하면 2002년과 2003년에 분리된 말 바이러스들의 현대적인 H3 유전자들과는 확연히 구별되는 강한 부트스트랩 지지체와 함께 단계군(monophyletic group)을 형성하는 것을 보였다(도 1B). 계통발생적 분석과 다른 7개의 계노믹 세그먼트들의 짝을 지으며(pairwise) 뉴클레오티드 서열을 비교하면 개과 유전자들을 말 바이러스 혈근(테이더 미도시 및 표 4)과 가장 밀접하게 관련된 뚜렷한 아-혈근(sub-lineage)으로 나누어짐(seggregation)을 지지하였다(표 4). 말 인플루엔자로부터 분리된 단계군으로 개과 인플루엔자 유전자들을 무리지음(clustering)도 상기 적혈구응집반응에서 4개의 신호 아미노산 변화가 존재한 다는 사실로 지지되기도 한다(표 2). 2003년과 2004년의 혈청학적 결과들과 함께, 이러한 데이터는 말에서 개로 단일 바이러스가 전염되어 그레이하운드 개체군에 후속적으로 바이러스가 수평적으로 퍼지게 되는 사건과 일치한다. 그러나, 확인되지 않은 병원균 보유자 종들(reservoir species)로부터 이러한 독특한 혈근의 인플루엔자 바이러스를 반복해서 도입하게 되면 비록 그럴 것 같지 않다 하더라도 공식적으로 배제될 수 없다.

[0125] 상기 바이러스 적혈구응집소는 인플루엔자 바이러스의 숙주 종 특이성의 중요한 결정 인자이다. 개과 숙주에의 적응과 연관될 수 있는 적혈구응집소 내에서의 잔존물들을 확인하기 위하여, 우리는 개과 적혈구응집소들의 추론된 아미노산 서열을 현대 말 바이러스들의 서열들과 비교하였다. 4개의 아미노산 변화는 상기 말과 개과 성숙한 적혈구응집소 일치 아미노산 서열들을 구별짓는다: N83S, W222L, I328T 및 N483T(표 2 참조). 상기 개과 바이러스들은 일치(consensus) 말 서열들과 비교시에 아미노산 결실을 가진다. 그러므로, HA 말 서열에서의 아미노산 위치 7은 HA 개과 서열에서의 위치 6이고, HA 말 서열에서의 아미노산 위치 29는 HA 개과 서열에서의 위치 28이고, HA 말 서열에서의 위치 83은 HA 개과 서열에서의 위치 82이다. 따라서, 상기 4개의 치환된 아미노산들은 서열 ID 번호: 33 및 서열 ID 번호 34에 보인 아미노산 서열의 위치 82, 221, 327 및 482에 있다. 일치 서열 위치 83에서 아스파라긴(asparagines)을 세린(serine)으로 치환하면 다양한 극성 잔존물들이 다른 종으로부터

유래한 H3 분자들에 발견되기 때문에 알려지지 않은 기능적 중요성의 변화이다. 상기 H3 HA의 쪼개짐 사이트 근처의 일치 서열 위치 328에서의 엄격히 보존된 이소류신(isoleucine)은 트레오닌으로 대체된다. 병인론에서의 숙주 단백질가수분해효소들에 의한 HA 쪼개짐의 중추적인 역할은 이러한 변화가 연구를 더 할 가치가 있음을 암시한다. 일치 서열 위치 222에서 트립토판을 류신으로 대체하면 이는 수용체 기능을 조절할 수 있는 시알릭산 구속 포켓(pocket)에 인접한 비-보존적 변화를 표현하기 때문에 상당히 주목할 만하다(Weis et al., 1988). 위치 222에서의 류신의 위치는 류신이 일반적으로 HA, H8, H9 및 H12 HA 아형들에서 발견되기 때문에 개과 H3 HA에 특유하지 않다는 사실은 흥미롭다(Nobusawa et al., 1991; Kovacova et al., 2002). 상기 류신 치환은 돼지를 아형 H4(Karasin et al., 2000) 및 인간과 돼지를 아형 H9(Peiris et al., 1999) 바이러스들로 감염시킨 사례가 보고 되었기 때문에 포유류 숙주들에 바이러스 특이성과 더욱 융화적일 수 있다. 일치 서열 위치 483에서 아스파라긴을 트레오닌으로 치환하면 모든 HA 아형들이 보존되는 HA2 서브유닛에서의 당부가(glycosylation) 사이트가 손실되게 되었다(Wagner et al., 2002). 말 바이러스의 개로의 적응(adaptation)하기 위하여 HA에서의 이러한 아미노산 변화들의 중요성이 여전히 결정되어야 할 것임에도 불구하고, 유사한 아미노산 변화가 종간 전달(interspecies transfer)과 연관하여 이전에 관찰되었다(Vines et al., 1998; Matrosovich et al., 2000). 본 발명의 다른 인플루엔자 바이러스 단백질들과 말 일치 서열사이의 아미노산 차이는 표 19 내지 25에 보여진다.

[0126] 경주용 그레이하운드들을 최초로 감염시켰던 말 인플루엔자 바이러스의 원천(source)은 여전히 확실하지 않다. 그레이하운드 경주장에서의 사육장들은 말 이나 말 경주장 근처에 위치하지 않는데, 이는 그레이하운드들과 발산 말들 사이의 접촉은 2004년에 다른 주들에서의 다발적인 발병에 대한 충분한 설명이 되지 않는다는 것을 암시한다. 말 바이러스에 노출되는 잠재적인 원천은 말고기를 그레이하운드들에게 먹이는 것으로, 그레이하운드의 먹이가 인플루엔자를 옮길 수 있는 말들을 포함하여 죽은 고기를 가공하는 식품 가공 공장들(packaging houses)에서 공급한 날고기로 보충된다. 이러한 종류의 감염의 선례는 감염된 닭 사체를 먹인 돼지와 동물원에 H5N1 조류 인플루엔자 바이러스가 종간 전염된다는 보고를 포함한다. 비록 이것이 말 인플루엔자를 개에게로 최초로 도입하는 그럴싸한 경로라고 할지라도, 최근에 다른 주들에서 수천 마리의 개들에게 다발적으로 인플루엔자가 발병한 사례들을 설명하지 않는다. 우리의 실험적인 접촉 연구는 비록 크지 않는 정량이라 할지라도 개의 비도 및 비인후에 바이러스가 존재함을 실증하였다. 그럼에도 불구하고, 이러한 결과들은 증식(shedding)이 가능하며 큰 방울의 에어로졸, 비생체접촉매개물(fomites) 또는 직접적인 접막 접촉에 의한 바이러스의 1:1 전염은 본 질병의 동물전염병학에 중요한 역할을 할 수 있을 것임을 나타낸다.

[0127] 전체 포유류 인플루엔자 바이러스의 관련되지 않은 포유 동물에로의 종간 전달은 흔치 않은 사례이다. 이전 연구에서는 인간 인플루엔자 A(H3N2) 바이러스들의 개에 대한 일시적인 감염의 제한된 혈청학 또는 바이러스학적인 증거를 제공했지만, 양쪽 모두 다를 제공하지는 않았다.(Nikitin et al., 1972, Kibourne, et al., 1975; Chang et al., 1976; Houser et al., 1980). 그러나, 개과 숙주에는 지속적인 유행에 대한 증거는 없다. 비록 돼지 인플루엔자 바이러스가 돼지에게서 사람에게로 직접 전달의 기록이 잘 되어 있다 하여도(Dacso et al., 1984; Kimura et al., 1998; Patriarca et al., 1984; Top et al., 1977), 돼지 바이러스의 인간 숙주에서의 적응에 대한 증거는 없다. 본 보고서에서, 우리는 전체 말 인플루엔자 A(H3N8) 바이러스의 다른 포유류 종인 돼지에게로 종간 전염에 대한 바이러스학적, 혈청학적 및 분자적 증거를 제공한다. 미국 여러 주들에서의 개 감염의 혈청학적 확인과 결부시켜 개과 바이러스 적혈구응집소에서의 독특한 아미노산 치환은 상기 바이러스의 개과 숙주에의 적응을 암시한다. 개는 인간과는 제1의 반려 동물이기 때문에, 이러한 소견은 공공 건강에 의미가 있다; 개는 신규한 인플루엔자 A 바이러스들의 인간에로의 전염에 새로운 원천을 제공할 수 있다.

표 1

[0128] 표 1. A/Canine/Florida/43/04(H3N8)에 대한 항체 반응

반응	병든 개들(11) ^a		건강한 접촉(16) ^b	
	HI ^c	SN ^d	HI	SN
혈청변환(%) ^e	73	73	38	50
혈청양성(%) ^f	82	82	100	100
기하 평균 정량 ^g	329	424	268	431

- [0129] ^a질병의 임상 징후를 가진 개들의 수.
- [0130] ^b임상적으로 질병을 지닌 개들과 접촉된 채 수용된 무증후성 개들의 수.
- [0131] ^cA/Canine/Florida/43/04 바이러스를 이용한 적혈구응집반응(HI) 시험법.
- [0132] ^dA/Canine/Florida/43/04 바이러스를 이용한 마이크로뉴트럴리제인션(MN) 시험법.
- [0133] ^e급성 및 회복중인 쌍을 이룬 혈청 표본들에 있어서 항체 정량이 적어도 4-배 증가한 개들의 백분율.
- [0134] ^f상기 회복중인 혈청에서의 양성 항체 정량(HI 정량 \geq 32: MN 정량 \geq 80)을 지닌 개들의 백분율.
- [0135] ^g상기 회복중인 혈청에 대한 기하 평균 항체.

표 2

[0136] **표 2.** 개과 및 말 H3 적혈구응집소간의 아미노산 차이.

말 H3 일치	Can/FL/03	Can/FL/04	Can/TX/04	잠재적 기능적 중요성
G7 [*]	D	-†	-	오리 및 인간 H3 HA에서 D 도 발견
I29	-	M	M	I는 모든 종류로부터 H3 HA들에 보존된다
N83	S	S	S	다양한 극성 아미노산들이 다른 종류들의 H3 HA들에서 본 위치에 존재
S92	-	N	-	N은 일부 오리 H3 HA들에서 존재한다
L118	-	-	V	L은 모든 H3 HA들에서 보존된다
W222	L	L	L	W는 모든 종류의 대부분의 H3 HA들에서 보존된다; 상기 수용체 결합 사이트 근처에 위치한다
A272	V	A	V	V는 일부 최근의 말 분리체들에서 존재한다
I328	T	T	T	T는 모든 조류, 돼지 또는 인간 H3 HA들에서 엄격히 보존된다
N483	T	T	T	N은 모든 H3 및 다른 HA 아형들에서 발생한다. 대체하면 당부가 사이트가 손실된다.
K541	-	R	-	염기성 아미노산 보존 변화

[0137] ^{*}H3 HA에서의 아미노산 잔존물(한 글자 코드) 및 위치. 상기 아미노산 코드는: A=알라닌, D=아스파르트산, G=글리신, I=이소류신, K=리신, L=류신, M=메티오닌, N=아스파라긴, R=아르기닌, S=세린, T=트레오닌, V=발린, W=트립토판.

[0138] [†]는 일치(consensus) 말 H3 HA들로부터 아무런 변화가 없음을 나타낸다.

표 3

[0139] **표 3.** 다른 HA 아형들에 기준 항혈청들에 의한 바이러스 분리체의 적혈구응집소 억제

기준 항혈청	HA 특이성	HI 정량 ^a
Puerto Rico/8/34	H1	5
Swine/Iowa15/30	H1	5
Singapore/01/57	H2	5
Shanghai/11/87	H3b	5
Equine/Miami/1/63	H3	160
Duck/Czechoslovakia/56	H4	5
Tern/South Africa/61	H5	5
Turkey/Massachusetts/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
정상인 양 혈청	-	5
정상인 양 혈청	-	5

[0140] ^a 개 #43으로부터 바이러스 분리체에 적혈구응집소 억제.

[0141] ^b 폴리클로날 항혈청들은 흰 족제비들에게서 생성되었던 반면에, 다른 모든 항혈청들은 양 또는 염소들에게서 생성되었다.

표 4

[0142]

유전자	말	조류	돼지	인간
PB2 DQ124147	96.9(98.7) ^a Eq/Kentucky/2/8 M73526	88.6(96.8) Mall/Alberta/98/85 AY633315	87.9(96.8) Sw/Ontario/ 01911-1/99 AF285892	86.2(96.4) PR/8/34 (HK/213/03) AF389115 (AY576381)
PB1 DQ124148	97.1(98.8) Eq/Tennessee/5/86 M25929	83.9(97.1) Ck/BritishColumbia/04 (Gull/Md/704/77) AY61675(M25933)	83.9(97.1) Sw/Korea/S109/04 (Sw/Saskatch/ 18789/02) AY790287 (AY619955)	83.9(97.1) WSN/33 (Sing/1/57) J02178 (M25924)
PA DQ124149	96.3(97.5) M26082 Eq/Tennessee/5/86	87.0(94.3) Ck/Chile/4591/02 (Ostrich/SA/09103/95) AY303660(AF508662)	84.3(94.6) Sw/Hong Kong/ 126/02 M26081	83.8(93.4) Taiwan/2/70 (Viet Nam/ 1203/04) AY210199 (AY818132)
HA(H3) DQ124190	97.4(97.1) Eq/FL/1/93 L39916	80.7(89.0) Dk/Norway/1/03 AJ841293	80.0(87.7) Sw/Ontario/42729a/01 AY619977	81.8(87.9) HK/1/68 AF3478176
NP DQ124150	96.6(97.9) Eq/Tennessee/5/86 M30758	87.9(95.1) Ck/Chile/176822/02 AY303658	85.4(93.5) Sw/Ontario/42729a/01 (Sw/Fujian/1/2003) AY619974 (AY747611)	84.7(93.0) HK/1073/99 (Hong Kong /538/97 AF2555742 (AF255751)
NA(N8) DQ124151	96.8(97.0) Eq/Tennessee/5/86 L06583	84.0(85.2) Dk/NJ/2000 L06583	na ^b	na ^b
M DQ124152	96.8(95.7) Eq/Tennessee/5/86 (Eq/Kentucky/92) M63529 (AF001683)	94.1(94.0) Tky/Mn/833/80 AF001683	93.7(93.5) Sw/Saskatchewan/ 18789/02 M63527	91.2(95.4) WSN/33 (Hong Kong/ 1073/99) J02177 (AJ278646)

NS DQ124153	97.5(95.7) Eq/Tn/5/86 (Eq/Kentucky/92) M80973 (AF001671)	92.0(90.4) Mal/NY/6750/78 M80945	91.1(89.1) Sw/China/8/78 (Sw/Korea/s452/04) M80968(A Y790309)	91.4(90.0) Brevig Mission/1/18 AF333238
----------------	--	--	--	--

[0143] ^a상기 종으로부터 인플루엔자 바이러스 분리체들의 가장 상동성인 유전자에 A/Canine/Florida/43/04(H3N8) 유전자들의 퍼센트 뉴클레오티드 및 아미노산(괄호) 서열 동일성 이후 그 유전자 은행 서열 데이터베이스 등록 번호가 온다.

[0144] ^b이용 불가: N8 뉴라미니다제는 인간 또는 돼지 바이러스들에서 보고되지 않았다.

표 5

[0145] **표 5.** 1996년 부터 2003년까지 수집된 그레이하운드 혈청에서의 A/canine/Florida/43/04(H3N8)에 대한 항체 정량

	년도 ^a					
	1996	1997	1998	2000	2002	2003
시험된 개들의 수	8	6	19	4	6	22
혈청양성인 개들의 수	0	0	0	1	2	6
항체 정량 ^b				512	232,524	280-2242

[0146] ^aFlorida 주의 경주용 그레이하운드들의 혈청 표본 수집 년도.

[0147] ^b상기 6 마리의 2003년도 혈청양성인 개들에 대한 범위를 포함하여, 혈청양성인 개들에 대한 마이크로뉴트리제이션 시험 항체 정량.

표 6

[0148] **표 6.** 2004년 6월에 Florida 경주장 4 군데에서 경주용 그레이하운드들의 A/canine/Florida/43/04(H3N8)에 대한 항체 반응

반응	경주장 A	경주장 B	경주장 C	경주장 D
시험된 개들의 수 ^a	37	10	22	25
혈청변환(%) ^b	46	90	100	64
혈청양성(%) ^c	100	100	100	100
기하 평균 정량	401	512	290	446

[0149] ^aA/canine/Florida/43/04(H3N8)을 이용하여 HI에 의하여 시험된 임상적으로 병든 개들의 수.

[0150] ^b급성 및 회복중인 혈청 사이의 항체 정량에서의 4-배 증가된 개들의 백분율.

[0151] ^c회복중인 혈청에서의 양성 항체 정량(HI 정량 > 16)를 지닌 개들의 백분율.

[0152] ^d회복중인 혈청에 대한 기하 평균 항체 정량.

[0153] 예 7-11에 대한 물질 및 방법들

[0154] 개과 조직들

[0155] 북동 플로리다 주의 한 보호시설에서 인플루엔자가 발병하는 동안 2005년 4월/5월에 죽은 6 마리의 잡종 개들 및 남서 플로리다 주의 한 수의과 진료소에서 인플루엔자가 발병하는 동안 2005년 5월에 죽은 한 마리의 애완용 Yorkshire Terrier에 대하여 Anatomic Pathology Service at the University of Florida College of

Veterinary Medicine에서 검시를 실시하였다. 조직들은 파라핀에 담겨 있는 10 % 중성 완충 포르말린에 고정 시키고 5- μm 씩 섹션(section)들을 조직 병리학적인 진단을 위해 헤마톡실린 및 에오신으로 염색하였다. 고정되지 않은 조직들은 바이러스학적 분석을 할 때까지 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에서 저장되었다.

[0156] 개과 조직 표본들로부터 RNA 추출

[0157] 상기 7 마리의 개들 각각으로부터 냉동된 폐 조직들을 해동 시켜 일회용 조직 분쇄기(Kendall, Lifeline Medical Inc., Danbury, CT)를 이용하여 0.5 % 소 혈청 알부민(BSA) 및 항생제들(젠타마이신 및 시프로플록사신(ciprofloxacin))로 보충된 최소 기본 배지(minimum essential medium(MEM))에 균질화 시켰다(homogenized). 전체 RNA를 제조사 지시사항에 의하여 상업적인 키트(RNeasy[®] Mini Kit, QIAGEN Inc., Valencia, CA)를 이용하여 추출하였고 완충 용액 60 μl 최종 부피에 용리(elute)시켰다. 전체 RNA도 호흡기 질병 없는 개들로부터 수집된 폐 조직으로부터 추출되었다.

[0158] 실시간 RT-PCR

[0159] 단일-단계 양적 실시간 RT-PCR을 ROX를 포함하는 QuantiTect Probe RT-PCR Kit을 수동적인 기준 염료(passive reference dye)(QIAGEN Inc., Valencia, CA)로 이용하여 개과 조직 표본들로부터 추출된 전체 RNA에 대하여 실시하였다. 간단히 말해서, 각각의 표본에 인플루엔자 A 서열들의 검출을 위해 2 개의 프라이머-프로브 세트들이 사용되었다(표 7). 하나의 프라이머-프로브 세트는 개과 적혈구응집소(H3) 유전자 서열들에 선택적이었다. 나머지 프라이머-프로브 세트는 A형 인플루엔자 바이러스의 매트릭스(M) 유전자의 고도로 보존된 영역을 타겟팅한다. 각각의 실시간 RT-PCR 반응에 대하여, 추출된 전체 RNA 5 μl 를 2X QuantiTect[®] Probe RT-PCR Master Mix 12.5 μl , QuantiTect[®] RT Mix 0.25 μl , 전진 및 역 프라이머들(각각에 대해 0.4 μM 최종 농도), 프로브(0.1 μM 최종 농도) 및 RNA 가수분해효소 없는 물을 포함하여 최종 부피가 25 μl 되는 반응 혼합물에 첨가하였다. TaqMan[®] Ribosomal RNA Control Reagents(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 개과 조직 표본들로부터 추출된 RNA의 존재 여부를 알아보기 위해 18S rRNA를 내생적 내적 대조 표준으로 18S rRNA의 검출을 위해 제조사 지시사항에 의하여 사용하였다.

[0160] 양적 일-단계 실시간 RT-PCR을 Mx3000P[®] QPCR System(Stratagene, La Jolla, CA)의 반응 혼합물에 대해 실시하였다. 사이클링 조건들(cycling conditions)은 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에서 30 분 동안 역전사 단계, $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에서 15 분 동안 초기 변성화로 HotStarTaq DNA 중합효소를 활성화시키기는 단계 및 40 사이클 순환을 위한 증폭을 포함한다. 각각의 증폭 사이클은 $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에서 15 초 동안 변성화 시키고 이후 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에서 1 분 동안 풀림/연장의 단계를 포함하였다. FAM(방출 파장(emission wavelength) 518 nm) 및 VIC(방출 파장 554 nm) 형광 신호들이 각 사이클의 종단(end)에 기록되었다. 역치 사이클(Ct)은 각각의 개별 실험에서 역치 형광을 1000에 맞추어서 결정되었다. Mx3000P[®] version 2.0 소프트웨어 프로그램(Stratagene, La Jolla, CA)을 이용하여 데이터 획득 및 분석을 하였다. H3 또는 M 유전자에 대한 역치 사이클(Ct)이 호흡기 질병 없는 개로부터 유래한 폐 조직에 대한 역치 사이클보다 3 유니트 작을 때 표본들은 인플루엔자 A 바이러스에 대해 양성이라고 여겨졌다. 상기 양성 대조 비교는 A/canine/FL/242/03(H3N8) 바이러스로부터 추출된 RNA의 증폭으로 구성되었다.

[0161] MDCK 세포들에서의 바이러스 분리

[0162] 상기 7 마리 개들의 각각으로부터 유래한 냉동된 폐 조직들을 해동시켜 0.5 % 소 혈청 알부민(BSA) 및 항생제들(젠타민 및 시프로플록사신)로 보충된 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM)의 10 부피들로 균질화 시켰다(homogenized). 원심 분리법으로 고체 파편들을 제거하였고 상청액들이 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TPCK-처리된 트립신(Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO) 및 항생제들(젠타마이신 및 시프로플록사신)으로 보충된 DMEM에 배양된 Madin-Derby canine kidney(MDCK) 세포들에 접종 되었다. 세포들은 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % 이산화탄소를 포함하는 습기찬 대기에서 25 cm^2 플라스크들에서 성장되었다. 상기 배양액들은 형태적 변화 여부를 위해 매일 관찰되었고 접종 후 5 일째 되는 날에 수거되었다. 수거된 배양액들은 원심 분리법에 의하여 맑게 되었고 최초 접종을 위해 설명된 바와 같이 신선한 MDCK 세포들로 접종 되었다; 적혈구응집반응 또는 RT-PCR에 의해 인플루엔자 바이러스의 증거를 보이지 않았던 표본들에 대해 추가로 계대 접종이 2회 실시되었다. 맑아진 상청액들에서 적혈구응집반응 활성은 이전에 설명된 바와 같이 0.5 % 칠면조 적혈구 세포를 이용하여 측정되었다(Burleson, F. et al., 1992; Kendal, P. et al., 1982). RT-PCR은 이하에 설명된 바와 같이 실시되었다.

[0163] 부화된 달걀에서의 바이러스 분리

- [0164] MDCK 세포들의 접종을 위해 상기에서 설명된 바와 같이 냉동된 폐 조직들로부터 균일체들이 제조되었다. 상기 균일체들(0.2 mL)은 10 부화된 달걀들의 요막안에 접종되었다. 35 °C에서 48 시간 배양한 후에, 요막액을 수거하기 전에 상기 달걀들이 4 °C에서 하룻밤동안 냉장 시켰다. 맑게된 상청액들에서의 적혈구응집반응 활성은 이전에 설명된 바와같이 0.5 % 칠면조 적혈구 세포들을 사용하여 측정되었다(Burleson, F. et al., 1992; Kendal, P. et al., 1982). RT-PCR은 하기에 설명된 바와 같이 실시되었다. 부화된 달걀들에서 2회 추가적인 계대 접종을 최초 접종 후 인플루엔자 바이러스의 증거를 보이지 않았던 표본들에 대해 실시하였다.
- [0165] RT-PCR, 뉴클레오티드 서열화 및 계통발생적 분석
- [0166] 바이러스 RNA는 제조자 지시사항에 의하여 QIAamp[®] Viral RNA Mini Kit(QIAGEN Inc., Valencia, CA)을 이용하여 MDCK 상청액 또는 요막액으로부터 추출되었다. 상기 바이러스 RNA는 제조자 지시사항에 의하여 QIAGEN[®] OneStep RT-PCR Kit(QIAGEN Inc., Valencia, CA)을 이용하여 cDNA에 역전사 되었다. 상기 cDNA에 있는 8 개의 인플루엔자 바이러스 유전자들의 코딩 영역의 PCR 증폭은 보편적인 유전자-특이적 프라이머 세트들(요청시에 프라이머 서열들을 이용할 수 있다)을 이용하여 이전에 설명된 바와 같이 실시되었다(Klimov, A. et al., 1992b). 그 결과로 생긴 DNA 앰플리콘들(amplicons)이 사이클 서열화 염료 종결자 화학(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 이용하여 ABI PRISM[®] 3100 자동 DNA 시퀀서(sequencer)에서 자동 서열화를 위한 주형으로 사용되었다. 뉴클레오티드 서열들은 Lasergene 6 Package[®](DNASTAR, Inc., Madison, WI)을 이용하여 분석되었다. PHYLIP Version 3.5[©] software program을 이용하여 계통발생을 추정하고 상기 뉴클레오티드 서열들로부터 나온 부트스트랩 수치들을 계산하였다(Felsenstein, J., 1989). 계통발생도 트리들은 MEGA[©] program에서 실행된 Tamura-Nei 모델과의 이웃-연결 분석에 의해 생성된 계통발생 트리들과 비교되었고 PAUP[©] 4.0 Beta program에 의하여 확인되었다(Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA).
- [0167] 적혈구응집반응 억제(HI) 시험법
- [0168] 혈청 표본들을 56 °C에서 30 분 동안 가열 비활성화 시키기 전에 37 °C에서 16 시간 동안 수용체 파괴 효소(receptor destroying enzyme)(RDE, DENKA SEIKEN Co., Ltd., Tokyo, Japan)(1 part serum: 3 parts RDE)로 배양하였다. 인플루엔자 A/Canine/Jacksonville/05 (H3N8) 바이러스는 5 % 이산화탄소의 37 °C에서 72 시간 동안 MDCK 세포에서 성장 시켰다. 바이러스 배양 상청액들은 수거되고, 원심 분리법에 의해 정화되고 - 80 °C에서 저장되었다. HI 시험법에 사용된 다른 모든 바이러스들은 10일 부화된 달걀들에서 성장시키며 상기 달걀로부터 요막액이 수집되고 - 80 °C에서 저장된다. 상기 HI 시험법은 이전에 설명된 바와 같이 실시되었다(Kendal, P. et al., 1982). 간단히 말해서, 25 μl에 바이러스 4 개의 적혈구응집소 단위들이 96-웰(well) 플라스틱 플레이트에서 동일한 부피의 계열적으로 희석된 혈청에 첨가되었고 상온에서 30 분 동안 배양되었다. 동일한 양의 0.5% 칠면조 적혈구가 첨가되었고 30분 후에 적혈구 응집반응 정량이 시각적으로 인식되었다. 종말점 HI 정량은 적혈구응집반응을 완전히 억제하는 혈청의 최종 희석으로 정의된다.
- [0169] 예 7-임상 케이스
- [0170] 2005 년 4월과 5월에, 이전에 서술된(Crawford, P. C. et al., 2005) 호흡기 질병 발병 사례가 북동 Florida의 한 보호 시설에 수용된 개들에게서 발생하였다. 상기 발병은 3 달에서 9 살에 이르는 적어도 58 마리의 개들을 포함하고 잡종견들 뿐만 아니라 순종 개들도 포함하였다. 가장 흔한 임상 징후는 화농성 비루이며 7 내지 21일 동안 기침을 하였다. 7일 이상 임상 질병을 가졌던 43 마리의 개들 중에 41 마리는 canine/FL/04(H3N8)에 대한 HI 항체 정량이 32에서 1024까지 이르렀다. 적어도 10 마리 개들은 폐렴으로 진행하였고, 이들 중 6 마리는 안락사 시켰다. 이 6 마리의 잡종 개들은 수컷 3 마리, 암컷 3 마리를 포함하며 4 개월에서 3 세에 이른 개들이었다. 임상 징후는 2 일 내지 10 일에 이르렀으며, 그 때 안락사 시켰다. 검사 실시 중에, 상기 개들은 폐 울혈(pulmonary congestion) 및 부종이 있었다. 기도를 조직학적으로 검사하면 비염(rhinitis), 기관염(tracheitis), 기관지염(bronchitis), 세기관지염(bronchiolitis) 및 화농성 기관지폐렴이 있는 것으로 드러났다. 기관, 기관지, 세기관지 및 기관지 샘에서 상피 세포 괴사 및 미란(erosion)이 있었다. 호흡기 조직들은 호중구 및 대식 세포들에 의해 침투되었다.
- [0171] 2005년 5월에, 남동 Florida 주의 한 수의과 진료소에서 40 마리의 애완용 개들에게서 호흡기 질병 발병이 일어났다. 가장 흔한 임상 징후는 화농성 비루였고 10일에서 30일까지 기침이 있었다. 상기 40 마리 개들 중에, 17 마리는 HI 항체 정량이 32에서 1024까지 이르며 canine/FL/04(H3N8)에 혈청 민감성이었다. 10 마리의 개들에서

혈청 변환이 있었으며, 그에 대한 급성 및 회복중인 쌍을 이루는 혈청이 이용 가능하였다. 3 마리 개들은 폐렴으로 진행하였다. 이들 중 1 마리는 9 살 난 수컷 Yorkshire Terrier였으며, 임상 징후가 시작하지 3일 만에 죽었다. 상기 개는 기관지염, 폐 부종 및 울혈, 그리고 중증 기관지 폐렴을 가졌다. 6 마리의 보호소 개들과 유사하게, 상기 조직들에서 기도 및 호중구 침윤물(infiltrate)의 상피 세포 괴사 및 미란이 있었다.

[0172] 예 8-실시간 RT-PCR 및 바이러스 분리

[0173] 상기 7 마리의 개들로부터 폐 조직들을 인플루엔자 A 형의 M 유전자 및 개과 H3N8 인플루엔자 A 바이러스의 H3 유전자를 검출하는 정량 실시간 RT-PCR 시험법에 의해 분석하였다. 7 마리 개들 모두로부터 나온 폐들은 인플루엔자 A M 유전자 및 개과 인플루엔자 H3 유전자 양쪽 모두에 대하여 양성이었다(표 8). MDCK 세포들에 3회 계대 접종 시킨 후에, 인플루엔자 A 아형 H3N8 바이러스를 폐렴에 걸린 후 3 일 후에 죽은 한 마리 개의 폐들로부터 분리하였다. 상기 바이러스는 A/canine/Jacksonville/05(H3N8) (canine/Jax/05)라고 명명하였다. 부화된 달걀에 2회 접종한 후에, 인플루엔자 A 아형 H3N8 바이러스를 또한 폐렴에 걸린 후 3 일 후에 죽은 애완용 개의 폐들로부터 회수하였다. 상기 바이러스는 A/canine/Miami/05(H3N8)(canine/Jax/05)라고 명명하였다.

[0174] 예 9-개과 인플루엔자 A H3N8 분리균들의 유전적 분석

[0175] canine/Jax/05 및 canine/Miami/05의 서열 분석을 실시하면 이들의 적혈구응집소(HA) 유전자는 2004 년과 2005 년에 경주장들에서 인플루엔자 발병 도중에 폐렴으로 죽은 경주용 그레이하운드들의 폐들로부터 회수된 canine/FL/04, canine/TX/04 및 canine/Iowa/05와 98 % 동일하였음이 드러났다(Crawford, P. C. *et al.*, 2005; Yoon K-Y. *et al.*, 2005). 또한, canine/Jax/05 및 canine/Miami/05의 HA 유전자들은 2000년 이후에 분리된 현대 말 인플루엔자 바이러스들에 98 % 동일하였다. HA 유전자들을 계통 발생적인 비교를 하게 되면 상기 canine/Jax/05 및 canine/Miami/05 바이러스들은 canine/FL/04, canine/TX/04 및 canine/Iowa/05 그레이하운드 분리균들 및 1990년 대 초에 분리된 오래된 말 바이러스들과는 확연히 다른 그룹을 형성하는 현대 말 분리균들과 무리지었음을 보였다(도 4) 또한, 상기 canine/Jax/05, canine/Miami/05 및 canine/Iowa/05 분리균들은 canine/FL/04 또는 canine/FL/03 중 어느 하나 보다는 canine/Tx/04에 더 밀접하게 관련되어 있었다. 상기 2005년 분리균들은 대략 10 개의 검약-정보적인(parsimony-informative) 사이트들에서 차이가 나는 초기 2003 년 및 2004 년 개과 바이러스들로부터 갈라져 나온듯한 서브그룹을 형성하였다. 이러한 차이점들은 개과 인플루엔자 바이러스는 외부 소스로부터 정기적으로 도입되는 것과는 반대로 1:1의 수평적으로 전염된다는 가설을 지지한다. 2003년에서 2005년까지 발생했던 돌연변이들을 집적하면 상기 바이러스는 개과 인플루엔자 바이러스들에서 발생할 것이라고 기대했던 것과 같이 새로운 숙주에 전염된 이후에 겪어야만 하는 계속 진행중인 적응의 과정을 보여준다.

[0176] 예 10-개과 인플루엔자 A H3N8 분리균들의 아미노산 분석

[0177] 현대 말 인플루엔자 바이러스와 이들을 구별하게 했던 총 6개의 개과 분리균들에서 보존된 아미노산 서브치환이 있었다(표 9). 상기 보존된 서브치환은 I15M, N83S, W222L, I328T 및 N483T 였다. 상기 성숙한 HA 단백질을 계통발생적으로 비교하면 상기 canine/Jax/05, canine/Miami/05 및 canine/Iowa/05 바이러스들은 canine/TX/04 분리균과 서브그룹을 형성한다는 것을 보여주었다(도 4). 상기 서브그룹을 다른 개과 바이러스들과 구별하게 하는 3 개의 아미노산 변화들(L118V, K261N 및 G479E)이 있다(표 9). 상기 2005년 분리균들을 상기 canine/TX/04 루트(root)와 구별하게 하는 2 개의 아미노산 변화들(F79L 및 G218E)이 있었다. 또한, 비-그레이하운드 개들, canine/Jax/05 및 canine/Miami/05로부터 나온 상기 2005년 분리균들은 canine/Iowa/05 그레이하운드 분리균과 아미노산이 하나 변화, R492K가 있었다는 점에서 달랐다. 최종적으로, canine/Jax/05는 하나의 아미노산, S107P에서 canine/Miami/05와 차이가 있었다. 다른 모든 H3N8 말 및 개과 바이러스들에서, S는 T를 하나 가진 A/Equine/Jilin/1/89를 제외하고는 위치 107에서 보존된다(Guo Y. *et al.*, 1992).

[0178] 예 11-개과 인플루엔자 A H3N8 분리균들의 항원 분석

[0179] 오래된 것과 현대 말 인플루엔자 바이러스들 및 상기 개과 인플루엔자 바이러스의 항원 패널과 2005년에 인플루엔자 바이러스에 감염된 말과 개들로부터 수집한 혈청을 이용하여 적혈구응집반응 억제(HI) 시험을 실시하였다(표 10). canine/FL/04에 대해 면역화된 흰족제비들로부터 유래한 혈청이 본 분석에 포함되기도 하였다. 말 혈청에서의 상기 HI 항체 정량은 오래된 분리균들에 비교하여 현대 말 바이러스들로 시험시에 8 내지 16-배 더 높았지만, 상기 개과 바이러스들로 시험시에는 적어도 4 배 정도 감소하였다. 상기 개과 혈청은 오래된 말 바이러스와는 비반응성이지만, 상기 항체 정량들이 현대 말 분리균과 개과 분리균과 시험했을 때 4-배 증가하였다. 이는 개과 인플루엔자 바이러스에 대해 면역화된 흰 족제비들로부터 유래한 혈청에서도 관찰된 바이다. 상기 혈청

활성 패턴들은 개과 인플루엔자 바이러스들과 현대 말 인플루엔자 바이러스들 사이의 항원 유사성을 실증하였고 계통 발생적인 분석과 일치하였다. 상기 canine/Miami/05 분리균에 대한 말, 개과, 흰 족제비 혈청에서의 항체 정량들은 2003년과 2004년 개과 분리균들에 대한 정량들과 유사하였다. 그러나, 상기 정량들은 상기 canine/Jax/05 분리균에 대해서는 2 내지 4 배 더 낮았었다. 이는 canine/Jax/05는 다른 개과 분리균들과 항원적으로 다르고, 부분적으로는 성숙한 HA에서의 위치 107에서의 단일 아미노산 변화와 관련될 수 있음을 암시한다.

표 7

[0180]

표 7. 인플루엔자 A 바이러스의 매트릭스 유전자 및 개 인플루엔자 A(H3N8)의 H3 유전자에 대한 양적 실시간 RT-PCR 분석을 위한 프라이머 및 프로브들

프라이머	타겟	서열	응용
Ca-H3-F387	H3(nt 387-406)	5'-tatgcatcgctccgatccat-3'(서열 ID 번호:79)	H3에 대한 전진 프라이머
Ca-H3-R487	H3(nt 487-467)	5'-gctccattcttccgttttga-3'(서열 ID 번호:80)	H3에 대한 역 프라이머
Ca-H3-P430	H3(nt 430-459)	FAM-aattcacagcagaggattccatggacag-BHQ1(서열 ID 번호:81)	TaqMan® 프로브
FluA-M-F151	M(nt 151-174)	5'-catggartggctaaagacaagacc-3' ^a (서열 ID 번호:82)	M에 대한 전진 프라이머
FluA-M-R276	M(nt 276-253)	5'-agggcattttggacaakcgtcta-3'(서열 ID 번호:83)	M에 대한 역 프라이머
FluA-M-P218	M(nt 218-235)	FAM-acgcTcaccgTgcccAgt-BHQ1 ^b (서열 ID 번호:84)	TaqMan® 프로브

[0181]

^a 밑줄 친 기호 r은 뉴클레오티드 a 또는 g를 나타내고 밑줄 친 k는 뉴클레오티드 g 또는 t를 나타낸다.

[0182]

^b 대문자는 잠금(locked) 핵산 잔존물을 나타낸다.

표 8

[0183]

표 8. Florida 주의 한 보호시설 및 수의사 진료소에서 호흡기 질병 발병 동안 폐렴으로 죽은 개들로부터 폐 조직들에 실시된 정량 실시간 RT-PCR 및 바이러스 분리

개ID	지역	임상 질병의 지속기간	실시간 RT-PCR		바이러스 분리
			M (Ct)	HA (Ct)	
A/canine/FL/242/03 양성 대조 비교			28.15	27.36	
1079	보호시설 (NE FL)	2 일	29.81	28.84	없음
1078	보호시설 (NE FL)	3 일	30.37	29.71	MDCK 3 rd passage
318	보호시설 (NE FL)	9 일	33.89	32.97	없음
320	보호시설 (NE FL)	10 일	39.44	37.09	없음
319	보호시설 (NE FL)	6 일	33.87	32.23	없음
1080	보호시설 (NE FL)	6 일	38.87	38.23	없음
374	수의사 진료소 (SE FL)	3 일	24.05	22.65	Egg 2 nd passage

표 9

표 9. 개과 인플루엔자 바이러스들과 현대 말 인플루엔자 바이러스들에 대한 성숙한 HA의 아미노산 비교

	아미노산																		
	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	.	

[0184]

표 10

표 10. 오래된 말, 현대 말 인플루엔자 바이러스 및 개과 인플루엔자 바이러스들에 대한 말, 개과 및 흰 족제비의 항체 정량.

항원들	혈청 항체 정량들 ^a		
	말	개과	흰 족제비 ^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	5i2
canine/FL/03	160	160	5i2
canine/FL/04	160	80	512
canine/Tx/04	160	160	5i2
canine/Miami/05	160	80	256
canine/Jax/05	40	40	128

[0185]

[0186]

^a항체 정량들은 말, 개과 또는 흰 족제비 혈청과 상기 항원 칼럼에 나열된 바이러스와의 계열적 희석으로 실행된 적혈구응집소 억제 시험법에서 측정된다.

[0187]

^b canine/FL/04 바이러스로 면역화된 흰 족제비들로부터의 혈청.

[0188]

예 12-15에 대한 물질 및 예시 방법들

[0189]

개과 인플루엔자 바이러스 접종물(inoculum).

[0190]

상기 바이러스 접종물(inoculum)은 이전에 설명된(Crawford et al., 2005) 원 분리균(original isolate)의 패시지 3을 대표하는 A/canine/FL/43/04(H3N8)의 스톡(stock)으로 Madin-Darby canine kidney(MDCK) 상피 세포를 접종하여 제조된다. 1 µg/mL TPCK-처리된 트립신(Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO) 및 항생제들(젠타마이

신 및 시프로플록사신)로 보충된 Dulbecco's Minimal Essential Media(DMEM)에 상기 접종된 MDCK 세포들이 37 °C, 5 % 이산화탄소를 포함하는 습기찬 대기에서 25 cm² 플라스크들에서 성장되었다. 상기 배양액들은 형태적 변화 여부를 위해 매일 관찰되었고 접종 후 5 일째 되는 날에 수거되었다. 수거된 배양액들은 원심 분리법에 의하여 맑게 되었고 상기 상청액들은 개들을 접종하기 전까지 -80 °C에서 저장되었다. Reed and Muench 방법에 의해 바이러스 정량의 결정을 위해 상청액의 분취량을 사용하였다. 상기 정량은 mL 당 A/canine/Florida/43/04(canine/FL/04)의 10⁷ 중간 조직 배양 전염성 투여량(median tissue culture infectious doses)(TCID₅₀) 이었다.

[0191] 실험적 접종

[0192] 8 마리의 4 개월 된 잡종 개들(colony bred mongrel dogs)(Marshall BioResources, North Rose, NY)(4 마리는 수컷이고 4 마리는 암컷)을 University of Florida Institutional Animal Care and Use Committee가 승인한 실험적 접종 연구를 위해 사용하였다. 개들의 신체 중량은 13 내지 17 kg에 이르렀다. 상기 개들은 신체 검사, 기초 혈액 검사 및 접종 전에 2 주 동안 체온을 측정하여 이들을 근거로 건강하다는 판정을 받았다. 모든 개들은 상기 시설에 도착 하고 그 2 주 후에 수집된 짝을 이루는 혈청 표본들에 실시된 혈청학 시험에 근거하여 개과 인플루엔자 바이러스에 사전 노출이 되지 않았다. 기관내관(endotracheal tube)으로 삽관법(intubation)을 위해 프로포폴(propofol)(Diprivan[®] Zeneca Pharmaceuticals, 효과 발생에는 0.4 mg/신체 중량 kg)의 정맥 주입에 의해 마취되었다. 6 마리 개들(3 마리는 수컷 이고 3 마리는 암컷)에게 기관 내관으로 삽입된 작은 지름의 고무 도관을 통해 말단 기관에 투여된 5 mL의 소독된 식염수에 canine/FL/04 바이러스의 10⁷ TCID₅₀로 각각 접종 시켰다. 2 마리 개들(1 마리는 수컷이고 1 마리는 암컷)에게 동일한 부피의 소독된 식염수로 가-접종 시켰다(sham-inoculated). 가-접종된 대조 비교 개들은 바이러스-접종된 개들과는 다른 방에 수용되었고 다른 요원이 관리를 하였다. 신체 검사 미치 직장 온도 측정을 접종 후(p.i.) 6 일 동안 매일 2 회 실시하였다.

[0193] 인두 및 직장 면봉 수집(pharyngeal and rectal swab collection)

[0194] 바이러스 증식을 모니터링하기 위해, 폴리에스테르 면봉들(Fisher Scientific International Inc., Pittsburgh, PA)을 이용하여 접종 후 0 에서 6일에 각각의 개에 대해서 하루 2회씩 비인후 시료들이 수집되었다. 상기 면봉들은 0.5 % 소 혈청 알부민(BSA)을 포함하는 소독된 인산-완충 식염수(phosphate-buffered saline: PBS) 1 mL에 옮겨졌다. 직장 면봉들은 0 에서 6일에서 매일 각각의 개로부터 수집되었다. 직장 면봉들은 원심 분리법에 의해 면봉 수송 배지를 정화하여 제조되었다. 제조자 지시사항에 의하여 Directigen[™] commercial immunoassay kit(BD, Franklin Lakes, NJ)를 이용하여 면봉 추출물의 일 분취량이 인플루엔자 A 바이러스 핵단백질에 대하여 즉시 시험되었다. 남아있는 추출물은 다른 바이러스학적 시험을 하기 전에 -80 °C에서 저장되었다.

[0195] 검시

[0196] 접종 후 1일에, 가-접종된 개 한 마리와 바이러스-접종된 개 한 마리를 부타나시아(Beuthanasia-D[®] 용액 (1mL/5kg 체중량; Schering-Plough Animal Health Corp.)으로 정맥 접종하여 안락사 시켰다. 바이러스-접종된 개는 한 마리씩 접종 후 2에서 5일에 매일 비슷한 방식으로 안락사 시켰다. 접종 후 6일에, 남아 있는 가-접종된 개와 바이러스 접종된 개가 안락사 되었다. 조사자들 중 한 사람(WLC)에 의해 완전한 검시를 실시하였다. 조직들은 파라핀에 담겨 있는 10 % 중성 완충 포르말린에 고정 시키고 5-µm 씩 섹션(section)들을 조직 병리학적인 진단을 위해 헤마톡실린 및 에오신으로 염색하거나 아래에 설명된 것과 같이 면역조직화학을 위해 처리 하였다. 고정되지 않은 폐 조직들은 박테리아 분리 및 확인을 위해 Diagnostic Clinical Microbiology/Parasitology/Serology Service at the University of Florida College of Veterinary Medicine 에 제출되었다. 상기 표본들은 *Bordetella* 종(Regan-Lowe; Remel, Lenexa, KS) 및 *Mycoplasma* 종(Remel)에 선택적인 배지뿐만 아니라 비선택적인 배지 상에 배양되었다. 모든 배양액들은 성장이 보고되지 않기 전에 21일 동안 두었다. 고정되지 않은 조직들은 또한 바이러스학적 분석 전까지 -80 °C에 저장되었다.

[0197] 면역조직화학

[0198] 파라핀을 제거하고 수분을 보충시킨 5-µm 기관 및 폐 조직 섹션들을 Bond-Rite[™] 슬라이드(Richard-Allan Scientific, Kalamazoo, MI) 상에 장착하고 단백질가수분해효소 K(DakoCytomation, Carpinteria, CA)로 후속

처리하였고 이후 과산화효소 차단 시약(Dako® EnVision™ Peroxidase Kit, Dako Corp., Carpinteria, CA)을 사용하였다. 상기 섹션들을 인플루엔자 A H3(Cheicon International, Inc., Terneucula, CA)에 단일 클론성 항체의 500:1 희석물로 상온에서 2 시간 동안 배양시켰다. 대조 비교는 동일한 섹션들을 쥐 IgG(1 mg/mL, Serotec, Inc. Raleigh, NC)으로 배양 과정 및 단일 클론성 항체들을 정상적인 개과 폐 섹션들로 배양 과정을 포함한다. 제 1 항체들로 처리한 후, 제조자 지시사항에 의하여 상기 섹션들을 제 2 면역과산화효소 및 과산화효소 기질 시약들(Dako® EnVision™ Peroxidase Kit, Dako Corp.)로 배양시켰다. 상기 섹션들은 헤마톡실린(hematoxylin) 대비염색 시켰고, 클레리파이어(Clarifier) #2 및 블루잉 시약(Bluing Reagent)(Richard-Allan Scientific, Kalamazoo, MI)로 처리하였고, 탈수시키고, 커버슬립(cover slip)을 퍼마운트(Permount)(ProSciTech, Queensland, Australia)로 적용시켰다.

[0199] 면봉 및 조직들로부터의 RNA 추출

[0200] 각각의 개로부터 폐 및 기관 조직들을 해동 시켜 일회용 조직 분쇄기(Kendall, Lifeline Medical Inc., Danbury, CT)를 이용하여 0.5 % 소 혈청 알부민(BSA) 및 항생제들(젠타마이신 및 시프로플록사신)로 보충된 최소 기본 배지(minimum essential medium(MEM))에 균질화 시켰다(homogenized). 전체 RNA를 제조자 지시사항에 의하여 상업적인 키트(RNeasy® Mini Kit, QIAGEN Inc., Valencia, CA)를 이용하여 구강(oropharyngeal) 및 직장 면봉 추출물 뿐만 아니라 조직 균질체로부터 추출하였고 완충 용액 60 µl 최종 부피에 용리(elute)시켰다.

[0201] 실시간 RT-PCR

[0202] ROX를 포함하는 QuantiTect Probe RT-PCR Kit을 수동적인 기준 염료(passive reference dye)(QIAGEN Inc., Valencia, CA)로 이용하고 A 형 인플루엔자 바이러스의 매트릭스(M) 유전자의 고도로 보존된 영역을 타겟팅 했던 프라이머-프로브 세트를 이용하여 단일-단계 양적 실시간 RT-PCR을 전체 RNA에 대하여 실시하였다 (Payungporn S. *et al.*, 2006a; Payungporn S. *et al.*, 2006b). 각각의 실시간 RT-PCR 반응에 대하여, 추출된 전체 RNA 5 µl를 2X QuantiTect® Probe RT-PCR Master Mix 12.5 µl, QuantiTect® RT Mix 0.25 µl, 전진 및 역 프라이머들(각각에 대해 0.4 µM 최종 농도), 프로브(0.1 µM 최종 농도) 및 RNA 가수분해효소 없는 물을 포함 하여 최종 부피가 25 µl되는 반응 혼합물에 첨가하였다. TaqMan® GAPDH Control Reagents(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 제조자 지시사항에 의하여 면봉 및 조직 표본들로부터 추출된 RNA의 존재 여부를 알아보기 위한 내생적 내적 대조 표준으로 그리고 정규화 대조 표준으로 GAPDH의 검출을 위하여 사용하였다.

[0203] 양적 일-단계 실시간 RT-PCR을 Mx3000P® QPCR System(Stratagene, La Jolla, CA)의 반응 혼합물에 대해 실시하였다. 사이클링 조건들(cycling conditions)은 50 °C에서 30 분 동안 역전사 단계, 95 °C에서 15 분 동안 초기 변성화로 HotStarTaq DNA 증합효소를 활성화시키는 단계 및 40 사이클 순환을 위한 증폭을 포함한다. 각각의 증폭 사이클은 94 °C에서 15 초 동안 변성화 시키고 이후 60 °C에서 1 분 동안 풀림/연장의 단계를 포함하였다. FAM(방출 파장(emission wavelength) 518 nm) 및 VIC(방출 파장 554 nm) 형광 신호들이 각 사이클의 종단(end)에 기록되었다. 역치 사이클(Ct)은 각각의 개별 실험에서 역치 형광(dR)을 1000에 맞추어서 결정되었다. Mx3000P® version 2.0 소프트웨어 프로그램(Stratagene, La Jolla, CA)을 이용하여 데이터 획득 및 분석을 하였다. 상기 상기 양성 대조 비교는 A/canine/FL/242/03(H3N8) 바이러스로부터 추출된 RNA의 증폭으로 구성되었다. 상기 결과를 각각의 표본에 대하여 M Ct 수치를 GAPDH Ct 수치로 나누어서 정규화 시켰다.

[0204] 조직으로부터 바이러스 재-분리

[0205] 바이러스-접종된 개들로부터 유래한 냉동된 폐 및 기관 조직들을 해동 시켜 0.5 % 소 혈청 알부민(BSA) 및 항생제들로 보충된 DMEM의 10 부피들로 균질화 시켰다(homogenized). 원심 분리법으로 고체 파편들을 제거하였고 상청액들이 상기에 설명된 바와 같이 1 µg/mL TPKC-처리된 트립신(Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO) 및 항생제들(젠타마이신 및 시프로플록사신)로 보충된 DMEM에 배양된 MDCK 세포들에 접종 되었다. 세포들은 37 °C, 5 % 이산화탄소를 포함하는 습기찬 대기에서 25 cm² 플라스크들에서 성장되었다. 상기 배양액들은 형태적 변화 여부를 위해 매일 관찰되었고 접종 후 5 일에 수거되었다. 수거된 배양액들은 원심 분리법에 의하여 정화 되었고 상청액들이 최초 접종을 위해 설명된 바와 같이 신선한 MDCK 세포들로 접종 되었다; 적혈구응집반응 또는 RT-PCR에 의해 인플루엔자 바이러스의 증거를 보이지 않았던 표본들에 대해 추가로 계대 접종이 2회 실시되었다. 정화된 상청액들에서 적혈구응집반응 활성은 이전에 설명된 바와 같이 0.5 % 칠면조 적혈구 세포를 이용하여 측정되었다(Crawford et al., 2005). RT-PCR은 이하에 설명된 바와 같이 실시되었다.

[0206] RT-PCR, 뉴클레오티드 서열화 및 계통발생적 분석

[0207] 바이러스 RNA는 제조자 지시사항에 의하여 QIAamp[®] Viral RNA Mini Kit(QIAGEN Inc., Valencia, CA)을 이용하여 MDCK 상청액으로부터 추출되었다. 상기 바이러스 RNA는 제조자 지시사항에 의하여 QIAGEN[®] OneStep RT-PCR Kit(QIAGEN Inc., Valencia, CA)을 이용하여 cDNA에 역전사 되었다. 상기 cDNA에 있는 8 개의 인플루엔자 바이러스 유전자들의 코딩 영역의 PCR 증폭은 보편적인 유전자-특이적 프라이머 세트들(요청시에 프라이머 서열들을 이용할 수 있다)을 이용하여 이전에 설명된 바와 같이 실시되었다. 그 결과로 생긴 DNA 앰플리콘들(amplicons) 이 사이클 서열화 염료 종결자 화학(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 이용하여 ABI PRISM[®] 3100 자동 DNA 시퀀서(sequencer)에서 자동 서열화를 위한 주형으로 사용되었다. 뉴클레오티드 서열들은 Lasergene 6 Package[®] (DNASTAR, Inc., Madison, WI)을 이용하여 분석되었다. 감염된 개들로부터 회수된 바이러스들에 대한 뉴클레오티드 서열들은 기도에서 복제 되는 동안 임의의 변화들이 발생하는 지의 여부를 결정하기 위하여 접종 물에 있는 바이러스의 서열들과 비교되었다.

[0208] 예 12-임상 질병

[0209] 바이러스-접종된 6 마리 개들 모두가 접종 후 첫 2 일 동안 일시적 열병(직장 온도 ≥ 39 °C)으로 발전하였지만, 어느것도 6-일간의 관찰 기간에 걸쳐서 기침 또는 비루와 같은 호흡기 징후는 보이지 않았다. 가-접종된 개들은 임상적으로 건강한 상태였다.

[0210] 예 13-바이러스 증식

[0211] 인플루엔자 A 핵단백질은 접종 후 24 시간에 바이러스-접종된 개들 중 한 마리로부터 수집된 구강 면봉에서 검출되었다. 개 한 마리로부터 접종 후 72, 84 및 120 시간에 그리고 다른 개로부터 접종 후 108, 120 및 132 시간에 수집된 상기 구강 면봉들은 정량 실시간 RT-PCR에 의하여 바이러스에 대해 양성이었다(표 11). 면봉 추출의 μ l 당 인플루엔자 M 유전자 복제물(copies)의 절대치는 접종 후 3에서 6 일까지 시간에 따라 증가하였다. 직장 면봉들에서는 어떠한 바이러스도 검출되지 않았다.

[0212] 예 14-검시

[0213] 특이적인 병원균이 없는(pathogen-free) 비글들을 이용한 이전의 실험적 감염(Crawford et al., 2005)과는 현저히 다르게도, 상기 바이러스-접종된 잡종견들은 접종 후 1 일에서 6 일까지 폐들의 전체(gross) 및 조직학적 분석에 의해 입증된 것과 같은 폐렴을 가졌다. 폐렴이외에, 상기 개들은 자연적으로 감염된 개들에서 설명된 것과 유사한 비염, 기관염, 기관지염 및 세기관지염을 가졌다(Crawford et al., 2005). 점막하(submucosal) 조직들을 호흡구 및 대식세포가 침투한 기도 내막 및 기관지샘의 상피세포 피사 및 미란이 있었다(도 5, 상부 패널들). 면역조직화학으로 기관지, 세기관지 및 기관지샘의 상피 세포들에서 바이러스 H3 항원을 검출하였다(도 5, 하부 패널들). 박테리아 중복감염(superinfection)은 없었다. 상기 2 마리의 가-접종된 개들로부터 유래한 호흡기 조직들은 정상이었다.

[0214] 예 15-기관 및 폐에서의 바이러스 복제

[0215] 상기 기관 및 폐들은 접종 후 1에서 6 일까지 모든 개들에서 정량 실시간 RT-PCR에 의해 바이러스에 양성이었다(표 12). 기관 균질액의 μ l 당 M 유전자 복제물의 절대치는 접종 후 1 일에서 5일까지 증가하였다가 6 일째 되는 날 감소하였다. 폐 균질액 μ l 당 M 유전자 복제물의 절대치는 접종 후 1일에서 6일까지 증가하였다. 일반적으로, 상기 기관은 접종 후 6 일에서 매일 상기 폐보다는 1 log₁₀ 정도 더 많은 바이러스를 함유하였다.

표 11

[0216] **표 11.** 정량 실시간 RT-PCR에 의해 개 인플루엔자 바이러스로 접종된 잡종견들의 구강 인두에서의 바이러스 발산의 검출

개 ID	접종 후 시간(시) ^a	M/GAPDH ratio ^b	Matrix gene (copies / 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

- [0217] ^aA/canine/FL/43/04(H3N8) 바이러스로 접종 한 이후에 상기 개들로부터 비강 먼봉들이 수집된 시간.
- [0218] ^b정규화 비율은 각각의 먼봉 추출물에 대해 M(Ct)를 GAPDH(Ct)로 나누워서 계산되었다.
- [0219] ^c먼봉 추출물 μl 당 매트릭스 유전자 copies의 절대치.

표 12

[0220] **표12.** 정량 실시간 RT-PCR에 의해 개과 인플루엔자 바이러스로 접종된 잡종견들의 기관 및 폐에서의 바이러스 복제의 검출

개 ID	접종 후 시간(시) ^a	M/GAPDH 비율 ^b		매트릭스 유전자(copies I μl) ^c	
		폐	기관	폐	기관
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

- [0221] ^aA/canine/FL/43/04(H3N8) 바이러스로 접종 한 이후에 상기 개들로부터 조직들이 수집된 시간.
- [0222] ^b정규화 비율은 각각의 먼봉 추출물에 대해 M(Ct)를 GAPDH(Ct)로 나누워서 계산되었다.
- [0223] ^c조직 균일물의 μl 당 매트릭스 유전자 copies의 절대치.
- [0224] 예 16에 대한 물질 및 예시 방법들
- [0225] 바이러스 균주
- [0226] 조류, 말 및 인간 기사의 균주들 뿐만 아니라 개과 인플루엔자 바이러스 균주들(표 15의 리스트)은 부화된 달걀 또는 MDCK 세포들에서 증식되었고 그 전염성은 닭 배아 또는 플라크 시험에서 종말점 회색으로 적정 되었다. 칠면조 적혈구 세포 적혈구들을 이용한 적혈구응집반응 시험법에 의해 신속한 바이러스 정량화가 실시되었다.
- [0227] 진단 시료
- [0228] 2005년 동안 바이러스 호흡기 질병으로 의심되는 사례들로부터 수집된 총 60 개의 개과 폐 조직들은 개과 인플루엔자 바이러스의 존재 여부를 위해 시험되었다.
- [0229] 개과 조직 표본들로부터 RNA 추출
- [0230] 중량 20에서 30 mg 사이의 폐 조직 블록들(blocks)을 1 회용 조직 분쇄기(Kendal)에서 균질화 시켰다. 제조자의 권고를 따라서, 전체 RNA를 상업적인 키트(RNeasy Mini Kit, QIAGEN, Valencia, CA)를 이용하여 추출하였고 완충 용액 60 μl 최종 부피에 용리(elute)시켰다.
- [0231] 프라이머 및 프로브 디자인
- [0232] 다양한 아형 및 다양한 종으로부터 H3 및 M 유전자들의 다중 서열 정렬(alignment)은 CLUSTAL X 프로그램 (Version 1.8)을 이용하여 실시되었다. 매트릭스(M) 프라이머들과 프로브는 인플루엔자 A 바이러스의 다른 아형들에 해당하는 공지된 서열들 상의 보존된 영역들로부터 선택되는 반면에, H3 적혈구응집소 유전자-특이적 프라이머들과 프로브 세트는 말과 개과 인플루엔자 A 바이러스 유전자들과 특이적으로 일치(match)되고 상동하는 조류 및 인간 유전자들과는 불일치(mismatch) 되도록 선택되었다(표 13). 프라이머 디자인 소프트웨어(OLIGOS Version 9.1) 및 EXIQON(<http://lnatools.com>)가 제공한 웹 기반 분석 도구를 자가 혼성화(self hybridization) 뿐만 아니라 Tm 계산 및 2차 구조 예측을 위해 이용하였다. 개과 조직 표본으로부터 추출된 RNA의 존재 여부를 알아보기 위해 18S rRNA 유전자의 보존된 영역을 내생적 내적 대조 표준으로 사용하였다. 조직 표본들에서의 18S rRNA의 실시간 검출을 위하여 진행 18S rRNA(VIC/TAMRA)에 대해 사전 개발된 TaqMan[®] Assay

Reagents가 사용되었다.

[0233] 실시간 RT-PCR 조건

[0234] 단일-단계 실시간 RT-PCR을 ROX를 포함하는 QuantiTect Probe RT-PCR Kit을 수동적인 기준 염료(passive reference dye)(QIAGEN Inc., Valencia, CA)로 이용하여 실시하였다. 각각의 실시간 RT-PCR 반응에 대하여, RNA 표본 5 μ l를 주형으로 사용하여 2X QuantiTect Probe RT-PCR Master Mix 10 μ l, QuantiTect RT Mix 0.2 μ l, 프라이머들(H3 유전자에 대해 0.4 μ M 최종 농도 또는 M 유전자에 대해 0.6 μ M 최종 농도), 프로브(H3 유전자에 대해 0.1 μ M 최종 농도 또는 M 유전자에 대해 0.2 μ M 최종 농도) 및 RNA 가수분해효소 없는 물을 포함하여 최종 부피가 20 μ l되는 반응 혼합물과 결합 하였다. 일-단계 실시간 RT-PCR을 Mx3005P 실시간 QPCR System(Stratagene)에서 실시하였다. 사이클링 조건들(cycling conditions)은 50 $^{\circ}$ C에서 30 분 동안 역전사 단계를 포함하였다. HotStarTaq DNA 중합효소를 활성화시키기 위해 95 $^{\circ}$ C에서 15 분 동안 초기 변성화 단계 이후에, 변성화(94 $^{\circ}$ C에서 15 초 동안) 및 풀림/연장(60 $^{\circ}$ C에서 1 분 동안)을 포함한 40 사이클 순환하는 동안 증폭이 실시되었다. FAM(방출 파장(emission wavelength) 518 nm) 및 VIC(방출 파장 554 nm) 형광 신호들이 상기 연장 단계의 종단(end)에 사이클 당 1회 구해졌다. Mx3005P 소프트웨어 version 2.02(Stratagene)을 이용하여 실시간 PCR 시험법의 데이터 획득 및 분석이 실시 되었다.

[0235] 개과 인플루엔자(H3N8)에 맞춰진 H3 프라이머들/프로브 세트의 특이성 및 A형 인플루엔자 바이러스에 맞춰진 M 프라이머들/프로브 세트의 보편성

[0236] 각각의 프라이머들/프로브 세트의 특이성을 시험하기 위하여, 인플루엔자 A 바이러스들의 일부 공지된 아형들로부터 추출된 RNA를 실시간 RT-PCR 시험법에서의 주형으로 사용하였다(표 15).

[0237] 실시간 RT-PCR 실시의 결정을 위한 RNA 표준들

[0238] T7 프로모터에 연결된 프라이머들을 이용하여 H3(nt 1-487) 및 M(nt 1-276)에 대한 PCR 앰플리콘들을 생성시키기 위하여 개과 인플루엔자 A 바이러스(A/canine/Florida/242/2003(H3N8)의 유전자들이 사용되었다(표 13). 그리고 나서 제조자 권고 사항을 따라 Riboprobe *in vitro* Transcription System-T7(Promega)을 이용하여 생체 내(*in vitro*) 전사를 위한 주형으로 H3 및 M 유전자들의 정제된 PCR 앰플리콘들이 사용되었다. 전사된 RNA들의 농도는 260 nm에서의 흡수를 측정하여 계산되었다. 그리고 나서 상기 RNA들이 10⁸ copies/ μ l에서 10 copies/ μ l에 이르도록 계열적으로 10-배 희석시켜 민감도 시험을 실시하였다. 또한, 실시간 RT-PCR의 전체적 실시를 측정하기 위하여 각각의 희석으로부터 구해진 역치 사이클(Ct)에 대하여 최초 RNA 주형 농도들(copies/ μ l)을 플롯팅하여 표준 곡선이 생성되었다.

[0239] 실시간 RT-PCR 및 Directigen Flu A 시험 키트 사이의 비교 민감도 시험

[0240] 10^{6.67} EID₅₀/mL(HA=64)에서 A/Wyoming/3/2003과 10^{7.17} EID₅₀/mL(HA=16)에서 A/canine/Florida/242/2003(H3N8)를 포함하는 2 가지 바이러스 균주들의 스탁 바이러스들(stock viruses)이 검출 역치 분석을 위해 사용되었다. 인산염-완충 식염수(phosphate-buffered saline: PBS)(125 μ l) 내에서 시료들의 로그적 희석은 제조자 지시사항을 따라 신속한 인플루엔자 A 항원 검출 키트, Directigen Flu A, (Becton, Dickinson and Company)에 사용되었다. 각각의 Directigen Flu A 시험 장치는 자주색 반점으로 발전하고 핵단백질(NP)에 대한 단일 클론성 항체에 근거한 시험의 통합성을 나타내는 막의 중심에 있는 H1N1 인플루엔자 항원 점(spot)을 가지고 있다. 상기 반점을 둘러싸는 자주색 삼각형의 커져가는 것(development)은 시험되는 시료에서의 인플루엔자 NP가 존재한다는 표시이다. 상기 삼각형으로부터 자주색 신호의 강도는 +(삼각형의 윤곽), ++(열은색 삼각형), +++(짙은 자주색 삼각형) 및 ++++(매우 짙은 자주색 삼각형). QIAamp Viral RNA Mini Kit(Qiagen, Valencia, CA)를 이용하고 최종 부피 50 μ l에 용리시켜 각각의 바이러스 희석의 125 μ l 분취량으로부터 바이러스 RNA가 추출되었다. 추출된 바이러스 RNA들의 5 μ l 부피를 Directigen Flu A kit와 비교 민감도 시험을 위해 실시간 RT-PCR에 의해 시험하였다.

[0241] 예 16

[0242] 개과 인플루엔자에 대한 실시간 RT-PCR 시험법은 인플루엔자 A 바이러스 계놈으로부터의 M 및 H3 뿐만 아니라 숙주 세포로부터의 18S rRNA를 타겟하는 3 가지 분자 프로브들로부터 얻은 정보에 의존한다(표 14). 상기 숙주 유전자의 증폭은 시료 품질 및 통합성을 알려준다. 개과 인플루엔자(H3N8) 바이러스를 포함하는 임상, 검시 또는 실험 표본들은 3 가지 프로브들에 의한 증폭 신호를 보내는 것으로 예상된다. M 및 18 S rRNA 프로브들로 증폭 신호를 보내지만 H3에 대해 음성인 시료들은 인간, 돼지 또는 조류 기시 또는 비-H3 아형들로 유래한 인플루엔

자 바이러스 아형 H3가 존재함을 나타낼 것이다. 이러한 흔치 않은 사례들은 HA 보편적 프라이머들을 이용하여 서열화에 의해 분석될 수 있는 앰플리콘 cDNA를 발생시키는 RT-PCR에 의해 해결될 수 있다. 적절히 수집되고 처리된 인플루엔자 A 바이러스가 부족한 시료들은 18S rRNA 증폭 신호만 보낸다. 18S rRNA 프로브 및 H3 프로브만 증폭 신호를 보내는 상황은 달리 증명되지 않은 한 기술이 오류가 있음을 나타낸다; M 프로브들에 잘못된 음성이나 H3에 잘못된 양성도 실증될 필요가 있다. 최종적으로, 3 가지 프로브들로 증폭 신호들을 보내지 못하는 시료들은 표본 수집이 잘못 되었으며, 분해(degradation), RNA 추출에 오류가 있거나 PCR에 사용된 증합효소들을 억제하는 억제자들이 있음을 나타내는 것이다.

[0243] 개과 인플루엔자 A 바이러스(H3N8)에 대한 H3 프라이머들/프로브 세트의 특이성과 A형 인플루엔자에 대한 M 프라이머들/프로브 세트의 보편성을 시험하기 위하여, 인플루엔자 A 바이러스들의 일부 아형들은 실시간 RT-PCR에 의해 시험된다. 그 결과에 의해 H3 프라이머들/프로브 세트는 개과 인플루엔자(H3N8)에만 양성 증폭 신호를 보내었음을 알았다. 상당한 오류가 있는 양성 또는 비-특이적 증폭 신호들은 다른 아형들이나 인간 H3 균주들에서 관찰되지 않았다. 상기 M 프라이머들/프로브 세트는 시험되는 모든 균주들에서 양성 증폭 신호를 보내었다(표 15). 이러한 결과들은 H3 프라이머들/프로브가 개과 인플루엔자 A 바이러스(H3N8)를 특이적으로 검출하는 반면에 M 프라이머들/프로브는 다수의 A형 인플루엔자 바이러스들의 아형들을 검출한다는 것을 나타내었다.

[0244] 실시간 RT-PCR 시험법들의 실행은 M 및 H3 생체 내(*in vitro*) 전사된 RNA들의 종말점 회석에 의해 평가된다. 예상한 바와 같이, 상기 역치 사이클(Ct)은 RNA 표준들의 회석과 직접 상관되어 증가하였다. 형광 신호들은 M 및 H3의 RNA 표준 회석들에서 각각 10^3 copies/ μ l 및 10^2 copies/ μ l의 농도에서 검출될 수 있다(도 6A 및 도 6B). M 및 H3 유전자들의 표준 곡선들은 각각 회석하여 구해진 역치 사이클(Ct)에 대한 시작 RNA 농도들의 로그값을 플로팅하여 그려졌다(도 6C 및 도 6D). 상기 표준 곡선의 기울기를 사용하여 이론적으로는 지수 함수인 PCR 반응 효율을 측정한다; 100 % 증폭 효율은 각각의 사이클마다 앰플리콘 농도가 2 배가 됨을 의미한다. 대략 -3.1 내지 -3.6 사이의 기울기를 가지는 표준 곡선들은 정확한 수량화를 요하는 대부분의 응용에 일반적으로 적용될 수 있다(90-110 % 반응 효율). Rsq 수치는 표준 곡선 플롯에 모든 데이터의 적용(*fit*)이다. 만약 모든 데이터가 완벽하게 직선 상에 있다고 하면, 상기 Rsq는 1.00 일 것이다. 데이터가 상기 직선으로부터 더 아래로 떨어지면, 상기 Rsq는 감소한다. Rsq 수치 ≥ 0.985 는 대부분의 시험법들에 받아들여질 수 있다. 상기 M 표준 곡선은 -3.576의 기울기(효율=90.4 %) 및 Rsq= 1.00을 드러낸 반면에 H3 표준 곡선은 -3.423의 기울기(효율=95.6 %) 및 Rsq=0.999를 내놓았다. 이러한 수치들은 실시간 RT-PCR 시험법들의 만족스러운 증폭 효율 및 전체 성능을 보여준다. 우리는 H3 프라이머들/프로브 세트에 비교하여 M 프라이머들/프로브 세트가 더 낮은 효율과 더 낮은 민감도를 보이는 것은 다수의 아형, 숙주 및 혈군을 가진 바이러스들 전체에 걸쳐 M 유전자 서열 가변성을 광범위하게 적용할 수 있게 하는 데 필요한 M 프라이머 서열들의 N-배 퇴화에 원인을 두었다.

[0245] 실시간 RT-PCR의 민감성은 상업적인 신속한 항원 검출 시험법과도 비교된다(Directigen Flu A). A/Wyoming/3/2003(H3N2) 및 A/canine/Florida/242/2003(H3N8)의 로그적 회석은 Directigen Flu A 및 실시간 RT-PCR에 의해 분석된다. Directigen Flu A의 결과들은 상기 양 바이러스 균주들에 대한 민감도가 본 실험들에 사용된 스타크 바이러스들로부터 대략 100-배 회석한 것임을 보여주었다(도 7). 개과 바이러스(A/canine/Florida/242/2003: $10^{6.x}$ PFU/ml) 표본들에 의해 발생된 신호들(자주색)은 인간 바이러스(A/Wyoming/3/2003: $10^{7.x}$ PFU/ml)에서 발견된 신호들 보다 훨씬 약했는데, 이는 이러한 표본들에서의 낮은 바이러스 농도와 일치하였다. 또한, 개과 인플루엔자에 대한 더 낮은 신호는 핵단백질에 대한 단일 클론성 항체들의 분자 특이성에 기인할 수 있다; 즉, 개과 인플루엔자 A 바이러스들의 에피토프(epitope) 내에서의 아미노산들의 보존이 저조하기 때문이다.

[0246] M 유전자의 실시간 RT-PCR은 A/canine/Florida/242/2003 및 A/Wyoming/3/2003 각각의 반응 당 바이러스 10 및 30 PFU 균등체들을 지닌 역치를 초과한 Ct 수치를 가져왔다(표 16). 시초(original) 바이러스 정량들에서의 차이들로 인하여 2 가지 바이러스 균주들의 민감성 수치의 차이가 있다. 개과 및 인간 인플루엔자 바이러스들 사이의 H3 유전자 검출 비교는 우리의 실시간 RT-PCR 시험법에서의 상기 H3 프라이머들/프로브가 개과 인플루엔자 A 바이러스만 배타적으로 증폭시키기 때문에 실시되지 않았다. RT-PCR은 신속한 항원 검출 키트보다 10^5 배나 더 민감하였다.

[0247] 급성 호흡기 질병을 가진 개들로부터 나온 검시 시료들에서의 RT-PCR 시험의 실행을 평가하기 위해, 2005년 동안 제출된 60 마리의 개과 폐 조직 표본들이 실시간 RT-PCR에 의한 개과 인플루엔자 A 바이러스의 존재 여부를 위해 시험되었다. 전체 60 개 표본들 중 12 개(20 %)는 M 및 H3 유전자들 양쪽에 대해 양성인 반면에 나머지 48

개 표본들은 양쪽 M 및 H3 유전자 모두에 대하여 음성인 결과를 내어 놓았다. 달걀 및 MDCK 세포 접종에 의해 바이러스 분리 시도를 실행하여 실시간 분석법의 특이성을 평가하였다; RT-PCR에 의해 개과 인플루엔자에 대해 양성이었던 12 개 표본들 중 2 가지는 개과 인플루엔자 바이러스를 내어 놓았다(데이터 미도시, 원고 작성 중). 모든 조직들이 중증 호흡기 질병의 병력을 지닌 개들로부터 수집되었다 하더라도, 그 표본들 대부분은 실시간 PCR 또는 기존의 분리법 중 어느 하나에 의해서라도 개과 인플루엔자 바이러스를 내놓지 않았는데, 이는 보르테텔라속 브론치셉티카(*Bordetella bronchiseptica*), 개과 디스토펜퍼 또는 파라인플루엔자 바이러스와 같은 다른 호흡기 병원체들의 높은 발생률(incidence)을 암시한다. 여기 단일 단계 실시간 RT-PCR 시험법은 개과 인플루엔자 A 바이러스(H3N8) 검출에 대한 신속하고, 민감하며 비용 효율적인 접근법을 제공한다. 질병의 초기 단계에서 개과 인플루엔자 A 바이러스(H3N8) 감염을 신속히 실험실에서 진단하게 되면 임상 환자 및 시설 운영에 적절한 정보를 줄 수 있다.

표 13

[0248]

표 13: 실시간 RT-PCR 검출 및 생체 내 전사를 위해 사용된 프라이머들 및 프로브들				
올리고 명	유형	타겟	서열*	응용
Ca-H3-F387	전진 프라이머	H3(nt387-406)	5' -tatgcatcgctccgatccat-3' (서열 ID 번호: 79)	실시간 PCR
Ca-H3-R487	역 프라이머	H3(nt487-467)	5' -gctccacttcttccgttttga-3' (서열 ID 번호: 80)	
Ca-H3-P430	TaqMan 프로브	H3(nt430-459)	FAM-aattcacagcagagggttccatggacag-BHQ1(서열 ID 번호: 81)	
FluA-M-F151	전진 프라이머	M(nt151-174)	5' -catggartggctaaagacaagacc-3' (서열 ID 번호: 82)	실시간 PCR
FluA-M-R276	역 프라이머	M(nt276-253)	5' -agggcattttggacaakcgtcta-3' (서열 ID 번호: 83)	
FluA-M-P218	LNA TaqMan 프로브	M(nt218-235)	FAM-acgcTcaccgTgcccAgt-BHQ1(서열 ID 번호: 84)	
H3-F1	전진 프라이머	H3(nt1-14)	5' -tattcgtctcaggagcaaaagcagggg-3' (서열 ID 번호: 85)	생체 내 전사
T7/H3-R490	역 프라이머	T7/H3(nt487-467)	5' -tgtaatacgaactcactatagggtccacttcttccgttttga-3' (서열 ID 번호: 86)	
M-F1	전진 프라이머	M(nt1-15)	5' -gatcgctcttcaggagcaaaagcaggtag-3' (서열 ID 번호: 87)	생체 내 전사
T7/M-R276	역 프라이머	M(nt276-253)	5' -tgtaatacgaactcactatagggttttggacaagcgtc-3' (서열 ID 번호: 88)	

[0249]

*주: 대문자들 = LNA(잠금 핵산) 잔존물들, r=a 또는 g, k=g 또는 t, 밑줄=T7 프로모터 서열

표 14

[0250]

표 14: 실시간 RT-PCR 시험법의 해석			
해석	결과		
	M	H3	18S rRNA
개과 인플루엔자 A 바이러스(3N8)에 대해 양성	+	+	+
개과 인플루엔자 A 바이러스(미공지 아형)에 대해 양성	+	-	+
인플루엔자 A 바이러스에 대해 음성	-	-	+
RNA 추출에서의 오류 또는 PCR 억제제의 존재	-	-	-

표 15

[0251]

표 15: 일부 인플루엔자 A 바이러스들의 아형들과 개과 H3 프라이머들/프로브 세트의 특이성 및 M 프라이머들/프로브 세트의 보편성

기질	균주명	숙주	실시간 RT-PCR 검출	
			113 유전자 (Ct)	M 유전자 (Ct)
Hi	A/Ohio/1983	인간	No Ct	15.40
	A/WSN/1933	인간	NoCt	20.09
H3	A/Wyoming/3/2003	인간	No Ct	28.85
	A/Victoria/3/1975	인간	No Ct	16.62
	A/canine/FL/242/2003	개과	28.43	29.25
H4	Turkey/MN/1066/1980	조류	No Ct	17.49
	임상 표본*	조류	No Ct	20.87
H5	A/Chicken/Thailand/CUK2/2004	조류	No Ct	20.13
	AlPheasant/NJ/1335/1998	조류	No Ct	16.64
H6	임상 표본*	조류	No Ct	19.52
H10	임상 표본*	조류	No Ct	25.64
	임상 표본*	조류	No Ct	19.59
H11	임상 표본*	조류	No Ct	15.72
	임상 표본*	조류	No Ct	24.55

[0252]

*임상 표본의 아형들은 뉴클레오티드 서열화에 의해 확인되었다는 것에 주의.

표 16

[0253]

표 16. 실시간 RT-PCR과 Directigen Flu A 사이의 인플루엔자 A 바이러스의 검출을 위한 상대적 민감성 시험

바이러스 희석	Directigen Flu A		M(Ct)의 실시간 RT-PCR	
	A/canine/242/03	AlWyoming/3/03	Alcanine/242/03	AlWyoming13/2003
10-1	++	+++	22.42	19.48
10-2	+	+++	25.85	22.66
10-3	-	-	29.27	25.76
10-4	실시 않음	실시 않음	32.66	28.66
10-5	실시 않음	실시 않음	35.48	33.14
10-6	실시 않음	실시 않음	37.51	35.06
10-7	실시 않음	실시 않음	30.09	36.44
10-8	실시 않음	실시 않음	No Ct	38.93

표 17

[0254]

표 17.

아미노산의 종류	아미노산의 예
비극성	Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Met, Phe, Trp
비전화 극성	Gly, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn, Gln
산성	Asp, Glu
염기성	Lys, Arg, His

표 18

[0255]

표 18.

기호	아미노산	기호	아미노산
A	알라닌	M	메티오닌
B	아스파라긴 또는 아스파르트산	N	아스파라긴

C	시스테인	P	프롤린
D	아스파르트산	Q	글루타민
B	글루탐산	R	아르기닌
F	페닐알라닌	S	세린
G	글리신	T	트레오닌
H	히스티딘	V	발린
I	이소류신	W	트립토판
K	리신	Y	티로신
L	류신	Z	글루타민 or 글루탐산

표 19

[0256]

표 19. H3N8 말 및 개과 인플루엔자 바이러스의 PB2 단백질 사이의 아미노산 차이

위치	말 일치 서열*	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

표 20

[0257]

표 20. H3N8 말 및 개과 인플루엔자 바이러스의 PB1 단백질 사이의 아미노산 차이

위치	말 일치*	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

표 21

[0258]

표 21. H3N8 말 및 개과 인플루엔자 바이러스의 PB1 단백질 사이의 아미노산 차이

위치	말 일치*	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

[0259]

*1993년과 1998년 사이에 분리된 바이러스들의 이용 가능한 유전자들에 근거함.

표 22

[0260]

Table 22. H3N8 말 및 개과 인플루엔자 바이러스의 NP 단백질 사이의 아미노산 차이

위치	말 일치*	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

표 23

[0261]

Table 23. H3N8 말 및 개과 인플루엔자 바이러스의 NA 단백질 사이의 아미노산 차이

위치	말 일치*	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

표 24

[0262]

Table 24. H3N8 말 및 개과 인플루엔자 바이러스의 M1 단백질 사이의 아미노산 차이

위치	말 일치*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
M1 161	S	S	A
M1 208	K/Q	R	R

[0263]

*1993년과 1998년 사이에 분리된 바이러스들의 이용 가능한 유전자들에 근거함.

표 25

[0264]

Table 25. H3N8 말 및 개과 인플루엔자 바이러스의 NS1 단백질 사이의 아미노산 차이

위치	말 일치*	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

- [0265] *1993년과 1998년 사이에 분리된 바이러스들의 이용 가능한 유전자들에 근거함.
- [0266] 여기에 설명된 예들과 실시예들은 예시적 목적으로만 이용되고 그에 대한 다양한 변형 또는 변화는 당업자에게 제시될 것이고 본 출원의 사상 및 범위 내에 포함될 것임을 이해하여야 한다.
- [0267] 참조 문헌
- [0268] 미국 특허 번호 5,106,739
- [0269] 미국 특허 번호 5,034,322
- [0270] 미국 특허 번호 6,455,760
- [0271] 미국 특허 번호 6,696,623
- [0272] 미국 특허 번호 4,683,202
- [0273] 미국 특허 번호 4,683,195
- [0274] 미국 특허 번호 4,800,159
- [0275] 미국 특허 번호 4,965,188
- [0276] 미국 특허 번호 5,994,056
- [0277] 미국 특허 번호 6,814,934
- [0278] 미국 공개 출원 번호 20040078841
- [0279] 미국 공개 출원 번호 20040067506
- [0280] 미국 공개 출원 번호 20040019934
- [0281] 미국 공개 출원 번호 20030177536
- [0282] 미국 공개 출원 번호 20030084486
- [0283] 미국 공개 출원 번호 20040123349
- [0284] Greyhound Daily News, 1/28/99. National Greyhound Association (NGA), Abilene, Kansas. <http://www.NGAgreyhounds.com>.
- [0285] Personal communication, Dr. William Duggar, veterinarian at Palm Beach Kennel Club, West Palm Beach, Florida.
- [0286] Altschul, S. F. *et al.* (1990) "Basic Local Alignment Search Tool" *J Mol. Biol.* 215:402-410.
- [0287] Altschul, S. F. *et al.* (1997) "Gapped BLAST and PSI-BLAST: A New Generation of Protein Database Search Programs" *Nuci. Acids Res.* 25:3389-3402.
- [0288] An, G. (1987) "Binary Ti vectors for plant transformation and promoter analysis" *Methods Enzymol.* 153:292-305.
- [0289] 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.
- [0290] Burleson, F. *et al.* (1992) *Virology: A Laboratory Manual* (Academic Press).
- [0291] 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.
- [0292] Crawford, P.C. *et al.* (2005) "Transmission of equine influenza virus to dogs" *Science* 310:482-485.
- [0293] Chang, C.P. *et al.* (1976) "Influenza virus isolations from dogs during a human epidemic in Taiwan" *IntJZoonoses* 3:61-64.

- [0294] Dacso, C.C. *et al.* (1984) "Sporadic occurrence of zoonotic swine influenza virus infections" *J Clin Microbiol* 20:833-835.
- [0295] 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.
- [0296] Felsenstein, J. (1989) *Cladistics* 5:164.
- [0297] Fields *et al.* (1946) *Fields Virology*, 3rd ed., Lippincott-Raven publishers.
- [0298] 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.
- [0299] Fouchier *et al.*, (2000) *Journal of Clinical Microbiology* 38 (11):4096-4101.
- [0300] Good, X. *et al.* (1994) "Reduced ethylene synthesis by transgenic tomatoes expressing S-adenosylmethionine hydrolase" *Plant Molec. Biol.* 26:781-790.
- [0301] Guan, Y. *et al.* (2004) "H5N1 influenza: a protean pandemic threat" *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:8156-8161.
- [0302] Guo, Y. *et al.* (1992) "Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China" *Virology* 188:245-255.
- [0303] Houser, R.E. *et al.* (1980) "Evidence of prior infection with influenza A/TexasI77 (H3N2) virus in dogs with clinical parainfluenza" *Can J Comp Med* 44:396-402.
- [0304] Karasin, A.L. *et al.* (2000) "Isolation and characterization of H4N6 avian influenza viruses from pigs with pneumonia in Canada" *J J/irol* 74:9322-9327.
- [0305] 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.
- [0306] 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.
- [0307] Kawaoka, Y. *et al.*, (1989) "Avian-to-human transmission of the PB 1 gene of influenza A viruses in the 1957 and 1968 pandemics" *J Virol* 63:4603-4608.
- [0308] Keaweharoen, J. *et al.* (2004) "Avian influenza H5N1 in tigers and leopards" *Emerg Infect Dis* 10:2189-2191.
- [0309] 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.
- [0310] Kilbourne, E.D. *et al.* (1975) "Demonstration of antibodies to both hemagglutinin and 20 neuraminidase antigens of H3N2 influenza A virus in domestic dogs" *Intervirology* 6:3 15-3 18.
- [0311] Kimura, K. *et al.* (1998) "Fatal case of swine influenza virus in an immunocompetent host" *Mayo Clin Proc* 73:243-245.
- [0312] Klimov, A. I. *et al.* (1992a) "Sequence changes in the live attenuated, cold-adapted variants of influenza A/Leningrad/i 34/57 (H2N2) virus" *Virology* 186:795-797.
- [0313] Klimov A. *et al.* (1992b) "Subtype H7 influenza viruses: comparative antigenic and 30 molecular analysis of the HA-, M-, and NS-genes" *Arch Virol.* 122:143-161.
- [0314] Kovacova, A. *et al.* (2002) "Sequence similarities and evolutionary relationships of influenza virus A hemagglutinins" *Virus Genes* 24:57-63.

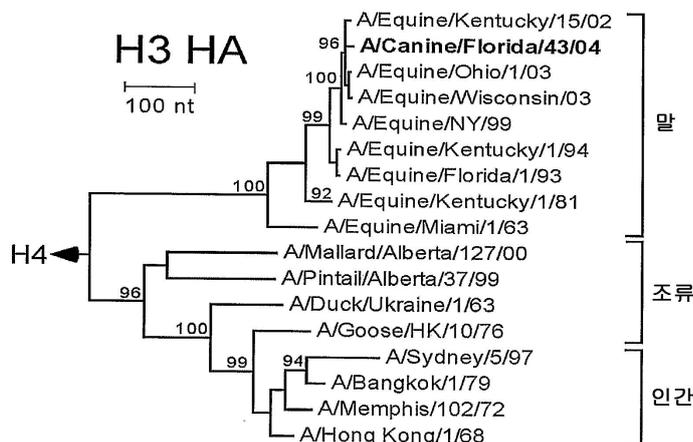
- [0315] Kuiken, T. *et al.* (2004) "Avian H5N1 influenza in cats" *Science* 306:241.
- [0316] Kumar, S. *et al.* (2004) "MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment" *Brief Bioinform* 5:150-163.
- [0317] Lee, L.G. *et al.* (1993) "Allelic discrimination by nick-translation PCR with fluorogenic probes" *Nucleic Acids Res.* 21(16):3761-3766.
- [0318] Lewin, B. (1985) *Genes II*, John Wiley & Sons, Inc., p. 96.
- [0319] Lipatov, A.S. *et al.* (2004) "Influenza: emergence and control" *J Virol* 78:8951-8959.
- [0320] 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.
- [0321] Maniatis, T., E.F. Fritsch, J. Sambrook (1982) "Nuclease *Ba131*" *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.
- [0322] 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* 74:8502-85 12.
- [0323] Maertzdorfet *al.*, (2004) *Clin Microbiol.* 42(3):981-986.
- [0324] Merrifield, R.B. (1963) "Solid Phase Peptide Synthesis. I. The Synthesis of a Tetrapeptide" *J Amer. chem. Soc.* 85:2149-2154.
- [0325] Nikitin, A. *et al.* (1972) "Epidemiological studies of A-Hong Kong-68 virus infection in dogs" *Bull World Health Organ* 47:47 1-479.
- [0326] 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.
- [0327] 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 Epiden2iol* 119:152-15 8.
- [0328] 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*).
- [0329] 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*).
- [0330] Peiris, M. *et al.* (1999) "Human infection with influenza H9N2" *Lancet* 354:916-917.
- [0331] Peiris, J.S. *et al.* (2004) "Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease" *Lancet* 363:617-619.
- [0332] Posnett, D. N. *et al.* (1988) "A Novel Method for Producing Anti-peptide Antibodies" I *Biol. Chem.* 263(4):1719-1725.
- [0333] Putnam, Bob (February 10, 1999) "Two illnesses seen in death of dogs" *St. Petersburg Times*.
- [0334] Reid, A.H. *et al.* (2004) "Evidence of an absence: the genetic origins of the 1918 pandemic influenza virus" *Nat Rev Microbiol* 2:909-9 14.
- [0335] 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.
- [0336] Saiki, R. (1985) "Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia" *Science* 230:1350-1354.
- [0337] Sambrook, J. *et al.* (1989) "Plasmid Vectors" In: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 5 2d Edition,

pp. 1.82-1.104. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

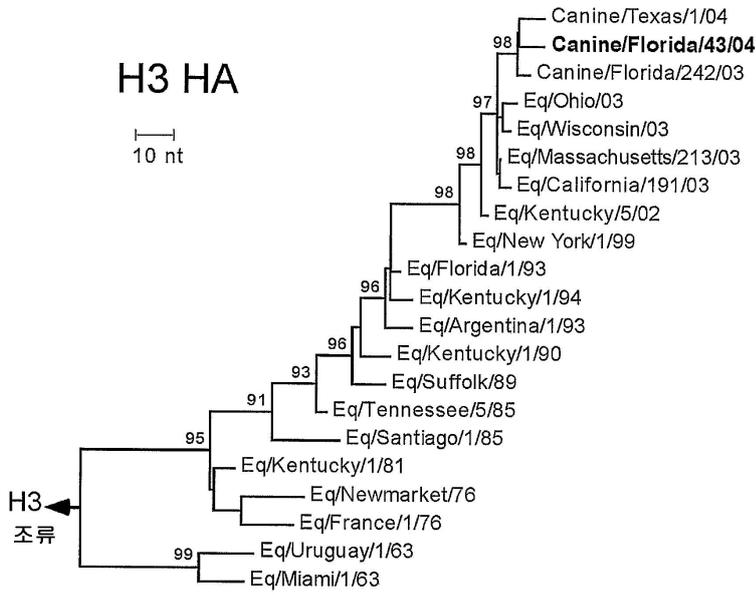
- [0338] Subbarao, K. *et al.* (1998) "Characterization of an avian influenza A (H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness" *Science* 279:393-396.
- [0339] Suzuki, Y. *et al.* (2000) "Sialic acid species as a determinant of the host range of influenza A viruses" *J Virol* 74:11825-11831.
- [0340] 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.
- [0341] 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.
- [0342] 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.
- [0343] 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.
- [0344] Webby, R. *et al.* (2004) "Molecular constraints to interspecies transmission of viral pathogens" *Nat Med* 10:S77-S81.
- [0345] Webster, R.G. (1998) "Influenza: an emerging disease" *Emerg Infect Dis.* 4:436-441.
- [0346] Webster, R.G. *et al.* (1992) "Evolution and ecology of influenza A viruses" *Microbiol Rev.* 56 :152-179.
- [0347] Weis, W. *et al.* (1988) "Structure of the influenza virus haemagglutinin complexed with its receptor, sialic acid" *Nature* 333:426-431.
- [0348] Womble, D.D. (2000) "GCG: The Wisconsin Package of sequence analysis programs" *Methods Mol Biol* 132:3-22.
- [0349] 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.
- [0350] Yang, T. T. *et al.* (1996) "Optimized Codon Usage and Chromophore Mutations Provide 45 Enhanced Sensitivity with the Green Fluorescent Protein" *Nucleic Acid Research* 24(22):4592-4593.
- [0351] Yoon K-Y. *et al.* (2005) "Influenza virus infection in racing greyhounds" *Emerg Infect Dis.* 11: 1974-1975.

도면

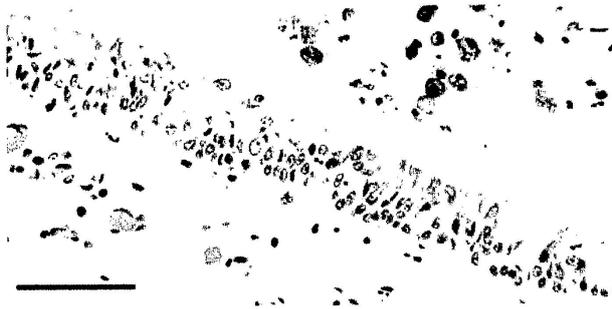
도면1a



도면1b



도면2a



도면2b



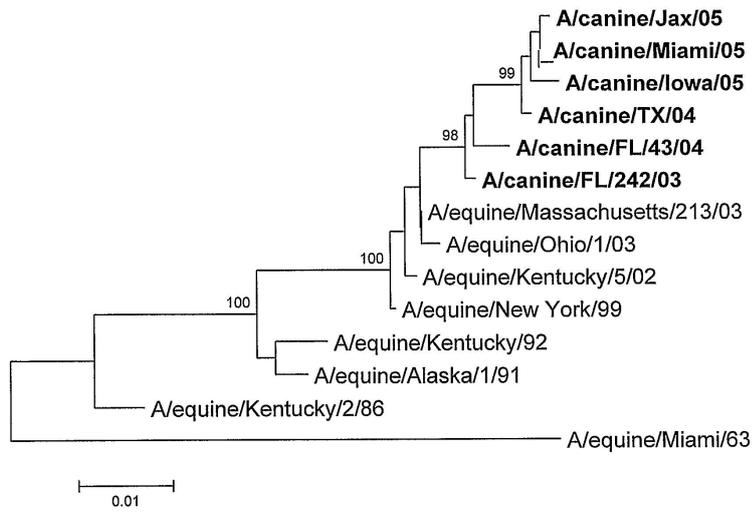
도면3a



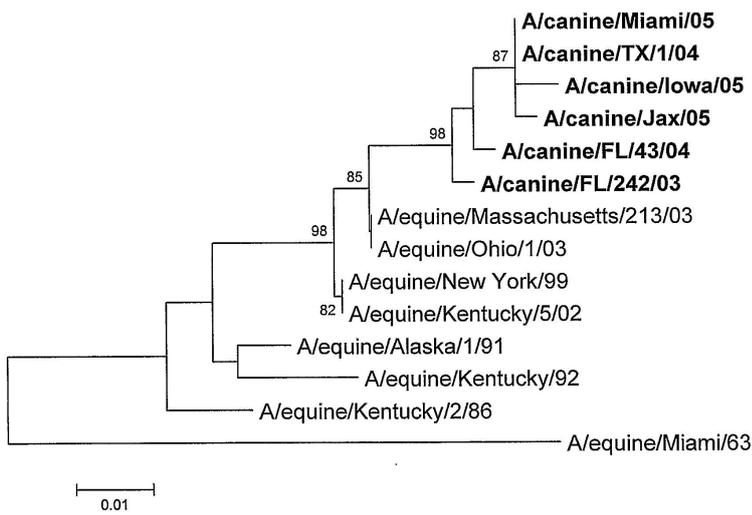
도면3b



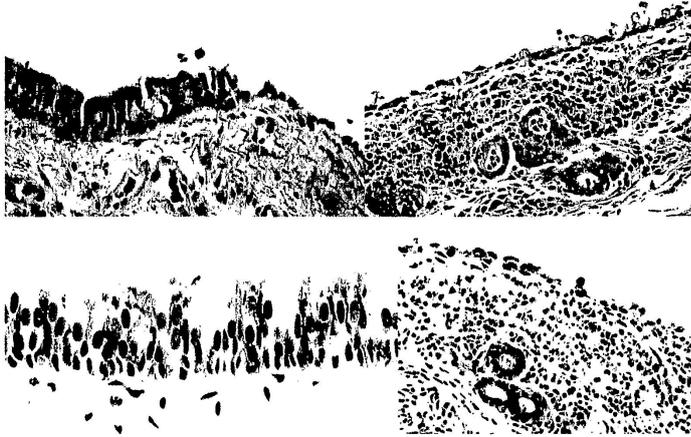
도면4a



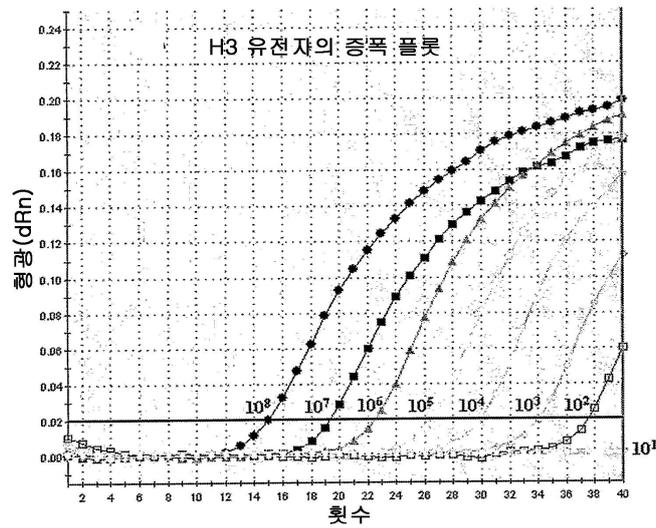
도면4b



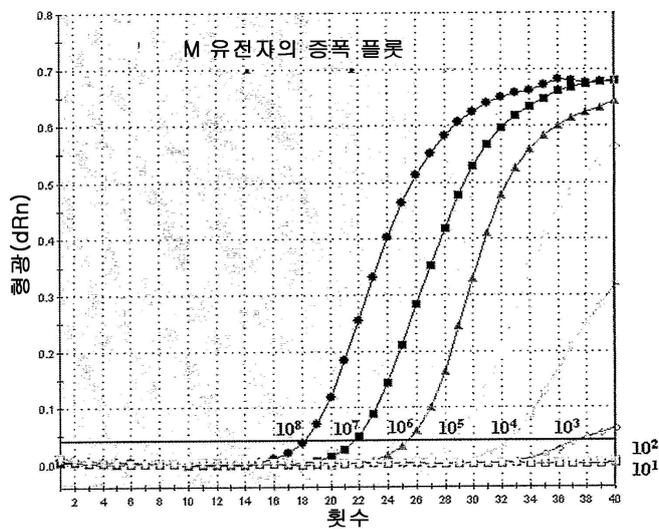
도면5



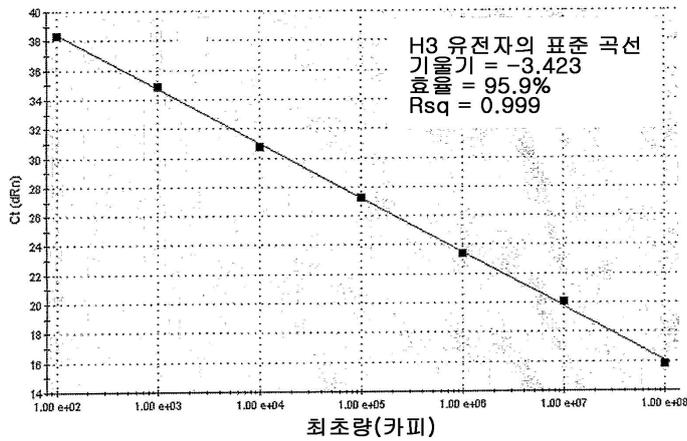
도면6a



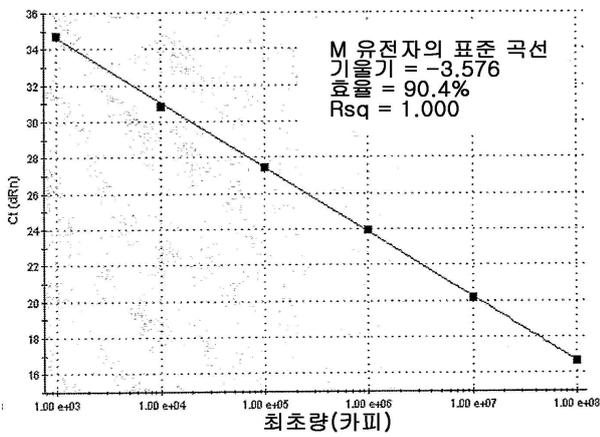
도면6b



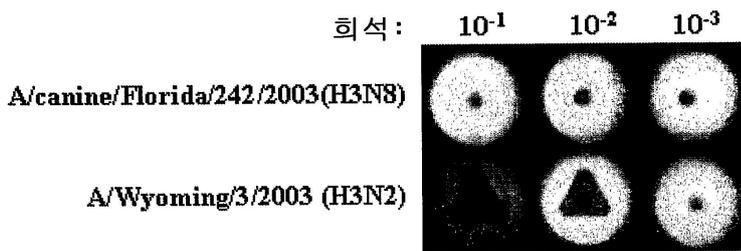
도면6c



도면6d



도면7



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Crawford, Patti Cynthia
- Gibbs, E. Paul J.
- Dubovi, Edward J.
- Donis, Ruben Omar
- Katz, Jacqueline M.
- Klimov, Alexander I.

<120> Materials and Methods for Respiratory Disease Control in Canines
 <130> UF-445XC1
 <150> US 60/673,443
 <151> 2005-04-21
 <160> 88
 <170> PatentIn version 3.3
 <210> 1
 <211> 2277
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <220><221> CDS
 <222> (1)..(2277)
 <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 get 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

cta aca tcg gaa tca caa cta aca ata acc aaa gag aaa aag gaa gaa 576
 Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu
 180 185 190

ctt cag gac tgc aaa att gct ccc ttg atg gta gca tac atg cta gaa 624
 Leu Gln Asp Cys Lys Ile Ala Pro Leu Met Val Ala Tyr Met Leu Glu
 195 200 205

aga gag ttg gtc cga aaa aca agg ttc ctc cca gta gca ggc gga aca 672
 Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Ala Gly Gly Thr
 210 215 220

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 gaa gtt aga aac gat gat att gat 768
 Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Glu Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp
 245 250 255

caa agt tta att att gca gcc cgg aac ata gtg aga aga gcg 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 ata agg atg gta gac atc ctt aag cag aat cca aca gag 912

Ile Gly Gly Ile 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 aga 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 aaa aag gca acc aga aga ttg att caa ttg 1152

Arg Ala Thr Ala Ile Ile Lys 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 tcg 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 cac aat 1344
 Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe His 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 agg 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 gag 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 gcc act aaa agg ctc aca gtc ctc gga aag gat gca 2016
Asn Tyr Asn Lys Ala 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 gaa 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 gag 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 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> Influenza virus

<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

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
 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

225	230	235	240	
atc gct acc cca ggg atg cag ata aga ggg 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 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
 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
 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 gcg 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 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> Influenza virus

<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

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

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 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
 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

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
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
 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
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
 545 550 555 560

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

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> Influenza virus

<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

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

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 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

 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

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
 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 agcttatitta a 838

<210> 8
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Influenza virus

<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
 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> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(1497)

<400> 9

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

gtg gga gga atc ggc cga 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
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
 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

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

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
 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

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
 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			
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
 465 470

<210> 12
 <211> 470
 <212> PRT
 <213> Influenza virus

<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

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

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

<212> DNA

<213> Influenza virus

<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

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

gct cac agg cag atg gtg aca aca acc aac cca ttg atc aga cat gaa 528

Ala 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

ttcttcaaat tcatttatcg tcgcttaaa tacgggttga aaagagggcc ttctacggaa 886

ggagtacctg agtctatgag ggaagaatat cggcaggaac agcagaatgc tgtggatggt 946

gacgatggtc atttgtcaa catagagctg gagtaa 982

<210> 14

<211> 252

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 14

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
 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> Influenza virus

<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

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
85 90 95

gag agt tgg gac ctc ttc ata gaa aga agc aac gct ttc agc aat tgc 336

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

tac cca tat gac atc cct gac tat gca tcg 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
 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

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 ctg 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 ttg 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 aga ggc aac atc aga 1680

Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Arg Gly Asn Ile Arg

545 550 555 560

tgc aac att tgc att tga 1698

Cys Asn Ile Cys Ile

 565

<210> 16

<211> 565

<212> PRT

<213> Influenza virus

<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
 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
 225 230 235 240
 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 Ala Pro
 275 280 285
 Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser

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
 acc 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 aga att 528
 Asp Val Ile Met Glu Val Val Phe Pro Asn Glu Val Gly Ala Arg Ile
 165 170 175
 cta aca tcg gaa tca caa cta aca ata acc aaa gag aaa aag gaa gaa 576
 Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu
 180 185 190

 ctt cag gac tgc aaa att gct ccc ttg atg gta gca tac atg cta gaa 624
 Leu Gln Asp Cys Lys Ile Ala Pro Leu Met Val Ala Tyr Met Leu Glu
 195 200 205
 aga gag ttg gtc cga aaa aca agg ttc ctc cca gta gca ggc gga aca 672
 Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Ala Gly Gly Thr
 210 215 220
 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 gaa gtt aga aac gat gat att gat 768
 Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Glu Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp
 245 250 255
 caa agt tta att att gca gcc cgg aac ata gtg aga aga gcg 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 ata agg atg gta gac atc ctt aag cag aat cca aca gag			912
Ile Gly Gly Ile 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 aga 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 tcg 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 agg 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 gag 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 gcc act aaa agg ctc aca gtc ctc gga aag gat gca 2016

Asn Tyr Asn Lys Ala 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 gaa 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 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 rta gtg ttg gta atg aaa 2208

Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Xaa 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> 18

<211> 759

<212> PRT

<213> Influenza virus

<220><221> misc_feature

<222> (731)..(731)

<223> The 'Xaa' at location 731 stands for Val, or 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

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

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
 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 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> Influenza virus
 <220><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

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

gaa 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 gta aca cag aga acc ata ggg aag aaa 624
 Asp Asn Met Thr Lys Arg Met Val Thr Gln Arg Thr Ile Gly Lys Lys
 195 200 205

aaa caa cga tta aac aga aag agc tat cta atc aga aca tta acc cta 672
 Lys Gln Arg Leu Asn Arg Lys Ser Tyr Leu Ile Arg Thr Leu Thr Leu
 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 ggg 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 gcc 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 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

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 gcg 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 get 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 ctc 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 gtg tcc 2160

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

 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

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
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
 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
 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
 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

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
 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

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
 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 agcttatatta a 838

<210> 24
 <211> 219

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 24

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 Thr 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 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> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(1497)

<400> 25

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

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 ggc 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
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
 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

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

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
 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

<211> 1410

<212> DNA

<213> Influenza virus

<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 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

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
 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

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

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> Influenza virus

<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

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
 ttcttcaaat tcatttatcg tcgccttaaa tacgggttga aaagagggcc ttctacggaa 886
 ggagtacctg agtctatgag ggaagaatat cggcaggaac agcagaatgc tgtggatggt 946

gacgatggtc attttgtaa catagagctg gagtaa 982

<210> 30
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> Influenza virus
 <400> 30

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

<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	
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
 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	
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
 <213> Influenza virus

 <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

545 550 555 560

Cys Asn Ile Cys Ile

565

<210> 33

<211> 549

<212> PRT

<213> Influenza virus

<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

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	
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 Ala 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	
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	

<212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 35
 gagagttag 9
 <210> 36
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 36
 ccgttggtc 9
 <210> 37
 <211> 9
 <212> DNA
 <213>
 > Influenza virus
 <400> 37
 caaaccaga 9
 <210> 38
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 38
 agaactggg 9
 <210> 39
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 39
 tatgagagtt gggac 15
 <210> 40
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 40

agaccgttgg tcaga	15
<210> 41	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Influenza virus	
<400> 41	
aagcaaacca gagga	15
<210> 42	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Influenza virus	
<400> 42	
ataagaactg ggaca	15
<210> 43	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> Influenza virus	
<400> 43	
acaatgagt	9
<210> 44	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Influenza virus	
<400>	
44	
aaaacaatga gtgat	15
<210> 45	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> Influenza virus	
<400> 45	
gatgtacc	9
<210> 46	
<211> 15	

<212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 46
 tcagatgtac ccata 15
 <210> 47
 <211> 2280
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <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
 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
 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 aac aca att cat tat cca 336
 Thr Trp Trp Asn Arg Asn Gly Pro Thr Thr Asn 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
 acc 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 gct 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 aga att 528
 Asp Val Ile Met Glu Val Val Phe Pro Asn Glu Val Gly Ala Arg Ile
 165 170 175
 cta aca tca gaa tca caa cta aca ata acc aaa gag aaa aag gaa gaa 576
 Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu
 180 185 190

 ctt cag gac tgc aaa att gct ccc ttg atg gta gca tac atg cta gaa 624
 Leu Gln Asp Cys Lys Ile Ala Pro Leu Met Val Ala Tyr Met Leu Glu
 195 200 205
 aga gag ttg gtc cga aaa aca agg ttc ctc cca gta gta ggc gga aca 672
 Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Val Gly Gly Thr
 210 215 220
 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
gcc atg gtg ttt tcg 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 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

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

<210> 48

<211> 759

<212> PRT

<213> Influenza virus

<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

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
 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

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> Influenza virus
- <220><221> CDS
- <222> (1)..(2274)
- <400> 49

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 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
 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
 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
 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

740 745 750

ctc aga cgg caa aaa tag 2274

Leu Arg Arg Gln Lys

755

<210> 50

<211> 757

<212> PRT

<213> Influenza virus

<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

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

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
 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

35	40	45	
tcg gat ttc cac ttt ata 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
aaa 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
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 gaa 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 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
 ggt 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
 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
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

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> Influenza virus

<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

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

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
 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

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
 225 230

gcgacataga ttgaaaaata cagaaaatag ttttgaacaa ataacattta tgcaagcctt 780
 acaactattg cttgaagtag aacaagagat aagaactttc tcgtttcagc ttatttaatg 840
 ataa 844

<210> 54

<211> 230

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 54

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

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

Lys Glu Glu Ile Met Arg Ile Trp Arg Gln Ala Asn Asn Gly Glu Asp

115 120 125

gct act get ggt ctt act cat atg atg atc tgg cac tcc aat etc 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

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
 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 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 gga 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> 56
 <211> 498
 <212> PRT
 <213> Influenza virus
 <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
 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

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

<211> 1413

<212> DNA

<213> Influenza virus

<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
 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			
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
 <211> 470
 <212> PRT
 <213> Influenza virus

<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
 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

<212> DNA

<213> Influenza virus

<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
 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 tgtggattct tgatcgtctt 826
 ttcttcaaat tcatttatcg tgccttaaa tacgggttga aaagagggcc ttctacggaa 886

 ggagtacctg agictatgag ggaagaatat cggcaggaac agcagaatgc tgtggatggt 946
 gacgatggtc atttgtcaa catagagctg gagta 981

 <210> 60
 <211> 252
 <212> PRT
 <213> Influenza virus
 <400> 60

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
 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
 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> Influenza virus

<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

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 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
 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			
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
 <213> Influenza virus

 <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

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

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> Influenza virus
 <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
 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 aac aca att cat tat cca		336
Thr Trp Trp Asn Arg Asn Gly Pro	Thr Thr Asn 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	
acc 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 gct 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 aga att		528
Asp Val Ile Met Glu Val Val Phe	Pro Asn Glu Val Gly Ala Arg Ile		
165	170	175	
cta aca tca gaa tca caa cta aca	ata acc aaa gag aaa aag gaa gaa		576
Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr	Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu		
180	185	190	
ctt cag gac tgc aaa att gct ccc	ttg atg gta gca tac atg cta gaa		624
Leu Gln Asp Cys Lys Ile Ala Pro	Leu Met Val Ala Tyr Met Leu Glu		
195	200	205	
aga gag ttg gtc cga aaa aca agg	ttc ctc cca gta gta ggc gga aca		672
Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg	Phe Leu Pro Val Val Gly Gly Thr		
210	215	220	
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

gcc atg gtg ttt tcg 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 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

 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

<210> 64

<211> 759

<212> PRT

<213> Influenza virus

<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

145 150 155 160

Asp Val Ile Met Glu Val Val Phe Pro Asn Glu Val Gly Ala Arg Ile

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
 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
 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> Influenza virus
- <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
 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
 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 get 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 get 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
 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

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
 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

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> 67
- <211> 2151
- <212> DNA
- <213> Influenza virus
- <220><221> CDS
- <222> (1)..(2151)
- <400> 67

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 ttc cac ttt ata 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
 aaa 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

 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 gaa 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 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
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
 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

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> 68

<211> 716

<212> PRT

<213> Influenza virus

<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

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
 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

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> 69
- <211> 844
- <212> DNA
- <213> Influenza virus
- <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 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 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	

acaactattg ctggaagtag aacaagagat aagaactttc tcgtttcagc ttatttaatg 840

ataa 844

<210> 70

<211> 230

<212> PRT

<213> Influenza virus

<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

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> Influenza virus

<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

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 get ggt ctt act cat atg atg atc tgg cac tcc aat etc 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
 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 cta acc agt ggg 864

Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Leu 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

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

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
 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> Influenza virus

<220><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
 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 tgc 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 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> Influenza virus

<400> 74

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

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

Phe Asp Ile Asp Lys Met

465 470

<210> 75

<211> 981

<212> DNA

<213> Influenza virus

<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

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

<212> PRT

<213> Influenza virus

<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
 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
 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> Influenza virus

<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 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

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 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			
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

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> Influenza virus

<400> 78

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 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
 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

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
 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> Influenza virus

<400> 79

tatgcatcgc tccgatccat

20

<210> 80

<211> 21

<212> DNA

<213> Influenza virus

<400> 80

gctccacttc ttccgttttg a

21

<210> 81

<211> 30

<212> DNA

<213> Influenza virus

<400> 81

aattcacagc agagggatc acatggacag

30

<210> 82

<211> 24

<212> DNA

<213> Influenza Virus

<220><221> variation

<222> (7)..(7)
 <223> r = a or g
 <400> 82
 catggartgg ctaaagacaa gacc 24
 <210> 83
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <220><221> variation
 <222> (18)..(18)
 <223> k = g or t
 <400> 83
 agggcatttt ggacaaakcg tcta 24

 <210> 84
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 84
 acgctcaccg tgcccagt 18
 <210> 85
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 85
 tattcgtctc agggagcaaa agcagggg 28
 <210> 86
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 86
 tgtaatacga ctactatag ggctccactt cttccgtttt ga 42
 <210> 87
 <211> 30
 <212> DNA

<213> Influenza virus
<400>
> 87
gatcgcctctt cagggagcaa aagcaggtag 30
<210> 88
<211> 40
<212> DNA
<213> Influenza virus
<400> 88
tgtaatacga ctactatag ggcattttgg acaaagcgtc 40
1

【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 제20항

【변경전】

제 1항 내지 제 9항, 및 제 11항 내지 제 13항 중 어느 한 항

【변경후】

제 1항 내지 제 9항 및 제 11항 내지 제 13항 중 어느 한 항