



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109641041 A

(43)申请公布日 2019.04.16

(21)申请号 201780049845.1

佛罗莱恩·克拉默 梅根·埃姆勒

(22)申请日 2017.06.14

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

(30)优先权数据

62/350,701 2016.06.15 US

62/355,679 2016.06.28 US

代理人 贺淑东

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2019.02.14

(51)Int.Cl.

A61K 39/12(2006.01)

A61K 39/145(2006.01)

C07K 14/005(2006.01)

C12N 7/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/037384 2017.06.14

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/218624 EN 2017.12.21

(71)申请人 西奈山伊坎医学院
地址 美国纽约州

(72)发明人 彼得·帕雷斯
阿道夫·加西亚-塞斯特

权利要求书15页 说明书180页
序列表92页 附图55页

(54)发明名称

流感病毒血细胞凝集素蛋白及其用途

(57)摘要

本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽及其用于诱导针对流感病毒的免疫应答(例如,抗体反应)的用途。本文还提供的是在对象中产生针对所述嵌合HA多肽的抗体的方法。

1. 一种嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽, 其包含来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域, 所述血细胞凝集素胞外域包含一项、两项、三项或所有以下的:

a. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

b. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;

c. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基; 和

d. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。

2. 一种嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽, 其包含来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域, 所述血细胞凝集素胞外域包含一项、两项、三项或所有以下的:

a. 处在所述乙型流感病毒HA的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

b. 处在所述乙型流感病毒HA的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;

c. 处在所述乙型流感病毒HA的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基; 和

d. 处在所述乙型流感病毒HA的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。

3. 权利要求1或2所述的嵌合HA多肽, 其进一步包含所述乙型流感病毒HA的信号肽。

4. 权利要求1、2或3所述的嵌合HA多肽, 其进一步包含所述乙型流感病毒HA的跨膜结构域和胞质尾部结构域。

5. 权利要求1到4的任一项所述的嵌合HA多肽, 其中所述乙型流感病毒是Yamagata系或Victoria系的。

6. 权利要求1到4的任一项所述的嵌合HA多肽, 其中所述乙型流感病毒是流感B/

Yamagata/16/88。

7. 权利要求1到6的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒是H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17或H18的甲型流感病毒。

8. 权利要求1到6的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒是H5HA亚型。

9. 权利要求7所述的嵌合HA多肽,其中

a. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代;

b. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代;

c. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代;和/或

d. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。

10. 权利要求8或9所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

11. 权利要求8到10的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述H5亚型是流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒。

12. 权利要求1到6的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒是H8HA亚型。

13. 权利要求12所述的嵌合HA多肽,其中

a. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYINVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代;

b. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代;

c. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代;和/或

d. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。

14. 权利要求12所述的嵌合HA多肽,其中

a. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYINVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代;

b. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代;

c. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 或KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代;和/或

d. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 或PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。

15. 权利要求12或13所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

16. 权利要求12、13或15所述的嵌合HA多肽,其中所述H8亚型是流感A/Mallard/Sweden/24/2002病毒。

17. 权利要求1到6的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒是H11HA亚型。

18. 权利要求17所述的嵌合HA多肽,其中

a. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代;

b. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代;

c. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代;和/或

d. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 或ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。

19. 权利要求17所述的嵌合HA多肽,其中

a. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代;

b. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 或KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代;

c. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代;和/或

d. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 或ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。

20. 权利要求17或18所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

21. 权利要求17、18或20所述的嵌合HA多肽,其中所述H11亚型是流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99。

22. 权利要求1到6的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒是H12HA亚型。

23. 权利要求22所述的嵌合HA多肽,其中

a. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINA ETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代;

b. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代;

c. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代;和/或

d. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID

NO:7)被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66)取代。

24. 权利要求22或23所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

25. 权利要求22到24的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述H12亚型是流感A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007。

26. 权利要求1到6的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒是H13HA亚型。

27. 权利要求26所述的嵌合HA多肽,其中

a. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59)取代;

b. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60)取代;

c. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61)取代;和/或

d. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62)取代。

28. 权利要求26或27所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

29. 权利要求26到28的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述H13亚型是流感A/black headed gull/Sweden/1/99。

30. 一种嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含:

a. 来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有一项、两项、三项或所有以下的

i. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

ii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;

iii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和

iv. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和

b. 来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。

31. 一种嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽, 其包含:

a. 来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域, 其具有一项、两项、三项或所有以下的

i. 处在所述乙型流感病毒HA的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

ii. 处在所述乙型流感病毒HA的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;

iii. 处在所述乙型流感病毒HA的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基; 和

iv. 处在所述乙型流感病毒HA的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基; 和

b. 来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。

32. 权利要求30或31所述的嵌合HA多肽, 其中所述乙型流感病毒是Yamagata系或Victoria系的。

33. 权利要求32所述的嵌合HA多肽, 其中所述乙型流感病毒是流感B/Yamagata/16/88。

34. 权利要求30到33的任一项所述的嵌合HA多肽, 其中所述甲型流感病毒是H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17或H18的甲型流感病毒。

35. 权利要求30到33的任一项的所述嵌合HA多肽, 其中所述甲型流感病毒HA是H5HA亚型。

36. 权利要求35所述的嵌合HA多肽, 其中

a. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINA EHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代;

b. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代;

c. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代; 和/或

d. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。

37. 权利要求35或36所述的嵌合HA多肽, 其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代: 120环、150环、160环和190螺旋。

38. 权利要求35到37的任一项所述的嵌合HA多肽, 其中所述H5亚型是流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒。

39. 权利要求30到33的任一项的所述嵌合HA多肽, 其中所述甲型流感病毒HA是H8HA亚型。

40. 权利要求39所述的嵌合HA多肽, 其中

a. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代;

b. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代;

c. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代; 和/或

d. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。

41. 权利要求39或40所述的嵌合HA多肽, 其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代: 120环、150环、160环和190螺旋。

42. 权利要求39到41的任一项所述的嵌合HA多肽, 其中所述H8亚型是流感A/Mallard/Sweden/24/2002病毒。

43. 权利要求30到33的任一项的所述嵌合HA多肽, 其中所述甲型流感病毒HA是H11HA亚型。

44. 权利要求43所述的嵌合HA多肽, 其中

a. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代;

b. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代;

c. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代; 和/或

d. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 或ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。

45. 权利要求43或44所述的嵌合HA多肽, 其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代: 120环、150环、160环和190螺旋。

46. 权利要求43到45的任一项所述的嵌合HA多肽, 其中所述H11亚型是流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99。

47. 权利要求30到33的任一项的所述嵌合HA多肽, 其中所述甲型流感病毒HA是H12HA亚型。

48. 权利要求47所述的嵌合HA多肽, 其中

a. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代;

b. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代;

c. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:

5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代;和/或

d. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。

49. 权利要求47或48所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

50. 权利要求47到49的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述H12亚型是流感A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007。

51. 权利要求30到33的任一项的所述嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒HA是H13HA亚型。

52. 权利要求51所述的嵌合HA多肽,其中

a. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代;

b. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代;

c. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代;和/或

d. 乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。

53. 权利要求51或52所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

54. 权利要求51到53的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述H13亚型是流感A/black headed gull/Sweden/1/99。

55. 一种嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:27中列出的氨基酸序列,或SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:27中列出的没有信号肽的氨基酸序列。

56. 一种嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:25中列出的氨基酸序列,或SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:25中列出的没有信号肽的氨基酸序列。

57. 一种嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:27中列出的流感病毒HA胞外域的氨基酸序列。

58. 一种嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:25中列出的流感病毒HA胞外域的氨基酸序列。

59. 一种嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48或SEQ ID NO:50中列出的氨基酸序列,或SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48或SEQ ID NO:50中列出的没有信号肽的氨基酸序列。

60. 一种嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48或SEQ ID NO:50中列出的流感病毒HA胞外域的氨基酸序列。

61. 权利要求1到60的任一项所述的嵌合HA多肽,其是分离的。

62. 一种核酸序列,其编码权利要求1到13、15到18、20到29、59或60的任一项所述的嵌合HA多肽。

63. 一种核酸序列,其编码权利要求30到55或57的任一项所述的嵌合HA多肽。
64. 一种核酸序列,其编码权利要求14、18、56或58的任一项所述的嵌合HA多肽。
65. 一种核酸序列,其包含SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:26中列出的核苷酸序列,或其互补物。
66. 一种核酸序列,其包含SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:24中列出的核苷酸序列,或其互补物。
67. 一种核酸序列,其包含SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47或SEQ ID NO:49中列出的核苷酸序列,或其互补物。
68. 权利要求62或67所述的核酸序列,进一步包含核苷酸序列,所述核苷酸序列包含乙型流感病毒的5'和3'非编码区。
69. 权利要求62到68的任一项所述的核酸序列,其中所述核酸序列是cDNA。
70. 权利要求62到69的任一项所述的核酸序列,其是分离的。
71. 一种表达载体,其包含权利要求62到69的任一项所述的核酸序列。
72. 一种病毒载体,其包含权利要求62到69的任一项所述的核酸序列。
73. 一种乙型流感病毒,其被工程化以表达权利要求62、67或68所述的核酸序列。
74. 一种甲型流感病毒,其被工程化以表达权利要求63或65所述的核酸序列。
75. 一种流感病毒,其被工程化以表达权利要求1到13、15到18、20到29、59或60的任一项所述的嵌合HA多肽。
76. 权利要求75所述的流感病毒,其中所述流感病毒是乙型流感病毒。
77. 权利要求76所述的流感病毒,其中所述嵌合HA多肽由包含乙型流感病毒的5'和3'非编码区的核苷酸序列编码。
78. 一种乙型流感病毒,其包含权利要求1到13、15到18、20到29、59或60的任一项所述的嵌合HA多肽。
79. 一种甲型流感病毒,其被工程化以表达权利要求1、2、30到55或57的任一项所述的嵌合HA多肽。
80. 一种甲型流感病毒,其包含权利要求1、2、30到55或57的任一项所述的嵌合HA多肽。
81. 权利要求74或79所述的流感病毒,其中所述嵌合HA多肽由包含甲型流感病毒的5'和3'非编码区的核苷酸序列编码。
82. 权利要求73到81的任一项所述的流感病毒,其是减毒的。
83. 权利要求78或80所述的流感病毒,其是灭活的。
84. 一种病毒样颗粒,其包含权利要求1到60的任一项所述的嵌合HA多肽。
85. 一种亚单位疫苗,其包含权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA多肽。
86. 一种裂解疫苗,其包含权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA多肽。
87. 一种免疫原性组合物,其包含权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA多肽。
88. 一种免疫原性组合物,其包含权利要求73到83的任一项所述的流感病毒。
89. 一种免疫原性组合物,其包含权利要求84的病毒样颗粒。
90. 权利要求87到89的任一项所述的免疫原性组合物,其包含佐剂。
91. 权利要求85所述的亚单位疫苗,其包含佐剂。
92. 权利要求86所述的裂解疫苗,其包含佐剂。

93. 一种在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法, 其包括向所述对象施用权利要求87到90的任一项所述的免疫原性组合物。

94. 一种在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法, 其包括向所述对象施用权利要求85或91所述的亚单位疫苗。

95. 一种在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法, 其包括向所述对象施用权利要求86或92所述的裂解疫苗。

96. 一种在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法, 其包括

a. 向所述对象施用包含第一嵌合HA的第一免疫原性组合物, 所述第一嵌合HA是权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA; 和

b. 在所述第一免疫原性组合物的施用之后一定时间段, 向所述对象施用包含第二嵌合HA的第二免疫原性组合物, 所述第二嵌合HA是权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA, 其中所述第一和第二嵌合HA不是相同的。

97. 一种在已经施用第一免疫原性组合物的对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法, 包括向所述对象施用包含第二嵌合HA的第二免疫原性组合物, 所述第二嵌合HA是权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA, 其中所述第一免疫原性组合物包含第一嵌合HA, 所述第一嵌合HA是权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA, 以及其中所述第一和第二嵌合HA不是相同的。

98. 权利要求96或97所述的方法, 其中所述第一和第二嵌合HA包含乙型流感病毒的胞外域, 所述乙型流感病毒的胞外域包含相同的茎杆结构域, 但具有一项、两项、三项或所有以下的: (i) 不同的120环, (ii) 不同的150环, (iii) 不同的160环, 和/或 (iv) 不同的190螺旋。

99. 权利要求96到98所述的方法, 其中所述方法进一步包括向所述对象施用包含第三嵌合HA的第三免疫原性组合物, 所述第三嵌合HA是权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA, 其中所述第一、第二和第三嵌合HA不是相同的。

100. 权利要求99所述的方法, 其中所述第一、第二和第三嵌合HA包含乙型流感病毒的胞外域, 所述乙型流感病毒的胞外域包含相同的茎杆结构域, 但具有一项、两项、三项或所有以下的: (i) 不同的120环, (ii) 不同的150环, (iii) 不同的160环, 和/或 (iv) 不同的190螺旋。

101. 权利要求99或100所述的方法, 其中所述第三免疫原性组合物在所述第二免疫原性组合物的施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。

102. 权利要求96到101的任一项所述的方法, 其中所述第二免疫原性组合物在所述第一免疫原性组合物的施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。

103. 一种在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法, 其包括:

a. 包含第一嵌合HA多肽的第一免疫原性组合物向所述对象的第一次施用, 其中所述第一嵌合HA多肽包含第一乙型流感病毒的第一胞外域, 所述第一胞外域包含:

i. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

ii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;

iii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和

iv. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和

b. 在所述第一次施用之后第一时间段的包含第二嵌合HA多肽的第二免疫原性组合物向所述对象的第二次施用,其中所述第二嵌合HA多肽包含第二乙型流感病毒的第二胞外域,所述第二胞外域包含:

i. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

ii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;

iii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和

iv. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和

c. 在所述第二次施用之后第二时间段的包含第三嵌合HA多肽的第三免疫原性组合物向所述对象的第三次施用,其中所述第三嵌合HA多肽包含第三乙型流感病毒的第三胞外

域,所述第三胞外域包含:

i. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

ii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;

iii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和

iv. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。

104. 权利要求103所述的方法,其中所述第一嵌合HA多肽作为编码所述多肽的核酸施用给所述对象。

105. 权利要求103所述的方法,其中所述第一嵌合HA多肽作为流感病毒的部分施用给所述对象。

106. 权利要求103到105的任一项所述的方法,其中所述第一、第二和第三亚型是不同的。

107. 权利要求106所述的方法,所述亚型选自由H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17和H18构成的组。

108. 权利要求106所述的方法,其中所述亚型选自由H5、H8、H11、H12和H13构成的组。

109. 权利要求103到105的任一项所述的方法,其中所述第一时间段是在所述第一次施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。

110. 权利要求103到105的任一项所述的方法,其中所述第二时间段是在所述第二次施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。

111. 权利要求93到110的任一项所述的方法,其中所述对象是人类。

112. 权利要求87到90的任一项所述的免疫原性组合物,用于在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法中,其中所述方法包括向所述对象施用所述免疫原性组合物。

113. 权利要求85或91所述的亚单位疫苗,用于在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法中,其中所述方法包括向所述对象施用所述亚单位疫苗。

114. 权利要求86或92所述的裂解疫苗,用于在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应

答的方法中,其中所述方法包括向所述对象施用所述裂解疫苗。

115. 一种第一免疫原性组合物,用于在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法中,其中所述方法包括:

a. 向所述对象施用所述第一免疫原性组合物,其中所述第一免疫原性组合物包含第一嵌合HA,所述第一嵌合HA是权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA;和

b. 在所述第一免疫原性组合物的施用之后一定时间段,向所述对象施用包含第二嵌合HA的第二免疫原性组合物,所述第二嵌合HA是权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA,

其中所述第一和第二嵌合HA不是相同的。

116. 一种第二免疫原性组合物,用于在已经施用第一免疫原性组合物的对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法中,其中所述方法包括向所述对象施用所述第二免疫原性组合物,其中所述第二免疫原性组合物包含第二嵌合HA,所述第二嵌合HA是权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA,其中所述第一免疫原性组合物包含第一嵌合HA,所述第一嵌合HA是权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA,以及其中所述第一和第二嵌合HA不是相同的。

117. 权利要求115的用途的所述第一免疫原性组合物,其中所述第一和第二嵌合HA包含乙型流感病毒的胞外域,所述乙型流感病毒的胞外域包含相同的茎杆结构域,但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i) 不同的120环,(ii) 不同的150环,(iii) 不同的160环,和/或(iv) 不同的190螺旋。

118. 权利要求116的用途的所述第二免疫原性组合物,其中所述第一和第二嵌合HA包含乙型流感病毒的胞外域,所述乙型流感病毒的胞外域包含相同的茎杆结构域,但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i) 不同的120环,(ii) 不同的150环,(iii) 不同的160环,和/或(iv) 不同的190螺旋。

119. 权利要求115或117的用途的所述第一免疫原性组合物,其中所述方法进一步包括向所述对象施用包含第三嵌合HA的第三免疫原性组合物,所述第三嵌合HA是权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA,其中所述第一、第二和第三嵌合HA不是相同的。

120. 权利要求116或118所述的所述第二免疫原性组合物,其中所述方法进一步包括向所述对象施用包含第三嵌合HA的第三免疫原性组合物,所述第三嵌合HA是权利要求1到61的任一项所述的嵌合HA,其中所述第一、第二和第三嵌合HA不是相同的。

121. 权利要求119的用途的所述第一免疫原性组合物,其中所述第一、第二和第三嵌合HA包含乙型流感病毒的胞外域,所述乙型流感病毒的胞外域包含相同的茎杆结构域,但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i) 不同的120环,(ii) 不同的150环,(iii) 不同的160环,和/或(iv) 不同的190螺旋。

122. 权利要求120的用途的所述第二免疫原性组合物,其中所述第一、第二和第三嵌合HA包含乙型流感病毒的胞外域,所述乙型流感病毒的胞外域包含相同的茎杆结构域,但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i) 不同的120环,(ii) 不同的150环,(iii) 不同的160环,和/或(iv) 不同的190螺旋。

123. 权利要求119或121的用途的所述第一免疫原性组合物,其中所述第三免疫原性组合物在所述第二免疫原性组合物的施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。

124. 权利要求120或122的用途的所述第二免疫原性组合物,其中所述第三免疫原性组合物在所述第二免疫原性组合物的施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。

125. 权利要求115、117、119或121的用途的所述第一免疫原性组合物,其中所述第二免疫原性组合物在所述第一免疫原性组合物的施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。

126. 权利要求116、118、120或122的用途的所述第二免疫原性组合物,其中所述第二免疫原性组合物在所述第一免疫原性组合物的施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。

127. 一种第一免疫原性组合物,用于在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法中,其中所述方法包括:

a. 所述第一免疫原性组合物的向所述对象的第一次施用,其中所述第一免疫原性组合物包含第一嵌合HA多肽,以及其中所述第一嵌合HA多肽包含第一乙型流感病毒的第一胞外域,所述第一乙型流感病毒的第一胞外域包含:

i. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

ii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;

iii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和

iv. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和

b. 在所述第一次施用之后第一时间段的包含第二嵌合HA多肽的第二免疫原性组合物向所述对象的第二次施用,其中所述第二嵌合HA多肽包含第二乙型流感病毒的第二胞外域,所述第二胞外域包含:

i. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用第二亚型的甲

型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基；

ii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基；

iii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基；和

iv. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基；和

c. 在所述第二次施用之后第二时间段的包含第三嵌合HA多肽的第三免疫原性组合物向所述对象的第三次施用，其中所述第三嵌合HA多肽包含第三乙型流感病毒的第三胞外域，所述第三胞外域包含：

i. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基；

ii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基；

iii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基；和

iv. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。

128. 权利要求127的用途的所述第一免疫原性组合物，其中所述第一嵌合HA多肽作为编码所述多肽的核酸施用给所述对象。

129. 权利要求127的用途的所述第一免疫原性组合物，其中所述第一嵌合HA多肽作为流感病毒的部分施用给所述对象。

130. 权利要求127到129的任一项目的用途的所述第一免疫原性组合物, 其中所述第一、第二和第三亚型是不同的。

131. 权利要求130的用途的所述第一免疫原性组合物, 其中所述亚型选自由H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17和H18构成的组。

132. 权利要求130的用途的所述第一免疫原性组合物, 其中所述亚型选自由H5、H8、H11、H12和H13构成的组。

133. 权利要求127到132的任一项目的用途的所述第一免疫原性组合物, 其中所述第一时间段是在所述第一次施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。

134. 权利要求127到133的任一项目的用途的所述第一免疫原性组合物, 其中所述第二时间段是在所述第二次施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。

135. 权利要求112或115到134的任一项目的用途的所述免疫原性组合物, 或113或114的用途的所述疫苗, 其中所述对象是人类。

流感病毒血细胞凝集素蛋白及其用途

[0001] 本申请要求2016年6月15日提交的美国临时申请No.62/350,701以及2016年6月28日提交的美国临时申请No.62/355,679的权益,它们每一个通过引用以其整体合并并在本文中。

[0002] 本发明是在生物医学高级研究和发展管理局授予的拨款号HHS0100201500010C,国立卫生研究院授予的拨款号5T32AI007647、U19AI109946和1P01AI097092,以及由流感研究和监测卓越中心授予的拨款号HHSN272201400008C的支持下做出的。政府在本发明中拥有一定权利。

[0003] 本申请通过引用并入序列表,其是随本申请提交的、2017年6月12日创建的标题为“Sequence_Listing_6923_261_228.txt”的文本文件,大小是206千字节。

[0004] 1.引言

[0005] 本文提供的是嵌合流感病毒血细胞凝集素蛋白。

[0006] 2.背景

[0007] 流感病毒是属于正粘病毒科的包膜RNA病毒(Palese and Shaw (2007) Orthomyxoviridae: The Viruses and Their Replication, 5th ed. Fields' Virology, edited by B.N. Fields, D.M. Knipe and P.M. Howley. Wolters Kluwer Health/ Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, p1647-1689)。甲型流感病毒的天然宿主主要是禽类,但是甲型流感病毒(包括禽类来源的那些)也可以在人类和其他动物宿主(蝙蝠、犬、猪、马、海洋哺乳动物和鼯类)中感染并导致疾病。例如,在亚洲传播的H5N1甲型禽流感已经在中国和印度尼西亚的猪中发现,还已将其宿主范围扩展到包括猫、豹和虎,这些一般不被认为易感于甲型流感(CIDRAP-Avian Influenza: Agricultural and Wildlife Considerations)。在动物中流感病毒感染的发生可能潜在地产生人类大流行性流感毒株。

[0008] 甲型和乙型流感病毒是主要的人病原体,引起呼吸道疾病,其在严重度上从亚临床的感染到可能引起死亡的原发性病毒性肺炎。感染的临床影响随着流感毒株的毒力以及宿主的暴露、病史、年龄和免疫状态而变化。由季节性流感引起的累积发病和死亡实质上是由于相对高的发病率。在正常季节,在世界范围内流感可以导致3-5百万严重病例和达到500,000例死亡(World Health Organization (2003) Influenza: Overview; 2003年3月)。在美国,每年流感病毒感染估计10-15%的人群(Glezen and Couch RB (1978) Interpandemic influenza in the Houston area, 1974-76. N Engl J Med 298:587-592; Fox et al. (1982) Influenza virus infections in Seattle families, 1975-1979. II. Pattern of infection in invaded households and relation of age and prior antibody to occurrence of infection and related illness. Am J Epidemiol 116:228-242),并且与大约30,000例死亡相关(Thompson WW et al. (2003) Mortality Associated with Influenza and Respiratory Syncytial Virus in the United States. JAMA 289:179-186; Belshe (2007) Translational research on vaccines: influenza as an example. Clin Pharmacol Ther 82:745-749)。

[0009] 对流感病毒感染进行保护的有效途径是通过疫苗接种;然而,当前的疫苗接种方

法依靠实现流行毒株与疫苗中包括的分离株之间的良好匹配。由于多种因素的组合,这样的匹配经常难以达到。首先,流感病毒不断地经历改变:每3-5年,甲型流感病毒的优势毒株被变体替代,其经历了足够的抗原性漂移以逃避现有的抗体反应。因而必需每年根据世界卫生组织(WHO)合作中心的密集监测工作来选择包括在疫苗制品中的分离株。第二,为了容许足够的时间用于疫苗制造和分发,必需在流感季开始之前大约六个月选择毒株。经常地,疫苗毒株选择委员会的预测是不准确的,引起疫苗接种效力的实质降低。

[0010] 新的流感病毒亚型进入人类群体的可能性也是对当前的疫苗接种策略的重大挑战。因为不可能预测什么样的流感病毒亚型和毒株将导致接下来的大流行,当前的毒株特异性的方法不能用于在大流行之前制备大流行流感疫苗。因而,需要针对不同的流感病毒毒株和/或亚型交叉保护对象的疫苗。

[0011] 3. 概述

[0012] 在一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的抗原环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的所述环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环、150环、160环或190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环、150环、160环或190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。在一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAETHAPGGPYRL(SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAETHAPGGPYRL(SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL(SEQ ID NO:51)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL(SEQ ID NO:51)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被来自甲

型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。

在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的

实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120

环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽也可以包含来自乙型流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在其他实施方式中,所述嵌合HA多肽包含来自乙型流感病毒HA的信号肽,但是缺乏跨膜结构域和胞质尾部结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽也可以包含来自甲型流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在其他实施方式中,所述嵌合HA多肽包含来自甲型流感病毒HA的信号肽,但是缺乏跨膜结构域和胞质尾部结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA包含所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的信号肽。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化(例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述嵌合HA包含所述甲型流感病毒的信号肽。在某些实施方式中,所述嵌合HA包含所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的信号肽、跨膜结构域和胞质结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽还可以包含来自流感病毒的HA的信号肽,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽还可以包含来自流感病毒的HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。本文还提供的是核酸,其包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自乙型流感病毒HA的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自甲型流感病毒HA的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化(例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述甲型流感病毒的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自流感病毒的流感病毒HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在具体的实施方式中,所述嵌合HA多肽是可溶的。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA的球形头部结构域中、所述120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147(包括信号肽)可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/

Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156(谷氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,赖氨酸)取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250(甘氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,谷氨酸)取代。

[0013] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含一项、两项、三项或所有以下的:(i)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;(ii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;(iii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和(iv)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋

中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和

KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式

中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基**LKSGQF** (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基**PTSDMQI** (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**TIP** 和 **NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL** (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**NIP**和**RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL** (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**VSTNMAK** (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽也可以包含来自乙型流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在其他实施方式中,所述嵌合HA多肽包含来自乙型流感病毒HA的信号肽,但是缺乏跨膜结构域和胞质尾部结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽也可以包含来自甲型流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在其他实施方式中,所述嵌合HA多肽包含来自甲型流感病毒HA的信号肽,但是缺乏跨膜结构域和胞质尾部结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA包含所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的信号肽。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化(例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述嵌合HA包含所述甲型

流感病毒的信号肽。在某些实施方式中,所述嵌合HA包含所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的信号肽、跨膜结构域和胞质结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽还可以包含来自流感病毒的HA的信号肽,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽还可以包含来自流感病毒的HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。本文还提供的是核酸,其包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自乙型流感病毒HA的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自甲型流感病毒HA的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化(例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述甲型流感病毒的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自流感病毒的流感病毒HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在具体的实施方式中,所述嵌合HA多肽是可溶的。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA的球形头部结构域中、所述120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147(包括信号肽)可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156(谷氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,赖氨酸)取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250(甘氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,谷氨酸)取代。

[0014] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的120环、150环、160环或190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代,和(ii)来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的120环、150环、160环或190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。在一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,和(ii)来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,和(ii)来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的

150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,和(ii)来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,和(ii)来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL(SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL(SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG(SEQ ID NO:3)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的氨基酸残基YQGKSS(SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG(SEQ ID NO:3)被氨基酸残基YQGKSS(SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG(SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的氨基酸残基PYQGKSS(SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG(SEQ ID NO:18)被氨基酸残基PYQGKSS(SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA(SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY(SEQ ID NO:6)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA(SEQ ID NO:5)被氨基酸残基KKNSTY(SEQ ID NO:6)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN(SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT(SEQ ID NO:8)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN(SEQ ID NO:7)被氨基酸残基NDAAMQT(SEQ ID NO:8)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和

NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨

氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northernshoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKM HQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ATLKM HQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior

Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headedgull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA的球形头部结构域中、所述120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147 (包括信号肽) 可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156 (谷氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,赖氨酸) 取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250 (甘氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,谷氨酸) 取代。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自相同的谱系。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自相同的谱系,但是是不同的毒株。在具体的实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型流感病毒毒株相同的毒株。在另一个实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型流感病毒毒株不同的毒株。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自不同的谱系。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述第一乙型流感病毒来自Victoria系。在某些实施方式中,所述第二乙型流感病毒毒株

来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述第二乙型流感病毒来自Victoria系。在具体的实施方式中,所述第二乙型流感病毒毒株是与含有、表达、或含有并表达所述嵌合HA的流感病毒的流感病毒主干相同的毒株。在具体的实施方式中,得出氨基酸残基用于在一个、两个、三个或更多个所述环中的氨基酸取代的甲型流感病毒是H5(例如,A/Vietnam/1203/04(HALo))、H8(例如,A/mallard/Sweden/24/2002)、H11(例如,A/northern shoveler/Netherlands/18/99)、H12毒株(例如,A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007)或H13毒株(例如,A/black headed gull/Sweden/1/99)。

[0015] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含:(a)来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有一项、两项、三项或所有以下的(i)处在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;(ii)处在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;(iii)处在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和(iv)处在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和(b)来自第二乙型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3)被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/

Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌

合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和

RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含

在乙型流感病毒HA的球形头部结构域中,一个、两个、三个或所有以下:120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后一个氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147(包括信号肽)可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156(谷氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,赖氨酸)取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250(甘氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,谷氨酸)取代。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自相同的谱系。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自相同的谱系,但是是不同的毒株。在具体的实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型流感病毒毒株相同的毒株。在另一个实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型流感病毒毒株不同的毒株。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自不同的谱系。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述第一乙型流感病毒来自Victoria系。在某些实施方式中,所述第二乙型流感病毒毒株来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述第二乙型流感病毒来自Victoria系。在具体的实施方式中,所述第二乙型流感病毒毒株是与含有、表达、或含有并表达所述嵌合HA的流感病毒的流感病毒主干相同的毒株。在具体的实施方式中,得出氨基酸残基用于在一个、两个、三个或更多个所述环中的氨基酸取代的甲型流感病毒是H5(例如,A/Vietnam/1203/04(HA_{Lo}))、H8(例如,A/mallard/Sweden/24/2002)、H11(例如,A/northern shoveler/Netherlands/18/99)、H12毒株(例如,A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007)或H13毒株(例如,A/black headed gull/Sweden/1/99)。

[0016] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环、150环、160环或190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环、150环、160环或190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。在一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)

多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP以及NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINA EHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINA EHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3)被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51)取

代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG

(SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基**HQSGTY** (SEQ ID NO:57)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**TTLKMHQ** (SEQ ID NO:58)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**ATLKMHQ** (SEQ ID NO:70)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**TIP**和**NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL** (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基**YIP**和**RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL** (SEQ ID NO:63)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基**LKSGQF** (SEQ ID NO:65)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基**PTSDMQI** (SEQ ID NO:66)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID

N0:66) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA的球形头部结构域中、所述120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147 (包括信号肽) 可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156 (谷氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,赖氨酸) 取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250 (甘氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,谷氨酸) 取代。在某些实施方式中,所述乙型流感病毒来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述型流感病毒来自Victoria系。在具体的实施方式中,得出氨基酸残基用于在一个、两个、三个或更多个所述环中的氨基酸取代的甲型流感病毒是H5 (例如,A/Vietnam/1203/04 (HALo))、H8 (例如,A/mallard/Sweden/24/2002)、H11 (例如,A/northern shoveler/Netherlands/18/99)、H12毒株 (例如,A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007) 或H13毒株 (例如,A/black headed gull/Sweden/1/99)。本文还提供的是核酸,其包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码嵌合HA多肽的核苷酸序列以及来自甲型流感病毒的5'非编码区和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化 (例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述核

酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述甲型流感病毒的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自流感病毒的流感病毒HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。

[0017] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含:(a)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有一项、两项、三项或所有以下的(i)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;(ii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;(iii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和(iv)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和(b)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP以及NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINA EHAPGGPYRL(SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINA EHAPGGPYRL(SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVT SRNG(SEQ ID NO:3)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的氨基酸残基YQGKSS(SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVT SRNG(SEQ ID NO:3)被氨基酸残基YQGKSS(SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVT SRNG(SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的氨基酸残基PYQGKSS(SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVT SRNG(SEQ ID NO:18)被氨基酸残基PYQGKSS(SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA(SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY(SEQ ID NO:6)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA(SEQ ID NO:5)被氨基酸残基KKNSTY(SEQ ID NO:6)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN(SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT

(SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/

northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基

PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基**LKSGQF** (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基**PTSDMQI** (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**TIP**和**NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL** (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**NIP**和**RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL** (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**VSTNMAK** (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA的球形头部结构域中、所述120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147 (包括信号肽) 可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156 (谷氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,赖氨酸) 取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250 (甘氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,谷氨酸) 取代。在某些实施方式中,所述乙型流感病毒来自

Yamagata系。在其他实施方式中,所述型流感病毒来自Victoria系。在具体的实施方式中,得出氨基酸残基用于在一个、两个、三个或更多个所述环中的氨基酸取代的甲型流感病毒是H5(例如,A/Vietnam/1203/04(HALo))、H8(例如,A/mallard/Sweden/24/2002)、H11(例如,A/northern shoveler/Netherlands/18/99)、H12毒株(例如,A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007)或H13毒株(例如,A/black headed gull/Sweden/1/99)。本文还提供的是核酸,其包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码嵌合HA多肽的核苷酸序列以及来自甲型流感病毒的5'非编码区和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码嵌合HA多肽的核苷酸序列以及来自乙型流感病毒的5'非编码区和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化(例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述甲型流感病毒的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自流感病毒的流感病毒HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图12A和附图12B中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图14A和附图14B中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图16A和附图16B中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图18A和附图18B中列出的核苷酸序列或其互补物。

[0018] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的抗原环(例如,120环、150环、160环和/或190螺旋)内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用不影响所述HA的构象/结构的随机氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的所述环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。除了这些氨基酸残基取代之外,可以引入所述抗原环之外的一个或更多个取代。选择所述氨基酸取代,根据本领域技术人员已知的或本文描述的技术所测定的,使得所述嵌合HA的折叠不受显著影响。此外,可以选择所述氨基酸取代,使得N-连接的糖基化位点(N-X-S/T)的编码序列不被改变或不被显著改变。氨基酸取代对构象/结构的影响可以通过本领域技术人员已知的分析来测定,例如,结构程序、晶体成像或功能分析。参见,例如,下文的章节5.11和章节6。例如,可以使用与HA的球形头部结构域或HA的茎杆结构域中的保守表位结合的单克隆抗体面板评估抗原性保守性。在具体的实施方式中,下文的章节6中描述的方法被用于评估所述嵌合HA的抗原性保守性。此外,可以使用本领域技术人员已知的或本文描述的技术(参见,例如,下文的章节6,包括其中描述的HI分析)评估本文描述的嵌合HA多肽来确定乙型流感病毒HA的抗原环是否突变。特别地,可以使用本领域技术人员已知的或本文描述的技术(参见,例如,下文的章节6,包括其中描述的HI分析)评估本文描述的嵌合HA多肽来确定乙型流感病毒HA的抗原环中的氨基酸取代是否引起乙型流感病毒HA的可变区的丢失。在具体的实施方式中,可以使用本领域技术人员已知的或本文描述的技术(参见,例如,下文的章节6,包括其中描述的HI分析)评估本文描述的嵌合HA多肽来确定乙型流感病毒HA的抗原环中的氨基酸取代是否降低或消除乙型流感病毒HA的免疫决定表位。在具体的

实施方式中,在例如下文的章节6中描述的HI分析中评估本文描述的嵌合HA多肽,来评估乙型流感病毒HA的抗原环中的替换。

[0019] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的抗原环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的所述环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的120环、150环、160环或190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的120环、150环、160环或190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。在一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基T**I**P以及NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基T**I**P和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基T**I**P和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基T**I**P和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interiorAlaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基Y**I**P和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙

型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合

血细胞凝集素 (HA) 多肽, 其包含乙型流感病毒的HA胞外域, 所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下粗体和下划线氨基酸残基**KKNSTY** (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基**KKKADTY** (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基**KKKPDY** (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基**HQSGTY** (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基**LKSGQF** (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNY (SEQ ID NO:61) 取代。在另一个实施方式中, 本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽, 其包含乙型流感病毒的HA胞外域, 所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基**NDAAMQT** (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN**

(SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基~~ADAKMQT~~ (SEQ ID NO:54)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基~~ADAKMQT~~ (SEQ ID NO:54)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基~~NKNQMKN~~ (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基~~PDAKMQT~~ (SEQ ID NO:69)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基~~PDAKMQT~~ (SEQ ID NO:69)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基~~NKNQMKN~~ (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基~~TTLKMHQ~~ (SEQ ID NO:58)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基~~TTLKMHQ~~ (SEQ ID NO:58)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基~~NKNQMKN~~ (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基~~ATLKMHQ~~ (SEQ ID NO:70)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基~~ATLKMHQ~~ (SEQ ID NO:70)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基~~NKNQMKN~~ (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基~~PTSDMQI~~ (SEQ ID NO:66)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基~~PTSDMQI~~ (SEQ ID NO:66)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基~~NKNQMKN~~ (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基~~VSTNMAK~~ (SEQ ID NO:62)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基~~VSTNMAK~~ (SEQ ID NO:62)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基

酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽也可以包含来自乙型流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在其他实施方式中,所述嵌合HA多肽包含来自乙型流感病毒HA的信号肽,但是缺乏跨膜结构域和胞质尾部结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽也可以包含来自甲型流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在其他实施方式中,所述嵌合HA多肽包含来自甲型流感病毒HA的信号肽,但是缺乏跨膜结构域和胞质尾部结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA包含所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的信号肽。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化(例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述嵌合HA包含所述甲型流感病毒的信号肽。在某些实施方式中,所述嵌合HA包含所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的信号肽、跨膜结构域和胞质结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽还可以包含来自流感病毒的HA的信号肽,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽还可以包含来自流感病毒的HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。本文还提供的是核酸,其包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自乙型流感病毒HA的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自甲型流感病毒HA的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化(例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述甲型流感病毒的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自流感病毒的流感病毒HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在具体的实施方式中,所述嵌合HA多肽是可溶的。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA中、所述120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147(包括信号肽)可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156(谷氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,赖氨酸)取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250(甘氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,谷氨酸)取代。

[0020] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含一项、两项、三项或所有以下的:(i)处在所述乙型流感病毒HA的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;(ii)处在所述乙型流感病毒HA的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;(iii)处在所述乙型流感病毒HA的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感

病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基；和(iv)处在所述乙型流感病毒HA的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中，乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中，本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋，其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中，本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋，其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残

基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体

的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:

59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**VSTNMAK** (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽也可以包含来自乙型流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在其他实施方式中,所述嵌合HA多肽包含来自乙型流感病毒HA的信号肽,但是缺乏跨膜结构域和胞质尾部结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽也可以包含来自甲型流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在其他实施方式中,所述嵌合HA多肽包含来自甲型流感病毒HA的信号肽,但是缺乏跨膜结构域和胞质尾部结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA包含所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的信号肽。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化(例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述嵌合HA包含所述甲型流感病毒HA的信号肽。在某些实施方式中,所述嵌合HA包含所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的信号肽、跨膜结构域和胞质结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽还可以包含来自流感病毒HA的信号肽,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽还可以包含来自流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。本文还提供的是核酸,其包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自乙型流感病毒HA的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自甲型流感病毒HA的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化(例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述甲型流感病毒的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自流感病毒的流感病毒HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在具体的实施方式中,所述嵌合HA多肽是

可溶的。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA中、所述120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147(包括信号肽)可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156(谷氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,赖氨酸)取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250(甘氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,谷氨酸)取代。

[0021] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的120环、150环、160环或190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的120环、150环、160环或190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。在一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的160环的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3)被来自甲型流感病毒

A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYINVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYINVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来

自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的

实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在

乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**VSTNMAK** (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基**VSTNMAK** (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA中、所述120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147 (包括信号肽) 可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156 (谷氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,赖氨酸) 取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250 (甘氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,谷氨酸) 取代。在某些实施方式中,所述乙型流感病毒来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述型流感病毒来自Victoria系。在具体的实施方式中,得出氨基酸残基用于在一个、两个、三个或更多个所述环中的氨基酸取代的甲型流感病毒是H5 (例如,A/Vietnam/1203/04 (HALo))、H8 (例如,A/mallard/Sweden/24/2002)、H11 (例如,A/northern shoveler/Netherlands/18/99)、H12毒株 (例如,A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007) 或H13毒株 (例如,A/black headed gull/Sweden/1/99)。本文还提供的是核酸,其包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自甲型流感病毒HA的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化 (例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述甲型流感病毒的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自流感病毒的流感病毒HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。

[0022] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含 (i) 来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述第一乙型流感病毒毒株HA的120环、150环、160环或190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代,和 (ii) 来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的120环、150环、160环或190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。在一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含 (i) 来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有所述第一乙型流感病毒毒株HA的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,和 (ii) 来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含 (i) 来自第一乙型流感病毒

毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述第一乙型流感病毒毒株HA的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,和(ii)来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述第一乙型流感病毒毒株HA的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,和(ii)来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述第一乙型流感病毒毒株HA的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,和(ii)来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP以及NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3)被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包

含一个、两个、三个或所有以下的：120环、150环、160环和190螺旋，其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中，本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的：120环、150环、160环和190螺旋，其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中，本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的：120环、150环、160环和190螺旋，其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中，在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和

KIELSTSNVINA~~E~~VAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKM~~H~~Q (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ATLKM~~H~~Q (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHN~~V~~INAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHN~~V~~INAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/

2007的氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA中,一个、两个、三个或所有以下:120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147 (包括信号肽) 可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156 (谷氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,赖氨酸) 取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250 (甘氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,谷氨酸) 取代。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自相同的谱系。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自相同的谱系,但是是不同的毒株。在具体的实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型

流感病毒毒株相同的毒株。在另一个实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型流感病毒毒株不同的毒株。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自不同的谱系。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述第一乙型流感病毒来自Victoria系。在某些实施方式中,所述第二乙型流感病毒毒株来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述第二乙型流感病毒来自Victoria系。在具体的实施方式中,所述第二乙型流感病毒毒株是与含有、表达、或含有并表达所述嵌合HA的流感病毒的流感病毒主干相同的毒株。在具体的实施方式中,得出氨基酸残基用于在一个、两个、三个或更多个所述环中的氨基酸取代的甲型流感病毒是H5(例如,A/Vietnam/1203/04 (HALo))、H8(例如,A/mallard/Sweden/24/2002)、H11(例如,A/northern shoveler/Netherlands/18/99)、H12毒株(例如,A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007)或H13毒株(例如,A/black headed gull/Sweden/1/99)。本文还提供的是核酸,其包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA多肽的核苷酸序列以及来自乙型流感病毒的5'编码区和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及流感病毒的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒包含、含有、或包含且含有所述嵌合HA。

[0023] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含:

[0024] (a) 来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有一项、两项、三项或所有以下的(i)处在所述乙型流感病毒HA的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;(ii)处在所述乙型流感病毒HA的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;(iii)处在所述乙型流感病毒HA的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和(iv)处在所述乙型流感病毒HA的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和(b)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP以及NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINA EHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINA EHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3)被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/

Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYINVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYINVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。

在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120

环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL(SEQ ID NO:63)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL(SEQ ID NO:63)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG(SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS(SEQ ID NO:64)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG(SEQ ID NO:18)被氨基酸残基NNTSNQGS(SEQ ID NO:64)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA(SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基LKSGQF(SEQ ID NO:65)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA(SEQ ID NO:5)被氨基酸残基LKSGQF(SEQ ID NO:65)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN(SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基PTSDMQI(SEQ ID NO:66)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN(SEQ ID NO:7)被氨基酸残基PTSDMQI(SEQ ID NO:66)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL(SEQ ID NO:59)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL(SEQ ID NO:59)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG(SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS(SEQ ID NO:60)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG(SEQ ID NO:18)被氨基酸残基PDKGASS(SEQ ID NO:60)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA(SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY(SEQ ID NO:61)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA(SEQ ID NO:5)被氨基酸残基KRGNQY(SEQ ID NO:61)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN(SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基VSTNMAK(SEQ ID NO:62)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/

Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA中、所述120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147 (包括信号肽) 可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156 (谷氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,赖氨酸) 取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250 (甘氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,谷氨酸) 取代。在某些实施方式中,所述乙型流感病毒来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述型流感病毒来自Victoria系。在具体的实施方式中,得出氨基酸残基用于在一个、两个、三个或更多个所述环中的氨基酸取代的甲型流感病毒是H5 (例如,A/Vietnam/1203/04 (HALo))、H8 (例如,A/mallard/Sweden/24/2002)、H11 (例如,A/northern shoveler/Netherlands/18/99)、H12毒株 (例如,A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007) 或H13毒株 (例如,A/black headed gull/Sweden/1/99)。本文还提供的是核酸,其包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA多肽的核苷酸序列以及来自甲型流感病毒的5'非编码区和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码嵌合HA多肽的核苷酸序列以及来自乙型流感病毒的5'非编码区和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化 (例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述甲型流感病毒的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自流感病毒的流感病毒HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图12A和附图12B中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图14A和附图14B中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图16A和附图16B中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图18A和附图18B中列出的核苷酸序列或其互补物。

[0025] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含: (a) 来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有一项、两项、三项或所有以下的 (i) 处在所述第一乙型流感病毒毒株HA的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基; (ii) 处在所述第一乙型流感病毒毒株HA的150环的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基; (iii) 处在所述第一乙型流感病毒毒株HA的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸

残基;和(iv)处在所述第一乙型流感病毒毒株HA的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和(b)来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKINVINA EHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基FIP和KIQLSTKINVINA EHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVT SRNG (SEQ ID NO:3) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVT SRNG (SEQ ID NO:3) 被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVT SRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVT SRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTY NVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTY NVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVT SRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残

基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/

Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基LKSQGF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSQGF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/

black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA中,一个、两个、三个或所有以下:120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147 (包括信号肽) 可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156 (谷氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,赖氨酸) 取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250 (甘氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,谷氨酸) 取代。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自相同的谱系。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自相同的谱系,但是是不同的毒株。在具体的实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型流感病毒毒株相同的毒株。在另一个实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型流感病毒毒株不同的毒株。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自不同的谱系。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述第一乙型流感病毒来自Victoria系。在某些实施方式中,所述第二乙型流感病毒毒株来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述第二乙型流感病毒来自Victoria系。在具体的实施方式中,所述第二乙型流感病毒毒株是与包含、含有、或包含并含有所述嵌合HA的流感病毒的流感病毒主干相同的毒株。在具体的实施方式中,得出氨基酸残基用于在一个、两个、三个或更多个所述环中的氨基酸取代的甲型流感病毒是H5 (例如,A/Vietnam/1203/04 (HALo))、H8 (例如,A/mallard/Sweden/24/2002)、H11 (例如,A/northern shoveler/Netherlands/18/99)、H12毒株 (例如,A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007) 或H13毒株 (例如,A/black headed gull/Sweden/1/99)。本文还提

供的是核酸,其包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及流感病毒的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒包含、含有、或包含且含有所述嵌合HA。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图29中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图31中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图33中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图35中列出的核苷酸序列或其互补物。

[0026] 在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的所述甲型流感病毒HA是来自H1、H2、H3、H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17或H18亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的所述甲型流感病毒HA是来自H2、H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17或H18亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自H5、H8、H11、H12或H13亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自H5亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自H8亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自H11亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自H12亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自H13亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自禽流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自流感A/mallard/Sweden/24/2002病毒的HA (GenBank Accession No.CY060249.1;GenBank GI No.294441479;还参见,附图21A和附图21B)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自流感A/Vietnam/1203/04病毒的HA (GenBank Accession No.EF541403.1;GenBank GI No.145284465;还参见附图22A和附图22B,以及关于流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒的Steel et al.,2009,Journal of Virology,83 (4):1742-1753)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99病毒的HA (GenBank Accession No.CY060417.1;GenBank GI No.294441876;还参见附图23A和附图23B)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自流感A/mallardinterior Alaska_7MP0167_2007病毒的HA (GenBank Accession No.CY077198.1;GenBank GI No.312652817;还参见附图24和附图24B)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自流感A/black headed gull/Sweden/1/99的HA (GenBank Accession No.AY684887.1;还参见,附图41A和附图41B)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自流感A/Puerto Rico/8/34病毒病毒的HA (GenBank Accession No.AF389118.1;GenBank GI No.21693168;还参见附图25和附图25B)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的乙型流感病毒HA是来自流感B/Yamagata/16/88病毒的HA (参见,附图26A和附图26B)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的乙型流感病毒HA是来自小鼠适应

的流感B/Malaysia/2506/04病毒的HA(参见,例如,SEQ ID NO:73或83)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的乙型流感病毒HA是来自流感B/Malaysia/2506/04病毒的HA(参见,例如,GenBank Accession No.CY040449.1)。

[0027] 在具体的实施方式中,嵌合HA多肽是下文的章节6中描述的嵌合HA多肽。

[0028] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的抗原环(例如,120环、150环、160环和/或190螺旋)内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用不影响所述HA的构象/结构的随机氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的所述环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。除了这些氨基酸残基取代之外,可以引入所述抗原环之外的一个或更多个取代。选择所述氨基酸取代,根据本领域技术人员已知的或本文描述的技术所测定的,使得所述嵌合HA的折叠不受显著影响。此外,可以选择所述氨基酸取代,使得N-连接的糖基化位点(N-X-S/T)的编码序列不被改变或不被显著改变。氨基酸取代对构象/结构的影响可以通过本领域技术人员已知的分析来测定,例如,结构程序、晶体成像或功能分析。参见,例如,下文的章节5.11和章节6。例如,可以使用与HA的球形头部结构域或HA的茎杆结构域中的保守表位结合的单克隆抗体面板评估抗原性保守性。在具体的实施方式中,下文的章节6中描述的方法被用于评估所述嵌合HA的抗原性保守性。此外,可以使用本领域技术人员已知的或本文描述的技术(参见,例如,下文的章节6,包括其中描述的HI分析)评估本文描述的嵌合HA多肽来确定乙型流感病毒HA的抗原环是否突变。特别地,可以使用本领域技术人员已知的或本文描述的技术(参见,例如,下文的章节6,包括其中描述的HI分析)评估本文描述的嵌合HA多肽来确定乙型流感病毒HA的抗原环中的氨基酸取代是否引起乙型流感病毒HA的可变区的丢失。在具体的实施方式中,可以使用本领域技术人员已知的或本文描述的技术(参见,例如,下文的章节6,包括其中描述的HI分析)评估本文描述的嵌合HA多肽来确定乙型流感病毒HA的抗原环中的氨基酸取代是否降低或消除乙型流感病毒HA的免疫决定表位。在具体的实施方式中,在例如下文的章节6中描述的HI分析中评估本文描述的嵌合HA多肽,来评估乙型流感病毒HA的抗原环中的替换。

[0029] 在另一个方面,本文提供的是核酸序列,其包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核苷酸序列。在具体的实施方式中,本文提供的是核酸序列,其包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核苷酸序列。在另一个具体的实施方式中,本文提供的是HA片段,其包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核苷酸序列。在具体的实施方式中,所述核酸序列包含附图12、附图14、附图16、附图18、附图29、附图31、附图33或附图35中列出的核苷酸序列。在某些实施方式中,包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核苷酸序列的所述HA片段或所述核酸序列被转染到细胞(例如,细胞系)中。

[0030] 在另一个方面,本文提供的是宿主细胞,其包含或被工程化以表达本文描述的嵌合HA多肽。在一个实施方式中,本文提供的是宿主细胞,其包含本文描述的嵌合HA多肽。在另一个实施方式中,本文提供的是宿主细胞,其包含HA片段,所述HA片段包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核苷酸序列。在另一个实施方式中,本文提供的是有胚蛋(例如,有胚鸡蛋),其包含本文描述的嵌合HA多肽。在另一个实施方式中,本文提供的是有胚蛋(例如,有胚鸡蛋),其包含HA片段,所述HA片段包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核苷酸序列。在另一个实施方式中,本文提供的是有胚蛋(例如,有胚鸡蛋),其包含流感病毒,其中所述流感病毒包

含HA片段,所述HA片段包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核酸序列。在另一个实施方式中,本文提供的是有胚蛋(例如,有胚鸡蛋),其包流感病毒,其中所述流感病毒包含本文描述的嵌合HA多肽。

[0031] 在另一个方面,本文提供的是流感病毒,其被工程化以表达本文描述的嵌合HA多肽。在具体的实施方式中,本文提供的是甲型流感病毒,其被工程化以表达本文描述的嵌合HA多肽。根据这个实施方式,所述嵌合HA多肽的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域优选地衍生自与被工程化以表达所述嵌合HA多肽的甲型流感病毒相同的甲型流感病毒。因而,根据这个实施方式,包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列的核酸,优选地包含5'非编码区、3'非编码区和衍生自与被工程化以表达所述嵌合HA多肽的甲型流感病毒相同的甲型流感病毒的,编码信号肽、跨膜结构域和胞质结构域的核苷酸序列。在具体的实施方式中,本文提供的是甲型流感病毒,其包含甲型流感病毒片段的7个非HA片段以及HA片段,所述HA片段包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核酸序列。根据这些实施方式,所述嵌合HA多肽的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域优选地衍生自与包含所述非HA片段的甲型流感病毒相同的甲型流感病毒。根据这些实施方式,包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列的核酸,优选地包含5'非编码区和3'非编码区,以及衍生自与包含所述非HA片段的甲型流感病毒相同的甲型流感病毒的,编码信号肽、跨膜结构域和胞质结构域的核酸序列。在另一个实施方式中,本文提供的是甲型流感病毒,其被工程化以表达并含有本文描述的嵌合HA多肽。

[0032] 在具体的实施方式中,本文提供的是乙型流感病毒,其被工程化以表达本文描述的嵌合HA多肽。在具体的实施方式中,本文提供的是乙型流感病毒,其包含乙型流感病毒片段的7个非HA片段以及HA片段,所述HA片段包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核酸序列。在某些实施方式中,所述7个非HA片段来自与所述嵌合HA多肽的胞外域相同的乙型流感病毒。在某些实施方式中,所述7个非HA片段来自与所述嵌合HA多肽的球形头部结构域相同的乙型流感病毒。在另一个实施方式中,本文提供的是乙型流感病毒,其被工程化以表达并含有本文描述的嵌合HA多肽。

[0033] 在具体的实施方式中,本文提供的是乙型流感病毒,其被工程化以表达本文描述的嵌合HA多肽。根据这个实施方式,所述嵌合HA多肽的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域优选地衍生自与被工程化以表达所述嵌合HA多肽的乙型流感病毒相同的乙型流感病毒。因而,根据这个实施方式,包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列的核酸,优选地包含5'非编码区、3'非编码区和衍生自与被工程化以表达所述嵌合HA多肽的乙型流感病毒相同的乙型流感病毒的,编码信号肽、跨膜结构域和胞质结构域的核苷酸序列。在具体的实施方式中,本文提供的是乙型流感病毒,其包含乙型流感病毒片段的7个非HA片段以及HA片段,所述HA片段包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核酸序列。根据这个实施方式,所述嵌合HA多肽的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域优选地衍生自与包含所述非HA片段的乙型流感病毒相同的乙型流感病毒。根据这些实施方式,包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列的核酸,优选地包含5'非编码区和3'非编码区,以及衍生自与包含所述非HA片段的乙型流感病毒相同的乙型流感病毒的,编码信号肽、跨膜结构域和胞质结构域的核酸序列。在另一个实施方式中,本文提供的是乙型流感病毒,其被工程化以表达并含有本文描述的嵌合HA多肽。

[0034] 在另一个方面,本文提供的是流感病毒,其含有本文描述的嵌合HA多肽。在具体的

实施方式中,本文提供的是甲型流感病毒,其含有本文描述的嵌合HA多肽。在另一个实施方式中,本文提供的是乙型流感病毒,其含有本文描述的嵌合HA多肽。在某些实施方式中,含有所述嵌合HA多肽的所述乙型流感病毒来自Yamagata系。在其他实施方式中,含有所述嵌合HA多肽的所述乙型流感病毒来自Victoria系。在具体的实施方式中,含有所述嵌合HA多肽的所述乙型流感病毒是B/Malaysia/2506/04。

[0035] 在具体的实施方式中,本文提供的是下文的章节6中描述的流感病毒。

[0036] 在一个实施方式中,本文提供的是病毒样颗粒,其包含本文描述的嵌合HA多肽。在另一个实施方式中,本文提供的是病毒粒,其包含本文描述的嵌合HA多肽。

[0037] 在另一个方面,本文提供的是组合物(例如,免疫原性组合物),其包含,本文描述的嵌合HA多肽、包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核苷酸序列的核酸序列、包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核酸序列的HA片段、包含/含有本文描述的嵌合HA多肽的流感病毒、被工程化以表达本文描述的嵌合HA多肽的流感病毒、包含本文描述的嵌合HA多肽的病毒样颗粒、或包含本文描述的嵌合HA多肽的病毒粒。在一个实施方式中,本文提供的是免疫原性组合物,其包含本文描述的嵌合HA多肽。在另一个实施方式中,本文提供的是免疫原性组合物,其包含,包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核苷酸序列的核酸序列,或包含编码本文描述的嵌合HA多肽的核酸序列的HA片段。在另一个实施方式中,本文提供的是免疫原性组合物,其包含流感病毒,所述流感病毒包含本文描述的嵌合HA多肽。在另一个实施方式中,本文提供的是免疫原性组合物,其包含流感病毒,所述流感病毒被工程化以表达本文描述的嵌合HA多肽。在另一个实施方式中,本文提供的是免疫原性组合物,其包含流感病毒,所述流感病毒被工程化以表达并含有本文描述的嵌合HA多肽。在某些实施方式中,所述流感病毒是活的减毒流感病毒。在其他实施方式中,所述流感病毒是灭活病毒。在一个实施方式中,所述组合物是亚单位疫苗。在另一个实施方式中,所述组合物是裂解疫苗。在另一个实施方式中,本文提供的免疫原性组合物,其包含本文描述的病毒样颗粒。在另一个实施方式中,本文提供的是免疫原性组合物,其包含本文描述的病毒粒。在某些实施方式中,所述组合物进一步包含一种或更多种佐剂(参见,例如,下文的章节5.7,关于佐剂,例如AS03或MF59)。

[0038] 在另一个方面,本文提供的是针对流感病毒免疫对象的方法,包括向所述对象施用本文描述的组合物。在具体的实施方式中,本文提供的是针对流感病毒免疫对象的方法,包括向所述对象施用有效量的本文描述的组合物。在具体的实施方式中,本文提供的是在对象中诱导针对乙型流感病毒HA茎杆结构域的免疫应答(例如,抗体反应)的方法,包括向所述对象施用本文描述的组合物。在另一个具体的实施方式中,本文提供的是在对象中诱导针对乙型流感病毒HA球形头部结构域和茎杆结构域的免疫应答(例如,抗体反应)的方法,包括向所述对象施用本文描述的组合物。在另一个具体的实施方式中,本文提供的是在对象中诱导针对乙型流感病毒HA茎杆结构域和甲型流感病毒球形头部结构域的免疫应答(例如,抗体反应)的方法,包括向所述对象施用本文描述的组合物。在特定的实施方式中,所述对象是人。

[0039] 在另一个实施方式中,本文提供的是针对流感病毒疾病或感染免疫对象的方法,

包括 (i) 第一嵌合HA多肽、编码这样的多肽的第一核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的第一载体、或本文描述的细胞向所述对象第一次施用；和 (ii) 第二嵌合HA多肽、编码这样的多肽的第二核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的第二载体、或本文描述的细胞向所述对象第二次施用，其中所述第一和第二嵌合HA多肽包含具有相同的茎杆结构、但具有不同的120环、150环、160环和/或190螺旋的胞外域。在具体的实施方式中，所述第一和第二嵌合HA具有一项、两项、三项或四项以下的：(i) 不同的120环，(ii) 不同的150环，(iii) 不同的160环，和 (iv) 不同的190螺旋。所述第一和第二次施用可以分隔至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或至少6个月。在具体的实施方式中，所述第一和第二次施用可以分隔1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。在某些实施方式中，强化接种可以在所述第二次接种之后以6到12个月的间隔时间向对象施用。在某些实施方式中，所述强化接种包含第三嵌合HA多肽、编码这样的多肽的第三核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的第三载体、或本文描述的细胞，其中所述第一、第二和第三嵌合HA多肽包含具有相同的茎杆、但具有不同的120环、150环、160环和/或190螺旋的胞外域。在具体的实施方式中，所述第一、第二和第三嵌合HA具有一项、两项、三项或四项以下的：(i) 不同的120环，(ii) 不同的150环，(iii) 不同的160环，和 (iv) 不同的190螺旋。

[0040] 在另一个方面，本文提供的是用于针对流感病毒免疫对象的方法中的本文描述的组合物，其中所述方法包括向所述对象施用所述组合物。在具体的实施方式中，本文提供的是用于针对流感病毒免疫对象的方法中的本文描述的组合物，其中所述方法包括向所述对象施用有效量的所述组合物。在具体的实施方式中，本文提供的是用于在对象中诱导针对乙型流感病毒HA茎杆结构域的免疫应答（例如，抗体反应）的方法中的本文描述的组合物，其中所述方法包括向所述对象施用所述组合物。在另一个具体的实施方式中，本文提供的是用于在对象中诱导针对乙型流感病毒HA球形头部结构域的免疫应答（例如，抗体反应）的方法中的本文描述的组合物，其中所述方法包括向所述对象施用所述组合物。在另一个具体的实施方式中，本文提供的是用于在对象中诱导针对乙型流感病毒HA茎杆结构域和甲型流感病毒球形头部结构域的免疫应答（例如，抗体反应）的方法中的本文描述的组合物，其中所述方法包括向所述对象施用所述组合物。在另一个具体的实施方式中，本文提供的是用于在对象中诱导针对乙型流感病毒HA球形头部结构域和茎杆结构域、以及甲型流感病毒球形头部结构域的免疫应答（例如，抗体反应）的方法中的本文描述的组合物，其中所述方法包括向所述对象施用所述组合物。在特定的实施方式中，所述对象是人。

[0041] 在另一个实施方式中，本文提供的是用于针对流感病毒疾病或感染免疫对象的方法中的第一免疫原性组合物，其中所述方法包括 (i) 所述第一免疫原性组合物向所述对象的第一次施用，其中所述第一免疫原性组合物包含第一嵌合HA多肽、编码这样的多肽的第一核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的第一载体、或本文描述的细胞；和 (ii) 第二免疫原性组合物向所述对象的第二次施用，其中所述第二免疫原性组合物包含嵌合HA多肽、编码这样的多肽的第二核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的第二载体、或本文描述的细胞，以及其中所述第一和第二嵌合HA多肽包含具有相同的茎杆结构域、但具有不同的120环、150环、160环和/或190螺旋的胞外域。在具体的实施方式中，所述第一和第二嵌

合HA具有一项、两项、三项或四项以下的：(i) 不同的120环，(ii) 不同的150环，(iii) 不同的160环，和(iv) 不同的190螺旋。所述第一和第二次施用可以分隔至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或至少6个月。在具体的实施方式中，所述第一和第二次施用可以分隔1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。在某些实施方式中，强化接种可以在所述第二次接种之后以6到12个月的间隔时间向对象施用。在某些实施方式中，所述强化接种包含第三嵌合HA多肽、编码这样的多肽的第三核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的第三载体、或本文描述的细胞，其中所述第一、第二和第三嵌合HA多肽包含具有相同的茎杆、但具有不同的120环、150环、160环和/或190螺旋的胞外域。在具体的实施方式中，所述第一、第二和第三嵌合HA具有一项、两项、三项或四项以下的：(i) 不同的120环，(ii) 不同的150环，(iii) 不同的160环，和(iv) 不同的190螺旋。

[0042] 不受任何理论的限制，当向对象施用时，本文描述的嵌合HA多肽将免疫应答聚焦到乙型流感病毒HA的球形头部结构域以及茎杆结构域中的保守表位。因而，在具体的实施方式中，本文提供的是在对象中诱导针对乙型流感病毒HA的球形头部结构域和茎杆结构域中的保守表位的免疫应答(例如，抗体反应)的方法，包括向所述对象施用本文描述的嵌合HA多肽或其组合物。

[0043] 在另一个方面，本文提供的是预防和/或治疗流感病毒感染或流感病毒疾病的方法，包括向有需要的对象施用本文描述的组合物。在具体的实施方式中，本文提供的是预防流感病毒疾病的方法，包括向有需要的对象施用本文描述的组合物。在另一个具体的实施方式中，本文提供的是治疗流感病毒感染的方法，包括向有需要的对象施用本文描述的组合物。在另一个具体的实施方式中，本文提供的是治疗流感病毒疾病的方法，包括向有需要的对象施用本文描述的组合物。在特定的实施方式中，所述对象是人。

[0044] 在另一个方面，本文提供的是用于预防和/或治疗流感病毒感染或流感病毒疾病的方法中的本文描述的组合物，其中所述方法包括向有需要的对象施用所述组合物。在具体的实施方式中，本文提供的是用于预防流感病毒疾病的方法中的本文描述的组合物，其中所述方法包括向有需要的对象施用所述组合物。在另一个具体的实施方式中，本文提供的是用于治疗流感病毒感染的方法中的本文描述的组合物，其中所述方法包括向有需要的对象施用所述组合物。在另一个具体的实施方式中，本文提供的是用于治疗流感病毒疾病的方法中的本文描述的组合物，其中所述方法包括向有需要的对象施用所述组合物。在特定的实施方式中，所述对象是人。

[0045] 本文描述的嵌合HA多肽、编码这样的多肽的核酸、或包含这样的核酸或多肽的载体可以用于引发针对流感的中和抗体，例如，针对流感病毒血细胞凝集素多肽的柄部区(stalk region)和/或流感病毒血细胞凝集素多肽的球形头部结构域中的亚优势的表位。在具体的实施方式中，本文描述的嵌合HA多肽、编码这样的多肽的核酸、包含这样的核酸或多肽的载体可以向非人类对象(例如，小鼠、兔、大鼠、豚鼠，等)施用来诱导免疫应答，包括产生可以使用本领域技术人员已知的技术(例如，免疫亲和层析、离心、沉淀，等)分离的抗体。

[0046] 3.1术语

[0047] 如本文使用的，术语“120环”是指乙型流感病毒HA中抗原性区域。在具体的实施方

式中,术语“120环”是指乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基116到137,或与乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基116到137相应的、B/Hong Kong/8/73以外的乙型流感病毒的HA1结构域中的氨基酸残基(其中,氨基酸残基116-137相应于不包括信号肽的乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73HA的编号位置,即,成熟HA的编号)。在另一个具体的实施方式中,术语“120环”是指乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基75到77和116到137,或与乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基75到77和116到137相应的、B/Hong Kong/8/73以外的乙型流感病毒的HA1结构域中的氨基酸残基(其中,氨基酸残基75到77和116-137相应于不包括信号肽的乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73HA的编号位置,即,成熟HA的编号)。在另一个具体的实施方式中,术语“120环”是指乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基75、77和116到137,或与乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基75、77和116到137相应的、B/Hong Kong/8/73以外的乙型流感病毒的HA1结构域中的氨基酸残基(其中,氨基酸残基75、77和116-137相应于不包括信号肽的乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73HA的编号位置,即,成熟HA的编号)。在另一个具体的实施方式中,术语“120环”是指由Wang et al.,2008,Journal of Virology 82:3011-3020定义为120环的抗原性区域,或其他乙型流感病毒中的其等价物。

[0048] 如本文使用的,术语“150环”是指乙型流感病毒HA中抗原性区域。在具体的实施方式中,术语“150环”是指乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基141到150,或与乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基141到150相应的、B/Hong Kong/8/73以外的乙型流感病毒的HA1结构域中的氨基酸残基(其中,氨基酸残基141-150相应于不包括信号肽的乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73HA的编号位置,即,成熟HA的编号)。在另一个具体的实施方式中,术语“150环”是指乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基141和144到150,或与乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基141和144到150相应的、B/Hong Kong/8/73以外的乙型流感病毒的HA1结构域中的氨基酸残基(其中,氨基酸残基141和144到150相应于不包括信号肽的乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73HA的编号位置,即,成熟HA的编号)。在另一个具体的实施方式中,术语“150环”是指由Wang et al.,2008,Journal of Virology 82:3011-3020定义为150环的抗原性区域,或其他乙型流感病毒中的其等价物。

[0049] 如本文使用的,术语“160环”是指乙型流感病毒HA中抗原性区域。在具体的实施方式中,术语“160环”是指乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基162到167,或与乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基162到167相应的、B/Hong Kong/8/73以外的乙型流感病毒的HA1结构域中的氨基酸残基(其中,氨基酸残基162到167相应于不包括信号肽的乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73HA的编号位置,即,成熟HA的编号)。在另一个具体的实施方式中,术语“160环”是指由Wang et al.,2008,Journal of

Virology 82:3011-3020定义为160环的抗原性区域,或其他乙型流感病毒中的其等价物。

[0050] 如本文使用的,术语“190螺旋”是指乙型流感病毒HA中抗原性区域。在具体的实施方式中,术语“190螺旋”是指乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基194到202,或与乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基194到202相应的、B/Hong Kong/8/73以外的乙型流感病毒的HA1结构域中的氨基酸残基(其中,氨基酸残基194到202相应于不包括信号肽的乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73HA的编号位置,即,成熟HA的编号)。在具体的实施方式中,术语“190螺旋”是指乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基194到200,或与乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基194到200相应的、B/Hong Kong/8/73以外的乙型流感病毒的HA1结构域中的氨基酸残基(其中,氨基酸残基194到200相应于不包括信号肽的乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73HA的编号位置,即,成熟HA的编号)。在具体的实施方式中,术语“190螺旋”是指乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基194到200、205和238,或与乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基194到200、205和238相应的、B/Hong Kong/8/73以外的乙型流感病毒的HA1结构域中的氨基酸残基(其中,氨基酸残基194到200、205和238相应于不包括信号肽的乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73HA的编号位置,即,成熟HA的编号)。在另一个具体的实施方式中,术语“190螺旋”是指乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基194到205和238,或与乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73的HA1结构域的氨基酸残基194到205和238相应的、B/Hong Kong/8/73以外的乙型流感病毒的HA1结构域中的氨基酸残基(其中,氨基酸残基194到205和238相应于不包括信号肽的乙型流感病毒B/Hong Kong/8/73HA的编号位置,即,成熟HA的编号)。在另一个具体的实施方式中,术语“190螺旋”是指由Wang et al.,2008,Journal of Virology 82:3011-3020定义为190螺旋的抗原性区域,或其他乙型流感病毒中的其等价物。

[0051] 术语“约”或“大约”在提及氨基酸位置使用时,是指序列中的特定氨基酸位置,或该氨基酸位置的五个、四个、三个、两个或一个残基之内的任何氨基酸,按照N-末端方向或C-末端方向。如本文使用的,术语“约”或“大约”当与数值联用时,是指该参考数的1%、5%或10%之内的任何数字。在某些实施方式中,术语“约”涵盖所引述的确切数字。

[0052] 术语“氨基酸序列同一性”是指一对被比对的氨基酸序列之间的同一性或相似性的程度,通常表示为百分比。同一性百分比是在对准序列并在有必要时引入缺口以实现最大的序列同源性百分比之后,在候选序列中与所述肽中的相应氨基酸残基相同的(即,在比对中给定位置处的氨基酸残基是相同的残基)或相似的(即,在比对中给定位置处的氨基酸取代是保守性取代,如下文讨论的)氨基酸残基的百分比。序列同源性,包括序列同一性和相似性的百分比,可以使用本领域公知的序列比对技术来确定,优选地使用为此目的设计的计算机算法,使用所述计算机算法的默认参数,或使用含有它们的软件包。计算机算法和合并了这样的算法的软件包的非限制性实例包括以下的。BLAST程序家族例示了一种用于比较两个序列的数学算法的具体的、非限制性的实例(例如,Karlin&Altschul,1990,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87:2264-2268(在Karlin&Altschul,1993,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:5873-5877中修改),Altschul et al,1990,J.Mol.Biol.215:403-410,(描述了NBLAST和XBLAST),Altschul et al,1997,Nucleic Acids Res.25:3389-3402(描述了Gapped BLAST和PSI-Blast))。另一个具体实例是Myers

和Miller的算法(1988CABIOS 4:11-17),其被合并在ALIGN程序(版本2.0)中,可作为GCG序列比对软件包的一部分获得。具体还有FASTA程序(Pearson W.R.and Lipman D.J., Proc.Nat.Acad.Sci.USA,85:2444-2448,1988),可作为Wisconsin序列分析程序包的一部分获得。其他实例包括BESTFIT,它使用Smith和Waterman的“局部同源性”算法(Advances in Applied Mathematics,2:482-489,1981)来发现两个序列之间最佳的单个相似性区域,当被比较的两个序列长度不同时它是优选的;GAP,其根据Neddleman和Wunsch的算法(J.Mol.Biol.48:443-354,1970)通过寻找“最大相似性”来对准两个序列,当两个序列大致是相同长度时并且预期在完整长度上比对时是优选的;以及BioEdit。

[0053] “保守性取代”是指一个种类的氨基酸用同一种类的另一个氨基酸替换。在特定的实施方式中,保守性取代不改变多肽的结构或功能,或结构和功能两者。为保守性取代目的的氨基酸种类包括疏水性的(Met、Ala、Val、Leu、Ile)、中心亲水性的(Cys、Ser、Thr)、酸性的(Asp、Glu)、碱性的(Asn、Gln、His、Lys、Arg)、构象破坏(Gly、Pro)和芳香族的(Trp、Tyr、Phe)。

[0054] 如本文使用的,术语“疾病”和“失调”可互换地使用,是指对象中的状况。在某些实施方式中,所述状况是病毒感染。在具体的实施方式中,术语“疾病”是指由细胞或对象中病毒的存在或病毒对细胞或对象的侵入引起的病理状态。在某些实施方式中,所述状况是对象中的疾病,其严重度通过施用免疫原性组合物在对象中诱导免疫应答来降低。

[0055] 如本文描述的,提及流感病毒HA多肽,术语“胞外域”将是本领域技术人员理解的。在具体的实施方式中,所述胞外域不包括流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。关于示范性的乙型流感病毒胞外域序列和位置,参见,例如,表1A、表1B和表1C。在某些实施方式中,乙型流感病毒HA多肽的胞外域是乙型流感病毒HA多肽的区域,其与下文的表1A中列出的流感B/Hong Kong/8/73病毒HA胞外域的胞外域对准。在某些实施方式中,乙型流感病毒HA多肽的胞外域是乙型流感病毒HA多肽的区域,其与下文的表1C中列出的流感B/Malaysia/2506/04病毒HA胞外域的胞外域对准。

[0056] 如本文使用的,在向对象施用治疗的上下文中,术语“有效量”是指具有预防和/或治疗效果的治理的数量。在某些实施方式中,在向对象施用治疗的上下文中“有效量”是指治理的数量,其足以实现以下效果的一项、两项、三项、四项或更多项:(i)降低或改善流感病毒感染、疾病或与之相关的症状的严重度;(ii)降低流感病毒感染、疾病或与之相关的症状的持续时间;(iii)防止流感病毒感染、疾病或与之相关的症状的发展;(iv)引起流感病毒感染、疾病或与之相关的症状的衰退;(v)防止流感病毒感染、疾病或与之相关的症状的发展或发作;(vi)防止流感病毒感染、疾病或与之相关的症状的复发;(vii)降低或防止流感病毒从一个细胞向另一个细胞、一个组织向另一个组织、或一个器官向另一个器官的传播;(viii)防止或降低流感病毒从一个对象向另一个对象的传播;(ix)降低与流感病毒感染相关的器官衰竭;(x)降低对象的住院;(xi)降低住院时间;(xii)提高患有流感病毒感染或与之相关的疾病的对象的存活;(xiii)消除流感病毒感染或与之相关的疾病;(xiv)抑制或降低流感病毒复制;(xv)抑制或降低流感病毒向宿主细胞中的进入;(xvi)抑制或降低流感病毒基因组的复制;(xvii)抑制或降低流感病毒蛋白质的合成;(xviii)抑制或降低流感病毒颗粒的组装;(xix)抑制或降低来自宿主细胞的流感病毒颗粒释放;(xx)降低流感病毒滴度;和/或(xxi)增强或改善另一种治疗的预防或治疗效果。

[0057] 在某些实施方式中,所述有效量不引起对流感病毒疾病的完全保护,但是与患有流感病毒感染的未治疗的对象相比引起流感病毒的更低滴度或降低的数量。在某些实施方式中,所述有效量引起相对于患有流感病毒感染的未治疗的对象0.5倍、1倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、25倍、50倍、75倍、100倍、125倍、150倍、175倍、200倍、300倍、400倍、500倍、750倍或1,000倍或更大的流感病毒滴度的降低。在某些实施方式中,所述有效量引起相对于患有流感病毒感染的未治疗对象流感病毒滴度的降低大约1log或更多、大约2logs或更多、大约3logs或更多、大约4logs或更多、大约5logs或更多、大约6logs或更多、大约7logs或更多、大约8logs或更多、大约9logs或更多、大约10logs或更多、1到3logs、1到5logs、1到8logs、1到9logs、2到10logs、2到5logs、2到7logs、2logs到8logs、2到9logs、2到10logs、3到5logs、3到7logs、3到8logs、3到9logs、4到6logs、4到8logs、4到9logs、5到6logs、5到7logs、5到8logs、5到9logs、6到7logs、6到8logs、6到9logs、7到8logs、7到9logs、或8到9logs。流感病毒的滴度、数量或总负荷的降低的益处包括但不限于较低严重度的感染症状、较少的感染症状、以及与感染相关的疾病时长的降低。

[0058] “HA”和“血细胞凝集素”是指本领域技术人员已知的任何血细胞凝集素。在某些实施方式中,所述血细胞凝集素是流感血细胞凝集素,例如,甲型流感血细胞凝集素、乙型流感血细胞凝集素或丙型流感血细胞凝集素。典型的血细胞凝集素包含本领域技术人员已知的结构域,包括信号肽(此处任选)、茎杆结构域、球形头部结构域、空腔结构域(此处任选)、跨膜结构域(此处任选)和胞质结构域(此处任选)。在某些实施方式中,血细胞凝集素由单一多肽链组成,例如HA0。在某些实施方式中,血细胞凝集素由四价缔合的超过一条多肽链组成,例如,HA1和HA2。本领域技术人员将认识到,未成熟的HA0可能被裂解释放信号肽(大约20个氨基酸),产生成熟的血细胞凝集素HA0。在另一个方面,本领域技术人员将认识到,未成熟的HA0可能被裂解释放信号肽(大约15个氨基酸),产生成熟的血细胞凝集素HA0。血细胞凝集素HA0可能在另一个位置裂解产生HA1多肽(流感B/Hong Kong/8/73病毒大约342个氨基酸,包括球形头部结构域和茎杆结构域的一部分)和HA2多肽(流感B/Hong Kong/8/73病毒大约169个氨基酸,包括茎杆结构域的剩余部分、空腔结构域、跨膜结构域和胞质结构域)。在另一个实施方式中,血细胞凝集素HA0可能在另一个位置裂解产生HA1多肽(流感B/Hong Kong/8/73病毒大约344个氨基酸,包括球形头部结构域和茎杆结构域的一部分)和HA2多肽(流感B/Hong Kong/8/73病毒大约223个氨基酸,包括茎杆结构域的剩余部分、空腔结构域、跨膜结构域和胞质结构域)。本领域技术人员将认识到乙型流感病毒具有延长的融合结构域(包含来自HA2结构域的中央的卷曲-螺旋结构),来自HA1(氨基酸残基1-42)和HA1(氨基酸残基288-342)的延长区,含有受体结合子域的球形膜远端结构域,HA1(氨基酸残基116-274)以及残留的酯酶子域,HA1(氨基酸残基43-115)和HA1(氨基酸残基275-287)(参见Wang et al.,2008,Journal of Virology,82(6):3011-3020)。本领域技术人员将认识到,乙型流感病毒HA的结构域的轮廓可以根据例如晶体结构,和/或通过使用结构预测软件(例如,丹麦工业大学DTU,生物序列分析中心的网站,或Pymol)结合蛋白质比对来确定。因而,在一个方面,本领域技术人员将认识到,B/Hong Kong/8/73病毒HA的结构域的轮廓是下文表1A所列的。在另一个方面,本领域技术人员将认识到小鼠适应的流感B/Malaysia/2506/20/03病毒HA的结构域的轮廓。参见,例如,下文表1B,小鼠适应的流感B/Malaysia/2506/20/03病毒HA的示范性的结构域。在另一个方面,本领域技术人员将认识到流感B/

Malaysia/2506/04病毒HA的结构域的轮廓。参见,例如,下文表1C,流感B/Malaysia/2506/04病毒HA的示范性的结构域。

[0059] 表1A.流感B/Hong Kong/8/73病毒HA的示范性的结构域。

[0060] 缩写:nt=核苷酸;aa=氨基酸;N/A=不适用。

[0061]

流感 B/Hong Kong/8/73 的结构域	Nt 长度	aa 残基 (长度)	aa 残基 (流感 B/Hong Kong/8/73 中的位置, 除了环之外包含信号肽; 未成熟的 HA)	aa 残基 (流感 B/Hong Kong/8/73 中的位置, 不包括信号肽; 成熟 HA)	aa 残基
产生成熟 HA HA0 的信号肽	45	15	1-15	N/A	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 9)

[0062]

流感 B/Hong Kong/8/73 的结构域	Nt 长度	aa 残基 (长度)	aa 残基 (流感 B/Hong Kong/8/73 中的位置, 除了环之外包含信号肽; 未成熟的 HA)	aa 残基 (流感 B/Hong Kong/8/73 中的位置, 不包括信号肽; 成熟 HA)	aa 残基
HA1 多肽 (不包括信号肽)	1032	344	16-359	1-344	DRICTGITSSNSPHVVKATQGEVNVVG VIPLTTTPTKSHFANLKGTQTRGKLCPN CLNCTDLDVALGRPKCMGTIPSAKASI LHEVKPVTSGCFPIHMDRTKIRQLPNLL RGYENIRLSARNVTNAETAPGGPYIVG TSGSCPNTNGNGFFATMAWAVPKNKT ATNPLTVEVPYICTKGEDQITVWGFHS DDETQMVKLYGDSKPQKFTSSANGVT THYVSQIGGFNPQAEDEGLPQSGRIVV DYMVQKPGKTGTIAYQRGVLLPQKVW CASGRSKVIKSLPLIGEADCLHEKYG GLNKSPPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTP LKLANTKYRPPAKLLKER (SEQ ID NO: 10)
HA2 多肽 (不包括终止密码子)	669	223	360-582	345-567	GFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTS HGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLN SLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILEL DEKVDDLADTISSQIELAVLLSNEGIIN SEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNG CFETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGEFS LPTFDSLNTAASLNDGDLNHTILLYY STAASSLAVTLMIAIFIVYMVSRDNVSC SICL (SEQ ID NO: 11)

[0063]

流感 B/Hong Kong/8/73 的结构域	Nt 长度	aa 残基 (长度)	aa 残基 (流感 B/Hong Kong/8/73 中的位置, 除了环之外包含信号肽; 未成熟的 HA)	aa 残基 (流感 B/Hong Kong/8/73 中的位置, 不包括信号肽; 成熟 HA)	aa 残基
胞外域 (排除信号肽、跨膜结构域、胞质尾部结构域)	1590	530	16-545	1-530	DRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTV VIPLTTTPTKSHFANLKGQTGRGKLCNP CLNCTDLDVALGRPKCMGTIPSASAKASI LHEVKPVTSGCFPIMHDRTKIRQLPNLL RGYENIRLSARNVTNAETAPGGPYIVG TSGSCPNTNGNGFFATMAWAVPKNKT ATNPLTVEVPYICTKGEDQITVWGFHS DDETQMVKLYGDSKPQKFTSSANGVT THYVSQIGGFNPQAEDEGLPQSGRIVV DYMVQKPGKTGTIAYQRGVLLPQKVW CASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYG GLNKSPPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTP LKLANTKYRPPAKLLKERGFFGAIAG FLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAV AADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVK NLQRLSGAMDELHNEILELDEKVVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLL ALERKLKMLGPSAVDIGNGCFETKH KCNQTCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDS LNITAASLNDDGLDNHT (SEQ ID NO: 12)
跨膜结构域	81	27	546-572	531-557	ILLYYSTAASSLAVTLMIAIFIVYMS (SEQ ID NO: 13)
胞质结构域 (不包括终止密码子)	30	10	573-582	558-567	RDNVSCSICL (SEQ ID NO: 14)
茎杆结构域 (包含界面处的丙氨酸; 不包括信号肽或终止密码子), 片段 1:	126	42	16-57	1-42	DRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTV VIPLTTTPTKSHFA (SEQ ID NO: 15)

[0064]

流感 B/Hong Kong/8/73 的结构域	Nt 长度	aa 残基 (长度)	aa 残基 (流感 B/Hong Kong/8/73 中的位置, 除了环之外包含信号肽; 未成熟的 HA)	aa 残基 (流感 B/Hong Kong/8/73 中的位置, 不包括信号肽; 成熟 HA)	aa 残基
茎杆结构域 (包含界面处的丙氨酸; 不包括信号肽或终止密码子), 片段 2:	723	241	305-545	290-530	ADCLHEKYGGLNKSPPYYTGEHAKAI GNCPIWVKTPCLKLANGTKYRPPAKLLK ERGFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGY TSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKN LNSLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEIL ELDEKVDDLADRTISSQIELAVLLSNEG IINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIG NGCFETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAG EFSLPFTDSLNTAASLNDDGLDNHT (SEQ ID NO: 16)
球形头部结构域 (不包括丙氨酸)	741	247	58-304	43-289	NLKGTRGKLCPCNCLNCTDLDVALG RPKCMGTIPSAKASILHEVKPVTSGCFP IMHDRTKIRQLPNLLRGYENIRLSARN VTNAETAPGGPYIVGTSGSCPNVTNGN GFFATMAWAVPKNKTATNPLTVEVPYI CTKGEDQITVWGFHSDDETQMVKLYG DSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNP QAEDEGLPQSGRIVVDYVMVQKPGKTG TIAYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGS LPLIGE (SEQ ID NO: 17)

[0065] 表1B. 小鼠适应的流感B/Malaysia/2506/20/03HA的示范性的结构域。小鼠适应的流感B/Malaysia/2506/20/03HA的全长氨基酸序列可以在SEQ ID NO: 73中找到。

[0066]

结构域	氨基酸序列
信号肽	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO:74)
HA1 结构域	DRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTVGVIPLTTT PTKSHFANLKGTETRGKLCPKCLNCTDLDVALGRPKCTGNIPSARVSILH EVRPVTS GCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEHIRLSTHNVINAENAPGGPY KIGTSGSCPNTNGNGFFATMAWAVPKNDNNKTATNSLTIEVPYICTEGE DQITVWGFHSDX ₁ EX ₂ QMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQT EDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKG SLPLIGEADCLHEKYGGLNKSPPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPCLKLANGT KYRPPAKLLKER (SEQ ID NO:75) X ₁ = N or S; X ₂ = N, I, T or S
HA2 结构域	GFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAADL KSTQEAINKITKNLSLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELDEKVDDLRL ADTISSQIELAVLLSNEGINSSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCF ETKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSLNTAASLNDDGLDNHTIL LYYSTAASSLAVTLMIAIFVVMVSRDNVSCSICL (SEQ ID NO:76)

[0067]

柄部的 N-末端片段 (包含与球形头部结构域的界面处的丙氨酸)	DRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVTVGVIPLTTT 50 PTKSHFA (SEQ ID NO:78)
柄部的 C-末端片段 (包含与球形头部结构域的界面处的丙氨酸)	ADCLHEKYGGLNKSPPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPCLKLANGT KYRPPAKLLKERGFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAADL KSTQEAINKITKNLSLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELDEKVDDLRL ADTISSQIELAVLLSNEGINSSEDEHLLALERKLKMLGPSAVEIGNGCF ETKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSLNTAASLNDDGLDNHT (SEQ ID NO:79)
球形头部结构域	NLKGTETRGKLCPKCLNCTDLDVALGRPKCTGNIPSARVSILH EVRPVTS GCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEHIRLSTHNVINAENAPGGPY KIGTSGSCPNTNGNGFFATMAWAVPKNDNNKTATNSLTIEVPYICTEGE DQITVWGFHSDX ₁ EX ₂ QMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQT EDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKG SLPLIGE (SEQ ID NO:77) X ₁ = N or S; X ₂ = N, I, T or S

[0068] 表1C.流感B/Malaysia/2506/20/03HA的示范性的结构域。流感B/Malaysia/2506/20/03HA的全长氨基酸序列可以在SEQ ID NO:88中找到。

[0069]

结构域	氨基酸序列
信号肽	MKAIIVLLMVVTSNA (SEQ ID NO: 89)
HA1 结构域	DRICTGITSSNSPHVVKATQGEVNVTGVIPLTTT PTKSHFANLKGTETRGKLCPCNLCTDLDVALGRPKCTGNIPSARVSILH EVRPVTSKCFPIMHDRTKIRQLPNLLRGYEHIRLSTHNVINAENAPGGPY KIGTSGSCPNVTNGNGFFATMAWAVPKNDNNKTATNSLTIEVPYICTEGE DQITVWGFHSDNE _{X1} QMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQT EDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKVCASGRSKVIKG SLPLIGEADCLHEKYGGLNKSPPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPCLKLANGT KYRPPAKLLKER (SEQ ID NO: 90) X ₁ = I or T
HA2 结构域	GFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAAADL KSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELDEKVDDLRL ADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKKMLGPSAVEIGNGCF ETKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSLNTAASLNDDGLDNHTIL LYYSTAASSLAVTLMIAIFVYVMVSRDNVSCSICL (SEQ ID NO: 91)
柄部的 N-末端 片段(包含与球 形头部结构域 的界面处的丙 氨酸)	DRICTGITSSNSPHVVKATQGEVNVTGVIPLTTT PTKSHFA (SEQ ID NO: 92)
柄部的 C-末端 片段(包含与球 形头部结构域 的界面处的丙 氨酸)	ADCLHEKYGGLNKSPPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPCLKLANGT KYRPPAKLLKERGFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAAADL KSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELDEKVDDLRL ADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKKMLGPSAVEIGNGCF ETKHKCNQTCLDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSLNTAASLNDDGLDNHT (SEQ

[0070]

	ID NO: 93)
球形头部结构域	NLKGTE TRGKLC PKCLNCTDLDVALGRPKCTGNIPSARVSILH EVRPVTSGCFPIMHDKIRQLPNLLRGYEHRLSTHNVINAENAPGGPY KIGTSGSCPNVTNGNGFFATMAWAVPKNDNNKTATNSLTIEVPYICTEGE DQITVWGFHSDNE _{X1} QMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQT EDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKG SLPLIGE (SEQ ID NO: 94) X ₁ = I or T
胞外域	DRICTGITSSNSPHVVK TATQGEVNVTGVIPLTTT PTKSHFANLKGTE TRGKLC PKCLNCTDLDVALGRPKCTGNIPSARVSILH EVRPVTSGCFPIMHDKIRQLPNLLRGYEHRLSTHNVINAENAPGGPY KIGTSGSCPNVTNGNGFFATMAWAVPKNDNNKTATNSLTIEVPYICTEGE DQITVWGFHSDNE _{X1} QMAKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQT EDGGLPQSGRIVVDYMVQKSGKTGTITYQRGILLPQKVWCASGRSKVIKG SLPLIGEADCLHEKYGGLNKSPPYYTGEHAKAIGNCPIWVK TPLKLANGT KYRPPAKLLKERGFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAAADL KSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELDEKVDDL R ADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKKMLGPSAVEIGNGCF ETKHKNQTC LDRIAAGTFDAGEFSLPTFDSL NITAASLNDDGLDNHT (SEQ ID NO: 95) X ₁ = I or T

[0071] 在某些实施方式中,血细胞凝集素蛋白包含信号肽、跨膜结构域和胞质结构域。在某些实施方式中,血细胞凝集素蛋白包含信号肽、胞外域、跨膜结构域和胞质结构域。在某些实施方式中,血细胞凝集素缺乏信号肽,即,所述血细胞凝集素是成熟的血细胞凝集素。在某些实施方式中,血细胞凝集素缺乏跨膜结构域或胞质结构域,或两者。如本文使用的,术语“血细胞凝集素”和“HA”涵盖通过翻译后加工,例如信号肽裂解、二硫键形成、糖基化(例如,N-连接的糖基化)、蛋白酶裂解和脂质修饰(例如,S-棕榈酰化)被修饰的血细胞凝集素多肽。

[0072] “HA2”是指本领域技术人员已知的相应于流感血细胞凝集素多肽的HA2结构域的多肽结构域。在某些实施方式中,HA2由茎杆结构域、空腔结构域、跨膜结构域和胞质结构域组成(参见,例如,Scheiffle et al,2007,EMBO J.16(18):5501-5508,其内容通过引用以其整体合并在本文中)。在某些实施方式中,HA2由茎杆结构域、空腔结构域和跨膜结构域组成。在某些实施方式中,HA2由茎杆结构域、空腔结构域组成;在这样的实施方式中,所述HA2可能是可溶的。在某些实施方式中,HA2由茎杆结构域组成;在这样的实施方式中,所述HA2可能是可溶的。在某些实施方式中,HA2由流感B/Hong Kong/8/73病毒的HA2结构域的氨基酸残基1-169组成(参见Wang et al.,2008,Journal of Virology 82:3011-3020)。在某些实施方式中,HA2由成熟的流感B/Hong Kong/8/73病毒HA的氨基酸残基345-567组成(即,编号根据不包括信号肽的流感B/Hong Kong/8/73病毒HA确定)。

[0073] 如本文使用的,在多肽、核酸或病毒的上下文中术语“异源”是指多肽、核酸或病毒分别地通常不是自然中存在的或通常不与感兴趣的多肽、核酸或病毒在自然上相关。例如,“异源多肽”可以指衍生自不同的病毒,例如,不同的流感毒株或亚型,或不相关的病毒或不

同的物种的多肽。

[0074] 如本文使用的,在向对象施用两种或更多种治疗的上下文中术语“组合”是指使用超过一种治疗(例如,超过一种预防试剂和/或治疗试剂)。使用术语“组合”不限制向对象施用的治疗的顺序。例如,第一治疗(例如,第一预防性或治疗性试剂)可以在向对象施用第二治疗之前(例如,5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、16小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之前)、相伴地、或之后(例如,5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、16小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1周、2周、3周、4周、5周、6周、8周或12周之后)施用。作为另一个实例,第一治疗(例如,第一预防性或治疗性试剂)可以在向对象施用第二治疗之前(例如,1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月之前)、相伴地、或之后(例如,约1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月或6个月到9个月之后)施用。

[0075] 如本文使用的,术语“感染”是指细胞或对象中病毒的侵入、扩增和/或存在。在一个实施方式中,感染是“活动性”感染,即,病毒在细胞或对象中复制的感染。这样的感染的特征在于病毒从所述病毒起初感染的细胞、组织和/或器官向其他细胞、组织和/或器官传播。感染还可以是潜伏感染,即,病毒不复制的感染。在某些实施方式中,感染是指由细胞或对象中病毒的存在或病毒对细胞或对象的侵入引起的病理状态。

[0076] 如本文使用的,术语“流感病毒疾病”是指由细胞或对象中流感(例如,甲型或乙型流感)病毒的存在、或流感病毒对细胞或对象的侵入所引起的病理状态。在具体的实施方式中,该术语是指由流感病毒引起的呼吸道疾病。

[0077] 如本文使用的,术语“流感病毒血细胞凝集素头部结构域多肽”、“流感病毒血细胞凝集素头部结构域”、“HA球形头部结构域”和“HA头部结构域”是指流感血细胞凝集素多肽的球形头部结构域。流感病毒血细胞凝集素头部结构域多肽或流感病毒血细胞凝集素头部结构域可以包含或由已知的(例如,野生型)流感病毒血细胞凝集素头部结构域组成,或可以包含或由已知的(例如,野生型)流感病毒血细胞凝集素头部结构域的衍生物,例如工程化衍生物组成。本领域技术人员将认识到,乙型流感病毒HA球形头部结构域一般包含与流感B/Hong Kong/8/73病毒的HA1结构域的氨基酸残基43-289相应的氨基酸残基(其中氨基酸残基的编号是相对于成熟HA序列,其不包含15个氨基酸的信号肽)。例如,本领域技术人员将认识到,流感B/Hong Kong/8/73病毒的HA球形头部结构域的氨基酸序列一般由以下氨基酸序列组成:NLKGTQTRGKLCPNCLNCTDLVALGRPKCMGTIPSAKASILHEVKPVTSGCFPIIMHDRTKIRQLPNLLRGYENIRLSARNVTNAETAPGGPYIVGTSGSCPNTNGNGFFATMAWAVPKNKTATNPLTVEVPYICTKGEDQITVWGFHSDDETQMVKLYGDSKPQKFTSSANGVTTHYVSQIGGFNPQAEDEGLPQSGRIVVDYVMVQKPGKTGTIAYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGE (SEQ ID NO:17)。本领域技术人员将认识到特定毒株的乙型流感病毒HA球形头部结构域的位置可以通过将所述毒株的乙型流感病毒HA多肽与甲型流感病毒HA的序列比对来确定(附图20)。在具体的实施方式中,所述乙型流感病毒球形头部结构域由与成熟的流感B/Hong Kong/8/73病毒HA(即,其中所述编号包括信号肽)的氨基酸残基58-304对准的氨基酸残基组成。参见,例如,上文的表1A。

[0078] 如本文使用的,用语“IFN缺陷的系统”或“IFN缺陷的底物”是指系统,例如,细胞、细胞系和动物,例如,猪、小鼠、鸡、火鸡、兔、大鼠等,其不产生干扰素 (IFN) 或产生低水平的 IFN (即,与相同条件下的 IFN 完全系统相比,5-10%、10-20%、20-30%、30-40%、40-50%、50-60%、60-70%、70-80%、80-90% 或更多的 IFN 表达降低),不响应 IFN 或更低效地响应 IFN,和/或在 IFN 诱导的一种或更多种抗病毒基因的活性方面有缺陷。

[0079] 如本文使用的,数学术语“log”是指 \log_{10} 。

[0080] 如本文使用的,用语“感染复数”或“MOI”是每个被感染细胞的传染性病毒颗粒的平均数量。通过用添加的传染性病毒颗粒的数量 (添加的 $\text{ml} \times \text{PFU/ml}$) 除以添加的细胞的数量 (添加的 $\text{ml} \times \text{细胞/ml}$) 来确定。

[0081] 如本文使用的,术语“核酸”意图包括 DNA 分子,例如,cDNA 或基因组 DNA,和 RNA 分子 (例如,mRNA),以及使用核苷酸类似物产生的 DNA 或 RNA 的类似物。所述核酸可以是单链的或双链的。

[0082] “多肽”是指本领域技术人员已知的通过酰胺键连接的氨基酸的聚合物。如本文使用的,该术语可以指通过共价酰胺键连接的单个多肽链。该术语还可以指通过非共价的相互作用例如离子接触、氢键、范德华接触或疏水性接触缔合的多个多肽链。本领域技术人员将认识到,该术语包括已经被修饰的多肽,例如,通过翻译后加工修饰的,例如,信号肽裂解、二硫键形成、糖基化 (例如,N-连接的糖基化)、蛋白酶裂解和脂质修饰 (例如,S-棕榈酰化)。

[0083] 如本文使用的,术语“预防 (prevent,preventing,prevention)”在向对象施用治疗以预防流感病毒疾病的上下文中是指由施用治疗或治疗组合所引起的一种或更多种预防的/有益的效果。在具体的实施方式中,术语“预防 (prevent,preventing,prevention)”在向对象施用治疗以预防流感病毒疾病的上下文中是指由施用治疗或治疗组合引起的一种或更多种以下效果: (i) 抑制流感病毒疾病或其症状的发展或发作; (ii) 抑制流感病毒疾病或与之相关的症状的复发; 和 (iii) 降低或抑制流感病毒感染和/或复制。

[0084] 如本文使用的,在从天然来源例如细胞获得的多肽 (包括抗体) 的上下文中使用时,术语“纯化的”和“分离的”是指多肽基本上没有来自所述天然来源的污染物质,例如,来自环境的土壤颗粒、矿物质、化学物质,和/或来自所述天然来源的细胞物质,例如但不限于,细胞中存在的细胞碎片、细胞壁物质、膜、细胞器、核酸团、碳水化合物、蛋白质和/或脂质。因而,分离的多肽包括具有小于约 30%、20%、10%、5%、2%、或 1% (干重) 的细胞物质和/或污染物质的多肽。如本文使用的,在化学合成的多肽 (包括抗体) 的上下文中使用时,术语“纯化的”和“分离的”是指基本上不含多肽合成中涉及的化学前体或其他化学物质的多肽。在具体的实施方式中,嵌合 HA 多肽是化学合成的。在另一个具体的实施方式中,流感血细胞凝集素茎杆结构域多肽、流感血细胞凝集素头部结构域多肽、非嵌合 HA 多肽和/或嵌合流感血细胞凝集素多肽是分离的。

[0085] 如本文使用的,在病毒的上下文中术语“复制”、“病毒的复制”和“病毒复制”是指引起病毒增殖的病毒生命周期的一个或更多个或所有的阶段。病毒生命周期的步骤包括但不限于,病毒附着在宿主细胞表面、宿主细胞的穿透或进入 (例如,通过受体介导的内吞作用或膜融合)、脱壳 (病毒衣壳被移除或通过病毒酶或宿主酶降解,从而释放病毒基因组核酸的过程)、基因组复制、病毒信使 RNA (mRNA) 的合成、病毒蛋白质合成、以及用于基因组复

制的病毒核糖核蛋白复合物的组装、病毒颗粒的组装、病毒蛋白质的翻译后修饰、以及通过裂解或出芽从宿主细胞释放、和获得含有包埋的病毒糖蛋白的磷脂包膜。在某些实施方式中,术语“复制”、“病毒的复制”和“病毒复制”是指病毒基因组的复制。在其他实施方式中,术语“复制”、“病毒的复制”和“病毒复制”是指病毒蛋白质的合成。

[0086] 如本文使用的,术语“茎杆结构域多肽”和“流感病毒血细胞凝集素茎杆结构域多肽”和“柄部结构域”是指流感病毒血细胞凝集素多肽(其包括流感HA多肽的衍生物)的茎杆结构域。茎杆结构域多肽可以是单条多肽链、两条多肽链或更多条多肽链。一般地,茎杆结构域多肽是单条多肽链(即,相应于血细胞凝集素HA0多肽的茎杆结构域),或两条多肽链(即,相应于与血细胞凝集素HA2多肽缔合的血细胞凝集素HA1多肽的茎杆结构域)。在具体的实施方式中,乙型流感病毒HA多肽的茎杆结构域是三聚体。乙型流感病毒的茎杆结构域的氨基酸序列和位置的实例,参见上文的表1A和1B。

[0087] 如本文使用的,术语“对象”或“患者”可互换地使用,是指动物(例如,禽类、爬行动物和哺乳动物)。在具体的实施方式中,对象是禽类。在另一个实施方式中,对象是哺乳动物,包括非灵长类(例如,骆驼、驴、斑马、牛、猪、马、山羊、绵羊、猫、狗、大鼠和小鼠)和灵长类(例如,猴、黑猩猩和人)。在某些实施方式中,对象是非人动物。在某些实施方式中,对象是农畜或宠物。在另一个实施方式中,对象是人类。在另一个实施方式中,对象是人类婴儿。在另一个实施方式中,对象是人类儿童。在另一个实施方式中,对象是人类成年人。在另一个实施方式中,对象是老年人类。在另一个实施方式中,对象是早产人类婴儿。

[0088] 如本文使用的,术语“季节性流感病毒毒株”是指对象群体在季节基础上暴露于的流感病毒毒株。在具体的实施方式中,术语季节性流感病毒毒株是指乙型流感病毒的毒株。在具体的实施方式中,术语季节性流感病毒毒株是指属于Yamagata或Victoria系的流感病毒毒株,即,当前存在于人类对象群体中的两个系。

[0089] 如本文使用的,术语“治疗”可以指任何方案、方法、化合物、组合物、制剂和/或试剂,其可以用于预防或治疗病毒感染或与之相关的疾病或症状。在某些实施方式中,术语“治疗”是指本领域技术人员已知的、在治疗或预防病毒感染或与之相关的疾病或症状方面有用的生物学治疗、支持治疗和/或其他治疗。在某些实施方式中,术语“治疗”是指(i) 编码嵌合HA多肽的核酸,(ii) 嵌合HA多肽,或(iii) 包含编码嵌合HA多肽的核酸、或包含嵌合HA多肽的载体或组合物。在某些实施方式中,术语“治疗”是指特异性结合嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的抗体。

[0090] 如本文使用的,术语“治疗(treat, treatment, treating)”在向对象施用治疗的上下文中是指治疗流感病毒疾病或感染以获得治疗或治疗组合的有效效果或治疗效果。在具体的实施方式中,这样的术语是指由施用治疗或治疗组合引起的一个、两个、三个、四个、五个或更多个以下效果:(i) 流感病毒感染或疾病或与之相关的症状的严重度的降低或改善;(ii) 流感病毒感染或疾病或与之相关的症状的持续时间的减少;(iii) 流感病毒感染或疾病或与之相关的症状的减退;(iv) 流感病毒的滴度的降低;(v) 与流感病毒感染或与之相关的疾病相关的器官衰竭的降低;(vi) 对象住院的减少;(vii) 住院时间的减少;(viii) 对象存活率的提高;(ix) 流感病毒感染或疾病或与之相关的症状的消除;(x) 流感病毒感染或疾病或与之相关的症状的发展的抑制;(xi) 防止流感病毒从细胞、组织、器官或对象向其他细胞、组织、器官或对象传播;(xii) 抑制或减少流感病毒向宿主细胞中的进入;(viii) 抑制或

减少流感病毒基因组的复制；(xiv) 抑制或减少流感病毒蛋白质的合成；(xv) 抑制或减少流感病毒颗粒从宿主细胞释放；和/或(xvi) 增强或改善另一种治疗的治疗效果。

[0091] 如本文使用的,在某些实施方式中,在病毒多肽的上下文中用语“野生型”是指在自然中发现的并与天然发生的病毒相关的病毒多肽。

[0092] 如本文使用的,在某些实施方式中,在病毒的上下文中用语“野生型”是指流行的、天然传播的并产生典型的疾病爆发的病毒的类型。在其他实施方式中,在病毒的上下文中术语“野生型”是指亲本病毒。

[0093] 4. 附图的简要说明

[0094] 图1描述了产生乙型流感病毒嵌合HA用作通用流感病毒疫苗候选物的策略以及潜在的疫苗接种示意图。

[0095] 图2描述了由Wang et al., 2008, Journal of Virology 82:3011-3020定义的流感B/Yamanashi/166/1998病毒球形头部中的120环、150环、160环和190螺旋。

[0096] 图3A描述了与流感B/Yamagata/16/88病毒序列的150环相应的氨基酸序列(上部, SEQ ID NO:18) 和嵌合HA的修饰的150环的氨基酸序列(下部, SEQ ID NO:19)。图3B描述了流感B/Yamanashi/166/1998病毒球形头部结构域的结构并指出了150环的位置。图3C描述了蚀斑分析的免疫染色,用于显现表达嵌合HA的拯救的病毒的蚀斑形态。

[0097] 图4描述了表达指明的嵌合HA构建体的病毒在指明的时间点的生长曲线。生长曲线在33摄氏度下生长的MDCK细胞中进行。

[0098] 图5描述了用指明的构建体转染并用抗-H5血清染色的293T细胞的免疫荧光染色。

[0099] 图6A描述了与流感B/Yamagata/16/88病毒序列的190螺旋相应的氨基酸序列(上部, SEQ ID NO:7) 和嵌合HA的修饰的190螺旋的氨基酸序列(下部, SEQ ID NO:8)。图6B描述了流感B/Yamanashi/166/1998病毒球形头部结构域的结构并指出了190螺旋的位置。图6C描述了蚀斑分析的免疫染色,用于显现表达嵌合HA的拯救的病毒的蚀斑形态。

[0100] 图7A描述了与流感B/Yamagata/16/88病毒序列的160环相应的氨基酸序列(上部, SEQ ID NO:5) 和嵌合HA的修饰的160环的氨基酸序列(下部, SEQ ID NO:6)。图7B描述了流感B/Yamanashi/166/1998病毒球形头部结构域的结构并指出了160环的位置。图7C描述了蚀斑分析的免疫染色,用于显现表达嵌合HA的拯救的病毒的蚀斑形态。

[0101] 图8A描述了与流感B/Yamagata/16/88病毒序列的120环相应的氨基酸序列(上部, “B/Yam”, SEQ ID NO:1) 和嵌合HA的修饰的120环的氨基酸序列(下部, “具有A/H5的B/Yamagata胞外域”, SEQ ID NO:2)。还描述的是在流感B/Yamagata/16/88病毒的氨基酸位置T90进行的突变(其中氨基酸位置T90相对于未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA, 即, 包括信号肽)。氨基酸编号相对于未成熟的HA(即, 包含信号肽)。图8B描述了流感B/Yamanashi/166/1998病毒球形头部结构域的结构并指出了120环的位置。

[0102] 图9描述了使用指明抗体的293T的免疫荧光。第1栏代表用pDZ转染的细胞。第2栏代表用Yamagata胞外域(流感A/Puerto Rico/8/34病毒(“PR8”) 背景)HA转染的细胞。第3栏代表用嵌合HA转染的细胞,所述嵌合HA包含用甲型流感病毒H5序列修饰的150环、160环和190螺旋。第4栏代表用嵌合HA转染的细胞,所述嵌合HA包含用甲型流感病毒H5序列修饰的120环、150环、160环和190螺旋。

[0103] 图10A描述了用小鼠血清进行的HI分析滴度。图10B描述了用雪貂血清进行的HI分

析滴度。Yamecto/PR8是指表达HA的PR8病毒,所述HA具有流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域。3环是指表达HA的PR8病毒,所述HA具有流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域,其中所述胞外域的三个抗原环(150环、160环和190螺旋)已经根据流感A/Vietnam/1203/04 (HALo)病毒HA的氨基酸序列进行修饰。4环是指表达HA的PR8病毒,所述HA具有流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域,其中所述胞外域四个抗原环(120环、150环、160环和190螺旋)已经根据流感A/Vietnam/1204/04 (HALo)病毒HA的氨基酸序列进行修饰。

[0104] 图11表明可以产生嵌合HA,其中乙型流感病毒HA的120环、150环、160环和190螺旋的每一个已经根据H5、H8或H12亚型的甲型流感病毒的氨基酸序列进行修饰。

[0105] 图12A和图12B:编码H5-4环嵌合HA的核酸序列(SEQ ID NO:20)。构建体的背景是通过输注克隆制造的pDZ质粒中、PR8HA背景中的Yamagata胞外域。无下划线的核酸序列是指编码Yamagata的胞外域的序列。标为“1”的下划线的核酸序列是指PR8 3'非编码区序列。标为“2”的下划线的核酸序列是指编码PR8信号肽的序列。标为“3”的下划线的核酸序列是指被导入编码120环的序列中的突变。标为“4”的下划线的核酸序列是指被导入编码150环的序列中的突变。标为“5”的下划线的核酸序列是指被导入编码160环的序列中的突变。标为“6”的下划线的核酸序列是指被导入编码190螺旋的序列中的突变。标为“7”的下划线的核酸序列是指Yamagata胞外域中的H→Y突变。标为“8”的下划线的核酸序列是指编码PR8跨膜结构域的序列。标为“9”的下划线的核酸序列是指编码PR9胞质尾部结构域的序列。标为“10”的下划线的核酸序列是指PR8 5'非编码区序列。

[0106] 图13:图12A和图12B的核酸的氨基酸序列(SEQ ID NO:21)。标为“1”的下划线的氨基酸序列是指PR8信号肽序列。标为“2”的下划线的氨基酸序列是指被导入120环序列的突变。标为“3”的下划线的氨基酸序列是指被导入150环序列的突变。标为“4”的下划线的氨基酸序列是指被导入160环序列的突变。标为“5”的下划线的氨基酸序列是指被导入190螺旋序列的突变。标为“6”的下划线的氨基酸是指Yamagata胞外域中的H→Y突变,其匹配这个位置的甲型流感病毒HA(由Flandorfer et al., Journal of Virology, 2003确定),它可以产生更高效的拯救。标为“7”的下划线的氨基酸序列是指PR8跨膜结构域序列。标为“8”的下划线的氨基酸序列是指PR8胞质尾部结构域序列。

[0107] 图14A和图14B:编码H8-4环嵌合HA的核酸序列(SEQ ID NO:22)。构建体的背景是通过输注克隆制造的pDZ质粒中、PR8HA背景中的Yamagata胞外域。无下划线的核酸序列是指编码Yamagata的胞外域的序列。标为“1”的下划线的核酸序列是指PR8 3'非编码区序列。标为“2”的下划线的核酸序列是指编码PR8信号肽的序列。标为“3”的下划线的核酸序列是指被导入编码120环的序列中的突变。标为“4”的下划线的核酸序列是指E→K突变。标为“5”的下划线的核酸序列是指被导入编码150环的序列中的突变。标为“6”的下划线的核酸序列是指被导入编码160环的序列中的突变。标为“7”的下划线的核酸序列是指被导入编码190螺旋的序列中的突变。标为“8”的下划线的核酸序列是指Yamagata胞外域中的H→Y突变。标为“9”的下划线的核酸序列是指编码PR9跨膜结构域的序列。标为“10”的下划线的核酸序列是指编码PR10胞质尾部结构域的序列。标为“11”的下划线的核酸序列是指PR8 5'非编码区序列。

[0108] 图15:图14A和图14B的核酸的氨基酸序列(SEQ ID NO:23)。标为“1”的下划线的氨基酸序列是指PR8信号肽序列。标为“2”的下划线的氨基酸序列是指被导入120环序列的突

变。标为“3”的下划线的氨基酸是指E→K突变。标为“4”的下划线的氨基酸序列是指被导入150环序列的突变。标为“5”的下划线的氨基酸序列是指被导入160环序列的突变。标为“6”的下划线的氨基酸序列是指被导入190螺旋序列的突变。标为“7”的下划线的氨基酸是指Yamagata胞外域中的H→Y突变,其匹配这个位置的甲型流感病毒HA(由Flandorfer et al., Journal of Virology, 2003确定),它可以产生更高效的拯救。标为“8”的下划线的氨基酸序列是指PR8跨膜结构域序列。标为“9”的下划线的氨基酸序列是指PR9胞质尾部结构域序列。

[0109] 图16A和图16B:编码H11-4环嵌合HA的核酸序列(SEQ ID NO:24)。构建体的背景是通过输注克隆制造的pDZ质粒中、PR8HA背景中的Yamagata胞外域。无下划线的核酸序列是指编码Yamagata的胞外域的序列。标为“1”的下划线的核酸序列是指PR8 3'非编码区序列。标为“2”的下划线的核酸序列是指编码PR8信号肽的序列。标为“3”的下划线的核酸序列是指被导入编码120环的序列中的突变。标为“4”的下划线的核酸序列是指E→K突变。标为“5”的下划线的核酸序列是指被导入编码150环的序列中的突变。标为“6”的下划线的核酸序列是指被导入编码160环的序列中的突变。标为“7”的下划线的核酸序列是指被导入编码190螺旋的序列中的突变。标为“8”的下划线的核酸序列是指Yamagata胞外域中的H→Y突变。标为“9”的下划线的核酸序列是指编码PR9跨膜结构域的序列。标为“10”的下划线的核酸序列是指编码PR10胞质尾部结构域的序列。标为“11”的下划线的核酸序列是指PR8 5'非编码区序列。

[0110] 图17:图16A和图16B的核酸的氨基酸序列(SEQ ID NO:25)。标为“1”的下划线的氨基酸序列是指PR8信号肽序列。标为“2”的下划线的氨基酸序列是指被导入120环序列的突变。标为“3”的下划线的氨基酸是指E→K突变。标为“4”的下划线的氨基酸序列是指被导入150环序列的突变。标为“5”的下划线的氨基酸序列是指被导入160环序列的突变。标为“6”的下划线的氨基酸序列是指被导入190螺旋序列的突变。标为“7”的下划线的氨基酸是指Yamagata胞外域中的H→Y突变,其匹配这个位置的甲型流感病毒HA(由Flandorfer et al., Journal of Virology, 2003确定),它可以产生更高效的拯救。标为“8”的下划线的氨基酸序列是指PR8跨膜结构域序列。标为“9”的下划线的氨基酸序列是指PR9胞质尾部结构域序列。

[0111] 图18A和图18B:编码H12-4环嵌合HA的核酸序列(SEQ ID NO:26)。构建体的背景是通过输注克隆制造的pDZ质粒中、PR8HA背景中的Yamagata胞外域。无下划线的核酸序列是指编码Yamagata的胞外域的序列。标为“1”的下划线的核酸序列是指PR8 3'非编码区序列。标为“2”的下划线的核酸序列是指编码PR8信号肽的序列。标为“3”的下划线的核酸序列是指被导入编码120环的序列中的突变。标为“4”的下划线的核酸序列是指E→K突变。标为“5”的下划线的核酸序列是指被导入编码150环的序列中的突变。标为“6”的下划线的核酸序列是指被导入编码160环的序列中的突变。标为“7”的下划线的核酸序列是指被导入编码190螺旋的序列中的突变。标为“8”的下划线的核酸序列是指Yamagata胞外域中的H→Y突变。标为“9”的下划线的核酸序列是指编码PR9跨膜结构域的序列。标为“10”的下划线的核酸序列是指编码PR10胞质尾部结构域的序列。标为“11”的下划线的核酸序列是指PR8 5'非编码区序列。

[0112] 图19:图18A和图18B的核酸的氨基酸序列(SEQ ID NO:27)。标为“1”的下划线的氨

基酸序列是指PR8信号肽序列。标为“2”的下划线的氨基酸序列是指被导入120环序列的突变。标为“3”的下划线的氨基酸是指E→K突变。标为“4”的下划线的氨基酸序列是指被导入150环序列的突变。标为“5”的下划线的氨基酸序列是指被导入160环序列的突变。标为“6”的下划线的氨基酸序列是指被导入190螺旋序列的突变。标为“7”的下划线的氨基酸是指Yamagata胞外域中的H→Y突变,其匹配这个位置的甲型流感病毒HA(由Flandorfer et al., Journal of Virology, 2003确定),它可以产生更高效的拯救。标为“8”的下划线的氨基酸序列是指PR8跨膜结构域序列。标为“9”的下划线的氨基酸序列是指PR9胞质尾部结构域序列。

[0113] 图20:流感B/Hong Kong/8/73病毒HA (SEQ ID NO:28)、流感A/PuertoRico/8/34病毒HA (SEQ ID NO:29) 和流感B/Yamagata/16/88病毒HA (SEQ ID NO:30) 的比对。乙型流感病毒的信号肽、柄部结构域、头部结构域、HA2结构域的起始、融合肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域根据甲型流感病毒中相应结构域的位置描绘。

[0114] 图21A:编码流感A/mallard/Sweden/24/2002病毒HA的核酸序列 (SEQ ID NO:31)。下划线的序列是5'和3'非编码区。图21B:图21A的核酸的氨基酸序列 (SEQ ID NO:32)。

[0115] 图22A:编码流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒HA的核酸序列 (SEQ ID NO:33)。图22B:图22A的核酸的氨基酸序列 (SEQ ID NO:34)。

[0116] 图23A:编码流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99病毒HA的核酸序列 (SEQ ID NO:35)。下划线的序列是5'和3'非编码区。图23B:图23A的核酸的氨基酸序列 (SEQ ID NO:36)。

[0117] 图24A:编码Amallardinterior Alaska_7MP0167_2007病毒HA的核酸序列 (SEQ ID NO:37)。下划线的序列是5'和3'非编码区域。图24B:图24A的核酸的氨基酸序列 (SEQ ID NO:38)。

[0118] 图25A:编码流感A/Puerto Rico/8/34病毒HA的核酸序列 (SEQ ID NO:39)。下划线的序列是5'和3'非编码区域。图25B:图25A的核酸的氨基酸序列 (SEQ ID NO:40)。

[0119] 图26A:编码流感B/Yamagata/16/88病毒HA的核酸序列 (SEQ ID NO:41)。下划线的序列是5'和3'非编码区域。图26B:图26A的核酸的氨基酸序列 (SEQ ID NO:42)。

[0120] 图27描述了流感病毒B/Yamanashi/166/1988 (PDB:4M40) 中乙型流感病毒HA的四个主要的抗原性位点:120环、150环、160环和190螺旋。

[0121] 图28:流感B/Yamagata/16/88病毒HA的四个抗原位点 (120环、150环、160环和190螺旋) 中的氨基酸残基被来自H5、H8、H11或H13亚型的甲型流感病毒HA的相应氨基酸序列替代。产生的构建体在本文中分别称为mH5/B、mH8/B、mH11/B和mH13/B嵌合HA。编码嵌合HA的病毒在流感B/Malaysia/2506/04MA病毒主干中拯救。

[0122] 图29:编码基于流感B/Yamagata/16/88病毒HA序列的mH5/B嵌合HA的核酸序列 (SEQ ID NO:43), 包含来自流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒 (H5) 球形头部结构域的核酸序列。粗体、下划线、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的120环中的突变。粗体小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的150环中的突变。斜体、下划线、小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的160环中的突变。下划线、粗体、斜体、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的190螺旋中的突变。大写字母的粗体序列相应于导入流感

B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的其他突变。

[0123] 图30:图29的核酸编码的氨基酸序列(SEQ ID NO:44)。粗体、下划线、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的120环中的突变。粗体小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的150环中的突变。斜体、下划线、小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的160环中的突变。下划线、粗体、斜体、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的190螺旋中的突变。大写字母的粗体序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的其他突变。

[0124] 图31:编码基于流感B/Yamagata/16/88病毒HA序列的mH8/B嵌合HA的核酸序列(SEQ ID NO:45),包含来自流感A/mallard/Sweden/24/2002病毒(H8)球形头部结构域的核酸序列。粗体、下划线、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的120环中的突变。粗体小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的150环中的突变。斜体、下划线、小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的160环中的突变。下划线、粗体、斜体、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的190螺旋中的突变。大写字母的粗体序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的其他突变。

[0125] 图32:图31的核酸编码的氨基酸序列(SEQ ID NO:46)。粗体、下划线、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的120环中的突变。粗体小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的150环中的突变。斜体、下划线、小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的160环中的突变。下划线、粗体、斜体、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的190螺旋中的突变。大写字母的粗体序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的其他突变。

[0126] 图33:编码基于流感B/Yamagata/16/88病毒HA序列的mH11/B嵌合HA的核酸序列(SEQ ID NO:47),包含来自流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99病毒(H11)球形头部结构域的核酸序列。粗体、下划线、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的120环中的突变。粗体小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的150环中的突变。斜体、下划线、小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的160环中的突变。下划线、粗体、斜体、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的190螺旋中的突变。大写字母的粗体序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的其他突变。

[0127] 图34:图33的核酸编码的氨基酸序列(SEQ ID NO:48)。粗体、下划线、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的120环中的突变。粗体小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的150环中的突变。斜体、下划线、小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的160环中的突变。下划线、粗体、斜体、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的190螺旋中的突变。大写字母的粗体序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的其他突变。

[0128] 图35:编码基于流感B/Yamagata/16/88病毒HA序列的mH13/B嵌合HA的核酸序列

(SEQ ID NO:49), 包含来自流感A/black headed gull/Sweden/1/99 (H13) 球形头部结构域的核酸序列。粗体、下划线、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的120环中的突变。粗体小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的150环中的突变。斜体、下划线、小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的160环中的突变。下划线、粗体、斜体、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的190螺旋中的突变。

[0129] 图36:图35的核酸编码的氨基酸序列(SEQ ID NO:50)。粗体、下划线、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的120环中的突变。粗体小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的150环中的突变。斜体、下划线、小写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的160环中的突变。下划线、粗体、斜体、大写字母的序列相应于导入流感B/Yamagata/16/88病毒HA胞外域的190螺旋中的突变。

[0130] 图37A-37D:描述了与野生型流感B/Malaysia/2506/04MA病毒相比,表达mH5/B嵌合HA(图37A)、mH8/B嵌合HA(图37B)、mH11/B嵌合HA(图37C)或mH13/B嵌合HA(图37D)的流感病毒的生长曲线。10天的有胚蛋用500PFU/蛋的、表达mH5/B嵌合HA(mH5/B Mal)、mH8/B嵌合HA(mH8/B Mal)、mH11/B嵌合HA(mH11/B Mal)或mH13/B嵌合HA(mH13/B Mal)的流感病毒或野生型流感B/Malaysia/2506/04MA病毒(B/Mal04MA)一式三份感染,在33摄氏度下孵育。在指明的时间收获尿囊液,在Madin Darby犬肾(MDCK)细胞上进行蚀斑分析以确定病毒滴度。PFU是指蚀斑形成单位。B/Mal04MA是指野生型流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。mH5/B Mal是指编码图29和30中描述的mH5/B嵌合HA的流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。mH8/B Mal是指编码图31和32中描述的mH8/B嵌合HA的流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。mH11/B Mal是指编码图33和34中描述的mH11/B嵌合HA的流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。mH13/B Mal是指编码图35和36中描述的mH13/B嵌合HA的流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。

[0131] 图38A-38D展现了乙型流感病毒HA内交叉保护性的亚优势保守抗原位点在所述嵌合HA中被保留。MDCK细胞用表达mH5/B嵌合HA(图38A)、mH8/B嵌合HA(图38B)、mH11/B嵌合HA(图38C)或mH13/B嵌合HA(图38D)的流感病毒以5的MOI没有TPCK-胰蛋白酶地进行感染,并与未感染的细胞、或用B/Mal04MA以5的MOI没有TPCK-胰蛋白酶地感染的细胞进行比较。细胞在33摄氏度和5%CO₂下孵育。感染后17小时,细胞用无甲醇的5%多聚甲醛固定,使用标明的抗乙型流感病毒HA交叉保护性人/小鼠单克隆抗体和抗乙型流感病毒HA多克隆小鼠血清进行免疫荧光表面染色。使用二抗Alexa Fluor抗人或抗小鼠抗体。使用ZeissLSM 880共焦显微镜采集图像。PFU是指蚀斑形成单位。B/Mal04MA是指野生型流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。mH5/B Mal是指编码图29和30中描述的mH5/B嵌合HA的流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。mH8/B Mal是指编码图31和32中描述的mH8/B嵌合HA的流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。mH11/B Mal是指编码图33和34中描述的mH11/B嵌合HA的流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。mH13/B Mal是指编码图35和36中描述的mH13/B嵌合HA的流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。TPCK是指L-1-甲苯磺酰基-2-苯乙基氯甲基酮。

[0132] 图39A-39D展现了流感B/Yamagata/88HA头部上的免疫决定性表位在嵌合HA中被消除。针对野生型乙型流感病毒毒株B/Yamagata/16/88产生小鼠和雪貂血清,以获得血细胞凝集抑制(HI)反应性。小鼠和雪貂血清的HI分析使用带有表达mH5/B嵌合HA(图39A)、

mH8/B嵌合HA (图39B)、mH11/B嵌合HA (图39C) 或mH13/B嵌合HA (图39D) 的流感病毒或野生型乙型流感病毒毒株B/Yamagata/16/88的土耳其红血细胞 (RBC) 进行 (图39A-39D)。B/Yamagata 88野生型是指野生型流感B/Yamagata/16/88病毒。mH5/B Mal是指编码图29和30中描述的mH5/B嵌合HA的流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。mH8/B Mal是指编码图31和32中描述的mH8/B嵌合HA的流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。mH11/B Mal是指编码图33和34中描述的mH11/B嵌合HA的流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。mH13/B Mal是指编码图35和36中描述的mH13/B嵌合HA的流感B/Malaysia/2506/04MA病毒。

[0133] 图40A和40B描述了在用B/Malaysia/2506/04 (Victoria-样) 攻击之后嵌合HA免疫接种的小鼠的体重损失 (图40A) 和存活 (图40B)。使用嵌合HA方案的疫苗接种产生对死亡的完全保护, 具有最小的体重损失。圆圈: 组1 (嵌合HA); 正方形: 组2 (仅首次免疫); 指向上的三角形: 组3 (TIV); 指向下的三角形: 组4 (不相关蛋白质); 菱形: 初始。

[0134] 图41A: 编码流感A/black headed gull/Sweden/1/99病毒HA的核酸序列 (SEQ ID NO: 71)。图41B: 图41A的核酸的氨基酸序列 (SEQ ID NO: 72)。

[0135] 5. 详细说明

[0136] 5.1 嵌合的流感病毒血细胞凝集素多肽

[0137] 在另一个方面, 本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽, 其包含乙型流感病毒的HA胞外域, 所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的抗原环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。在另一个方面, 本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽, 其包含乙型流感病毒的HA胞外域, 所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环、150环、160环或190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环、150环、160环或190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。在一个实施方式中, 本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽, 其包含乙型流感病毒的HA胞外域, 所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中, 本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽, 其包含乙型流感病毒的HA胞外域, 所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中, 本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽, 其包含乙型流感病毒的HA胞外域, 所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代, 其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中, 本文提供

的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINA EHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINA EHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTY NVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTY NVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG

(SEQ ID NO:18)被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基**KKKADTY** (SEQ ID NO:53)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基**KKKPDY** (SEQ ID NO:68)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基**ADAKMQT** (SEQ ID NO:54)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基**PDAKMQT** (SEQ ID NO:69)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**TIP**和**NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL** (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**LIP**和**KIELSTSNVINAEPGGPYRL** (SEQ ID NO:55)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEPGGPYRL (SEQ ID NO:55)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基**HQSGTY** (SEQ ID NO:57)取代。在具体

的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:

59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**VSTNMAK** (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽也可以包含来自乙型流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在其他实施方式中,所述嵌合HA多肽包含来自乙型流感病毒HA的信号肽,但是缺乏跨膜结构域和胞质尾部结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽也可以包含来自甲型流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在其他实施方式中,所述嵌合HA多肽包含来自甲型流感病毒HA的信号肽,但是缺乏跨膜结构域和胞质尾部结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA包含所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的信号肽。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化(例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述嵌合HA包含所述甲型流感病毒HA的信号肽。在某些实施方式中,所述嵌合HA包含所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的信号肽、跨膜结构域和胞质结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽还可以包含来自流感病毒HA的信号肽,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽还可以包含来自流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。本文还提供的是核酸,其包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自乙型流感病毒HA的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自甲型流感病毒HA的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化(例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述甲型流感病毒的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自流感病毒的流感病毒HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在具体的实施方式中,所述嵌合HA多肽是

可溶的。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA的球形头部结构域中、所述120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147(包括信号肽)可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156(谷氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,赖氨酸)取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250(甘氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,谷氨酸)取代。

[0138] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含一项、两项、三项或所有以下的:(i)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;(ii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;(iii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和(iv)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下酸残基RDNKTA (SEQ

ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/

或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/

Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基**LKSGQF** (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基**PTSDMQI** (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**TIP**和**NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL** (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**NIP**和**RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL** (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**VSTNMAK** (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽也可以包含来自乙型流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在其他实施方式中,所述嵌合HA多肽包含来自乙型流感病毒HA的信号肽,但是缺乏跨膜结构域和胞质尾部结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽也可以包含来自甲型流感病毒HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在其他

实施方式中,所述嵌合HA多肽包含来自甲型流感病毒HA的信号肽,但是缺乏跨膜结构域和胞质尾部结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA包含所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的信号肽。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化(例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述嵌合HA包含所述甲型流感病毒的信号肽。在某些实施方式中,所述嵌合HA包含所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的信号肽、跨膜结构域和胞质结构域。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽还可以包含来自流感病毒的HA的信号肽,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽还可以包含来自流感病毒的HA的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。本文还提供的是核酸,其包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自乙型流感病毒HA的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自甲型流感病毒HA的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化(例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述甲型流感病毒的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自流感病毒的流感病毒HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在具体的实施方式中,所述嵌合HA多肽是可溶的。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA的球形头部结构域中、所述120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147(包括信号肽)可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156(谷氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,赖氨酸)取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250(甘氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,谷氨酸)取代。

[0139] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有处在所述乙型流感病毒HA的120环、150环、160环或190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环、150环、160环或190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。在一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、

4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,和(ii)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3)被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。

在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS

(SEQ ID NO:56)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基**HQSGTY** (SEQ ID NO:57)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**TTLKMHQ** (SEQ ID NO:58)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**ATLKM HQ** (SEQ ID NO:70)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基ATLKM HQ (SEQ ID NO:70)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**TIP**和**NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL** (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基**YIP**和**RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL** (SEQ ID NO:63)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基**LKSGQF** (SEQ ID NO:65)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下

划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA的球形头部结构域中、所述120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147 (包括信号肽) 可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156 (谷氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,赖氨酸) 取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250 (甘氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,谷氨酸) 取代。在某些实施方式中,所述乙型流感病毒来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述型流感病毒来自Victoria系。在具体的实施方式中,得出氨基酸残基用于在一个、两个、三个或更多个所述环中的氨基酸取代的甲型流感病毒是H5 (例如,A/Vietnam/1203/04 (HALo))、H8 (例如,A/mallard/Sweden/24/2002)、H11 (例如,A/northern shoveler/Netherlands/18/99)、H12毒株 (例如,A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007) 或H13毒株 (例如,A/black headed gull/Sweden/1/99)。本文还提供的是核酸,其包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含

编码这样的嵌合HA多肽的核苷酸序列以及来自甲型流感病毒的5'非编码区和3'非编码区。

[0140] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含:(a)来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有一项、两项、三项或所有以下的(i)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;(ii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;(iii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和(iv)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和(b)来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基T**I**P和N**I**R**L**S**T**HNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基F**I**P和K**I**Q**L**S**T**KNVINAEHAPGGPYRL(SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL(SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG(SEQ ID NO:3)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的氨基酸残基YQGKSS(SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG(SEQ ID NO:3)被氨基酸残基YQGKSS(SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG(SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的氨基酸残基PYQGKSS(SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG(SEQ ID NO:18)被氨基酸残基PYQGKSS(SEQ ID NO:19)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基R**D**N**K**T**A**(SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的以下粗体和下划线氨基酸残基K**K**N**S**TY(SEQ ID NO:6)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA(SEQ ID NO:5)被氨基酸残基KKNSTY(SEQ ID NO:6)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基N**K**N**Q**MKN(SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基N**D**A**AMQT(SEQ ID NO:8)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN(SEQ ID NO:7)被氨基酸残基NDAAMQT(SEQ ID NO:8)取代。在**

具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL(SEQ ID NO:51)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL(SEQ ID NO:51)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG(SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS(SEQ ID NO:52)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG(SEQ ID NO:18)被氨基酸残基NASTGGQS(SEQ ID NO:52)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA(SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY(SEQ ID NO:53)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA(SEQ ID NO:5)被氨基酸残基KKKADTY(SEQ ID NO:53)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA(SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDTY(SEQ ID NO:68)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA(SEQ ID NO:5)被氨基酸残基KKKPDTY(SEQ ID NO:68)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN(SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT(SEQ ID NO:54)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN(SEQ ID NO:7)被氨基酸残基ADAKMQT(SEQ ID NO:54)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN(SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT(SEQ ID NO:69)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN(SEQ ID NO:7)被氨基酸残基PDAKMQT(SEQ ID NO:69)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL(SEQ ID NO:55)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/

Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKM HQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ATLKM HQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA

(SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5)被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7)被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62)取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA的球形头部结构域中、所述120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147(包括信号肽)可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156(谷氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,赖氨酸)取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250(甘氨酸)可以被另一个氨基酸(例如,谷氨酸)取代。在某些实施方式中,所述乙型流感病毒来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述型流感病毒来自Victoria系。在具体的实施方式中,得出氨基酸残基用于在一个、两个、三个或更多个所述环中的氨基酸取代的甲型流感病毒

是H5 (例如,A/Vietnam/1203/04 (HALo))、H8 (例如,A/mallard/Sweden/24/2002)、H11 (例如,A/northern shoveler/Netherlands/18/99)、H12毒株 (例如,A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007) 或H13毒株 (例如,A/black headed gull/Sweden/1/99)。本文还提供的是核酸,其包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码嵌合HA多肽的核苷酸序列以及来自甲型流感病毒的5'非编码区和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码嵌合HA多肽的核苷酸序列以及来自乙型流感病毒的5'非编码区和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述嵌合HA的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区。例如,如果所述嵌合HA对于甲型流感病毒主干进行工程化 (例如,包含所述嵌合HA或被工程化以表达所述嵌合HA的流感病毒是甲型流感病毒),则所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及所述甲型流感病毒的5'和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及来自流感病毒的流感病毒HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒被工程化以表达所述嵌合HA。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图12A和附图12B中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图14A和附图14B中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图16A和附图16B中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图18A和附图18B中列出的核苷酸序列或其互补物。

[0141] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含 (i) 来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的120环、150环、160环或190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代,和 (ii) 来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的120环、150环、160环或190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。在一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含 (i) 来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,和 (ii) 来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含 (i) 来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,和 (ii) 来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用第二乙型流感病毒毒株HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含 (i) 来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,和 (ii) 来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾

部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基。在另一个实施方式中,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含(i)来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有在所述乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,和(ii)来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基FIP和KIQLSTKVNIAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基FIP和KIQLSTKVNIAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG (SEQ ID NO:3) 被氨基酸残基YQGKSS (SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYINVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨

氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINA EVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基

KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基**HQSGTY** (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**TTLKMHQ** (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基**ATLKMHQ** (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**TIP**和**NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL** (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基**YIP**和**RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL** (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基**RDNKTA** (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基**LKSGQF** (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基**NKNQMKN** (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基**PTSDMQI** (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:

66) 取代。在具体的实施方式中, 本文描述的嵌合HA多肽包含120环、150环、160环和/或190螺旋, 其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中, 在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中, 本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的: 120环、150环、160环和/或190螺旋, 其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中, 所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA的球形头部结构域中, 一个、两个、三个或所有以下: 120环、150环、160环和/或190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如, 乙型流感病毒HA的胞外域的最后一个氨基酸可以用另一个氨基酸取代, 乙型流感病毒HA的氨基酸147 (包括信号肽) 可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例, 未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156 (谷氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如, 赖氨酸) 取代。作为另一个实例, 未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250 (甘氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如, 谷氨酸) 取代。在某些实施方式中, 所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自相同的谱系。在某些实施方式中, 所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自相同的谱系, 但是是不同的毒株。在具体的实施方式中, 所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型流感病毒毒株相同的毒株。在另一个实施方式中, 所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型流感病毒毒株不同的毒株。在某些实施方式中, 所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自不同的谱系。在某些实施方式中, 所述第一乙型流感病毒毒株来自Yamagata系。在其他实施方式中, 所述第一乙型流感病毒来自Victoria系。在某些实施方式中, 所述第二乙型流感病毒毒株来自Yamagata系。在其他实施方式中, 所述第二乙型流感病毒来自Victoria系。在具体的实施方式中, 所述第二乙型流感病毒毒株是与包含、含有、或包含并含有所述嵌合HA的流感病毒的流感病毒主干相同的毒

株。在具体的实施方式中,得出氨基酸残基用于在一个、两个、三个或更多个所述环中的氨基酸取代的甲型流感病毒是H5(例如,A/Vietnam/1203/04(HALo))、H8(例如,A/mallard/Sweden/24/2002)、H11(例如,A/northern shoveler/Netherlands/18/99)、H12毒株(例如,A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007)或H13毒株(例如,A/black headed gull/Sweden/1/99)。本文还提供的是核酸,其包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码嵌合HA多肽的核苷酸序列以及来自所述第二乙型流感病毒的5'非编码区和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及流感病毒的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒包含、含有、或包含且含有所述嵌合HA。

[0142] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含:(a)来自第一乙型流感病毒毒株的血细胞凝集素胞外域,其具有一项、两项、三项或所有以下的(i)处在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;(ii)处在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;(iii)处在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和(iv)处在所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述第一乙型流感病毒毒株HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和(b)来自第二乙型流感病毒毒株的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。在具体的实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型流感病毒毒株相同的毒株。在另一个实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型流感病毒毒株不同的毒株。在具体的实施方式中,所述第二乙型流感病毒毒株是与包含、含有、或包含并含有所述嵌合HA的流感病毒的流感病毒主干相同的毒株。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基T**I**P和N**I**R**L**S**T**HNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的以下下划线和粗体氨基酸残基F**I**P和K**I**Q**L**S**T**KNVINAEHAPGGPYRL(SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1)被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL(SEQ ID NO:2)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG(SEQ ID NO:3)被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04(HALo)的氨基酸残基YQGKSS(SEQ ID NO:4)取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基NVTSRNG(SEQ ID NO:3)被氨基酸残基YQGKSS

(SEQ ID NO:4) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下粗体和下划线氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Vietnam/1203/04 (HALo) 的以下下划线和粗体氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图13中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图30中列出的120环、150环、160环和/或190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基HIP和RIRLSTYINVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYINVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下粗体和下划线氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKPDY (SEQ ID NO:68) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88

的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/Mallard/Sweden/24/2002病毒的以下下划线和粗体氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图15中列出的120环、150环、160环和190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图32中列出的120环、150环、160环和190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下粗体和下划线氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/northern shoveler/Netherlands/18/99的以下下划线和粗体氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160

环和/或190螺旋,其分别具有附图17中列出的120环、150环、160环和190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图34中列出的120环、150环、160环和190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下下划线和粗体氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007的以下下划线和粗体氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图19中列出的120环、150环、160环和190螺旋的氨基酸序列。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下下划线和粗体氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被来自甲型流感病毒A/blackheaded gull/Sweden/1/99的氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下下划线和粗体氨基酸残基

NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被来自甲型流感病毒A/black headed gull/Sweden/1/99的以下下划线和粗体氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,在乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合HA多肽包含一个、两个、三个或所有以下的:120环、150环、160环和/或190螺旋,其分别具有附图36中列出的120环、150环、160环和190螺旋的氨基酸序列。在某些实施方式中,所述嵌合HA多肽包含在乙型流感病毒HA的球形头部结构域中,一个、两个、三个或所有以下:120环、150环、160环和190螺旋之外的1、2、3、4、5或更多个氨基酸取代。例如,乙型流感病毒HA的胞外域的最后氨基酸可以用另一个氨基酸取代,乙型流感病毒HA的氨基酸147 (包括信号肽) 可以用另一个氨基酸取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置156 (谷氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,赖氨酸) 取代。作为另一个实例,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的氨基酸位置250 (甘氨酸) 可以被另一个氨基酸 (例如,谷氨酸) 取代。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自相同的谱系。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自相同的谱系,但是是不同的毒株。在具体的实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型流感病毒毒株相同的毒株。在另一个实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株是与所述第二乙型流感病毒毒株不同的毒株。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株和所述第二乙型流感病毒毒株来自不同的谱系。在某些实施方式中,所述第一乙型流感病毒毒株来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述第一乙型流感病毒来自Victoria系。在某些实施方式中,所述第二乙型流感病毒毒株来自Yamagata系。在其他实施方式中,所述第二乙型流感病毒来自Victoria系。在具体的实施方式中,所述第二乙型流感病毒毒株是与包含、含有、或包含并含有所述嵌合HA的流感病毒的流感病毒主干相同的毒株。在具体的实施方式中,得出氨基酸残基用于在一个、两个、三个或更多个所述环中的氨基酸取代的甲型流感病毒是H5 (例如,A/Vietnam/1203/04 (HALo))、H8 (例如,A/mallard/Sweden/24/2002)、H11 (例如,A/northern shoveler/Netherlands/18/99)、H12毒株 (例如,A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007) 或H13毒株 (例如,A/black headed gull/Sweden/1/99)。本文还提供的是核酸,其包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列。在某些实施方式中,所述核酸包含编码嵌合HA多肽的核苷酸序列以及来自所述第二乙型流感病毒毒株的5'非编码区和3'非编码区。在某些实施方式中,所述核酸包含编码这样的嵌合HA的核苷酸序列以及流感病毒的流感病毒主干的HA的5'和3'非编码区,所述流感病毒包含、含有、或包含且含有所述嵌合HA。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图29中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图31中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图33中列出的核苷酸序列或其互补物。在具体的实施方式中,所述核酸包含附图35中列出的核苷酸序列或其互补物。

[0143] 在另一个方面,本文提供的是嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含乙型流感病毒的HA胞外域,所述HA胞外域包含处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的抗原环 (例如,120环、150环、160环和/或190螺旋) 内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用不影响所述HA的构象/结构的随机氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个氨基酸残基。

[0144] 与乙型流感病毒HA的球形头部结构域中的抗原环(例如,120环、150环、160环和/或190螺旋)相应的区域中、甲型流感病毒HA的球形头部结构域中的氨基酸残基可以使用本领域技术人员已知的技术来鉴定。在具体的实施方式中,与乙型流感病毒HA的球形头部结构域中的抗原环(例如,120环、150环、160环和/或190螺旋)相应的区域中、甲型流感病毒HA的球形头部结构域中的氨基酸残基可以通过比较甲型流感病毒和乙型流感病毒的氨基酸序列和/或结构信息(例如,晶体结构)来鉴定。在特定的实施方式中,比对甲型流感病毒和乙型流感病毒的HA的氨基酸序列以及评估病毒的结构相似性,允许本领域技术人员选择乙型流感病毒HA抗原环中的氨基酸残基,以用来自甲型流感病毒HA的球形头部结构域中相应区域的氨基酸残基进行取代。例如,人们可能希望避免使用来自甲型流感病毒HA的球形头部结构域中相应区域的氨基酸残基取代乙型流感病毒HA抗原环中可能影响嵌合HA折叠的氨基酸残基,例如,半胱氨酸、脯氨酸或这两者。此外,人们可能希望避免取代乙型流感病毒HA抗原环中影响编码N-连接的糖基化位点(N-X-S/T)的氨基酸残基。在选择要取代的氨基酸残基方面,应当小心以维持HA的构象/结构。在某些实施方式中,乙型流感病毒HA的球形头部结构域的抗原环中高度保守的氨基酸残基,人们可能希望避免使用来自甲型流感病毒HA的球形头部结构域中相应区域的氨基酸残基进行取代。例如,可以选择由Wang et al., 2008, *Journal of Virology* 82:3011-3020鉴定为乙型流感病毒之中的变体的那些氨基酸残基,作为乙型流感病毒的球形头部结构域的抗原环内的氨基酸残基,用其他氨基酸残基(例如,来自甲型流感病毒HA的球形头部结构域的相应区域的其他氨基酸残基)进行取代,而乙型流感病毒HA的球形头部结构域的抗原环内的那些氨基酸残基可以不被取代。在具体的实施方式中,当乙型流感病毒HA的球形头部结构域的抗原环中的氨基酸残基以及甲型流感病毒HA的球形头部结构域的相应区域中的氨基酸残基是高度保守的时,人们可能希望避免用来自甲型流感病毒HA的球形头部结构域中相应区域的氨基酸残基取代乙型流感病毒HA的球形头部结构域的抗原环中的氨基酸残基。例如,本领域技术人员可能不希望用另一个氨基酸残基取代乙型流感病毒的190螺旋中的甲硫氨酸。参见,例如,下文的章节6。在某些实施方式中,对于乙型流感病毒HA的球形头部结构域的抗原环中存在的氨基酸残基例如脯氨酸,人们可能希望避免使用来自甲型流感病毒HA的球形头部结构域中相应区域的氨基酸残基进行取代。在某些实施方式中,对于乙型流感病毒HA的球形头部结构域的抗原环中存在的氨基酸残基例如脯氨酸、脯氨酸或这两者,人们可能希望避免使用来自甲型流感病毒HA的球形头部结构域中相应区域的氨基酸残基进行取代。在某些实施方式中,人们可能希望避免用来自甲型流感病毒HA的球形头部结构域中相应区域的氨基酸残基取代乙型流感病毒HA的球形头部结构域的抗原环中存在的氨基酸残基例如脯氨酸。在具体的实施方式中,乙型流感病毒的球形头部结构域的抗原环中取代的氨基酸残基不是连续的氨基酸残基。例如,构象性上彼此靠近的氨基酸残基可以取代为其他氨基酸残基。在其他实施方式中,乙型流感病毒的球形头部结构域的抗原环中取代的氨基酸残基是连续的氨基酸残基。在某些实施方式中,乙型流感病毒的抗原环中存在的氨基酸残基用保守的氨基酸残基取代(即,保守性取代)。氨基酸取代对构象/结构的影响可以通过本领域技术人员已知的分析来测定,例如,结构程序、晶体成像或功能分析。参见,例如,下文的章节5.11和章节6。在特定的实施方式中,可以使用与HA的球形头部结构域或HA的茎杆结构域中的保守表位结合的单克隆抗体面板评估抗原性保守性。在具体的实施方式中,下文的章节6中描述的方法被用于

评估所述嵌合HA的抗原性保守性。此外,可以使用本领域技术人员已知的或本文描述的技术(参见,例如,下文的章节6,包括其中描述的HI分析)评估本文描述的嵌合HA多肽来确定乙型流感病毒HA的抗原环是否突变。特别地,可以使用本领域技术人员已知的或本文描述的技术(参见,例如,下文的章节6,包括其中描述的HI分析)评估本文描述的嵌合HA多肽来确定乙型流感病毒HA的抗原环中的氨基酸取代是否引起乙型流感病毒HA的可变区的丢失。在具体的实施方式中,可以使用本领域技术人员已知的或本文描述的技术(参见,例如,下文的章节6,包括其中描述的HI分析)评估本文描述的嵌合HA多肽来确定乙型流感病毒HA的抗原环中的氨基酸取代是否降低或消除乙型流感病毒HA的免疫决定表位。在具体的实施方式中,在例如下文的章节6中描述的HI分析中评估本文描述的嵌合HA多肽,来评估乙型流感病毒HA的抗原环中的替换。

[0145] 在某些实施方式中,乙型流感病毒HA的120环中的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基用甲型流感病毒H3HA的球形头部结构域的位点E中的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基取代。在某些实施方式中,乙型流感病毒HA的120环中的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基用甲型流感病毒H1HA的球形头部结构域的位点Sa中的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基取代。在某些实施方式中,乙型流感病毒HA的120环中的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基用甲型流感病毒H1HA的球形头部结构域的位点Cb中的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基取代。在某些实施方式中,乙型流感病毒HA的120环中的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基用甲型流感病毒H1HA的球形头部结构域的位点Sa和/或Cb中的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基取代。

[0146] 在某些实施方式中,乙型流感病毒HA的150环中的1、2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基用甲型流感病毒H3HA的球形头部结构域的位点A中的1、2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基取代。在某些实施方式中,乙型流感病毒HA的150环中的1、2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基用甲型流感病毒H1HA的球形头部结构域的位点Ca中的1、2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基取代。

[0147] 在某些实施方式中,乙型流感病毒HA的160环中的1、2、3、4、5或更多个氨基酸残基用甲型流感病毒H3HA的球形头部结构域的位点B中的1、2、3、4、5或更多个氨基酸残基取代。在某些实施方式中,乙型流感病毒HA的160环中的1、2、3、4、5或更多个氨基酸残基用甲型流感病毒H1HA的球形头部结构域的位点Sa中的1、2、3、4、5或更多个氨基酸残基取代。

[0148] 在某些实施方式中,乙型流感病毒HA的190螺旋中的1、2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基用甲型流感病毒H3HA的球形头部结构域的位点B中的1、2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基取代。在某些实施方式中,乙型流感病毒HA的190螺旋中的1、2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基用甲型流感病毒H1HA的球形头部结构域的位点Sb中的1、2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基取代。

[0149] 在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的所述甲型流感病毒HA是来自H1、H2、H3、H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17或H18亚型的

流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的所述甲型流感病毒HA是来自H2、H3、H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17或H18亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自H5、H8、H11、H12或H13亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自H5亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自H8亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自H11亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自H12亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自H13亚型的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自禽流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自流感A/mallard/Sweden/24/2002病毒的HA (GenBank Accession No.CY060249.1;GenBank GI No.294441479;还参见,附图21A和附图21B)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自流感A/Vietnam/1203/04病毒的HA (GenBank Accession No.EF541403.1;GenBank GI No.145284465;还参见附图22A和附图22B,以及关于流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒的Steel et al.,2009,Journal of Virology,83 (4):1742-1753)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99病毒的HA (GenBank Accession No.CY060417.1;GenBank GI No.294441876;还参见附图23A和附图23B)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自流感Amallardinterior Alaska_7MP0167_2007病毒的HA (GenBank Accession No.CY077198.1;GenBank GI No.312652817;还参见附图24和附图24B)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自流感A/Puerto Rico/8/34病毒的HA (GenBank Accession No.AF389118.1;GenBank GI No.21693168;还参见,附图25A和附图25B)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的甲型流感病毒HA是来自流感A/black headed gull/Sweden/1/99的HA (GenBank Accession No.AY684887.1;还参见,附图41A和附图41B)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的乙型流感病毒HA是来自Yamagata系的乙型流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的乙型流感病毒HA是来自Victoria系的乙型流感病毒的HA。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的乙型流感病毒HA是来自流感B/Yamagata/16/88病毒的HA (参见,附图26A和附图26B)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的乙型流感病毒HA是来自流感B/Malaysia/2506/04小鼠适应的(MA) 病毒的HA (参见,例如,SEQ ID NO:73和83)。在具体的实施方式中,在产生本文描述的嵌合HA多肽中使用的乙型流感病毒HA是来自流感B/Malaysia/2506/04病毒的HA (参见,例如,GenBank Accession No.CY040449.1)。

[0150] 在具体的实施方式中,嵌合HA多肽是下文的章节6中描述的嵌合HA多肽。在具体的实施方式中,嵌合HA多肽包含附图13、15、17、19、30、32、34或36中的嵌合HA多肽的氨基酸序列。在另一个具体的实施方式中,嵌合HA多肽包含附图13、15、17、19、30、32、24或36中的没

有信号肽的嵌合HA多肽的氨基酸序列。在另一个具体的实施方式中,嵌合HA多肽包含附图13、15、17、19、30、32、34或36中的嵌合HA多肽的胞外域的氨基酸序列。

[0151] 在具体的实施方式中,产生本文描述的嵌合HA多肽使用的乙型流感病毒HA序列是来自下文章节5.4中描述的乙型流感病毒的HA序列。在具体的实施方式中,产生本文描述的嵌合HA多肽使用的乙型流感病毒HA序列是来自下文章节6中描述的乙型流感病毒的HA序列。在具体的实施方式中,产生本文描述的嵌合HA多肽使用的甲型流感病毒HA序列是来自下文章节5.4中描述的甲型流感病毒的HA序列。在具体的实施方式中,产生本文描述的嵌合HA多肽使用的甲型流感病毒HA序列是来自下文章节6中描述的甲型流感病毒的HA序列。例如,所述甲型流感病毒HA可以来自组1 (group 1) 或组2 (group 2) 病毒。在具体的实施方式中,所述甲型流感病毒HA来自H1、H2、H3、H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16或H17甲型流感病毒。

[0152] 在某些实施方式中,本文提供的嵌合的流感病毒血细胞凝集素多肽能够形成与天然流感血细胞凝集素的三维结构类似的三维结构。结构相似性可以根据本领域技术人员认为合适的任何技术来评估。例如,嵌合的流感病毒血细胞凝集素多肽与识别天然流感血细胞凝集素的中和抗体或抗血清在例如非变性条件下的反应可以指示结构相似性。在Sui, et al., 2009, Nat. Struct. Mol. Biol. 16 (3) :265-273, Ekiert et al., February 26, 2009, Science [DOI:10.1126/science.1171491] 和Kashyap et al., 2008, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105 (16) :5986-5991中描述了有用的中和抗体或抗血清,其内容通过以它们整体引用合并在本文中。在某些实施方式中,所述抗体或抗血清是与血细胞凝集素的三级或四级结构形成的非连续表位(即,在原始序列中不连续)反应的抗体或抗血清。

[0153] 在某些实施方式中,本文描述的嵌合流感血细胞凝集素(HA)多肽保持了野生型流感HA的一个、两个或更多个、或所有的功能。野生型流感HA的功能的非限制性实例包括膜融合活性、受体结合活性、出芽和颗粒形成。在具体的实施方式中,本文描述的嵌合流感血细胞凝集素(HA)多肽具有膜融合活性。可以利用本领域技术人员已知的分析评估本文描述的嵌合流感血细胞凝集素(HA)多肽的膜融合活性,例如,免疫荧光分析和假型病毒样颗粒分析。

[0154] 5.2编码嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的核酸

[0155] 本文提供的是核酸,其包含编码本文描述的嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的核苷酸序列。由于遗传密码的简并性,编码本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的任何核酸被涵盖于此。在某些实施方式中,与编码HA1结构域(例如,HA1茎杆片段(例如,HA1 N-末端茎杆片段和HA1 C-末端茎杆片段))、HA2结构域、HA腔结构域、HA跨膜结构域和/或HA胞质结构域的天然发生的流感病毒核酸相应的核酸,被用于产生嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽。在某些实施方式中,所述核酸包含一个、两个或三个以下的:编码流感病毒HA信号肽的核苷酸序列,编码流感病毒HA跨膜结构域的核苷酸序列,和编码流感病毒HA胞质结构域的核苷酸序列。在具体的实施方式中,所述核酸包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列,以及优选地包含来自流感病毒的HA的5'非编码区和5'非编码区,所述流感病毒与被工程化以表达所述嵌合HA多肽的流感病毒相同。在具体的实施方式中,所述核酸包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列,5'非编码区和3'非编码区,和编码流感病毒HA信号肽的核苷酸序列,所

述5'非编码区和3'非编码区来自与被工程化以表达所述嵌合HA多肽的流感病毒相同的流感病毒,所述HA信号肽来自与被工程化以表达所述嵌合HA多肽的流感病毒相同的流感病毒的HA。在具体的实施方式中,所述核酸包含编码所述嵌合HA多肽的核苷酸序列,来自与被工程化以表达所述嵌合HA多肽的流感病毒相同的流感病毒的、5'非编码区和3'非编码区,和编码一个、两个或三个以下的核苷酸序列:来自与被工程化以表达所述嵌合HA多肽的流感病毒相同的流感病毒的HA的、流感病毒HA信号肽、流感病毒HA跨膜结构域和流感病毒HA胞质结构域。

[0156] 本文还提供的是能够与编码嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的核酸杂交的核酸。在某些实施方式中,本文提供的是能够与编码嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的核酸的片段杂交的核酸。在其他实施方式中,本文提供的是能够与编码嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的核酸的全长杂交的核酸。在Sambrook et al, *Molecular Cloning-A Laboratory Manual* (2nd Ed.), Vols.1-3, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York (1989) 和 Ausubel et al, *Current Protocols in Molecular Biology*, vol.2, Current Protocols Publishing, New York (1994) 中描述了核酸的杂交条件的一般参数。杂交可以在高度严格条件、中度严格条件或低度严格条件下进行。本领域的技术人员将理解,低度、中度和高度严格条件取决于多种因素,所有这些因素相互作用,还取决于所讨论的核酸。例如,高度严格条件可以包括核酸的熔解温度5℃之内的温度、低盐浓度(例如,小于250mM)以及高共溶剂浓度(例如,1-20%的共溶剂,例如,DMSO)。另一方面,低度严格条件可以包括低于核酸的熔解温度超过10℃的温度、高盐浓度(例如,大于1000mM)和缺乏共溶剂。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:20中列出的核苷酸序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:20中列出的核苷酸序列的编码序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:22中列出的核苷酸序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:22中列出的核苷酸序列的编码序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:24中列出的核苷酸序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:24中列出的核苷酸序列的编码序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:26中列出的核苷酸序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:26中列出的核苷酸序列的编码序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:43中列出的核苷酸序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:43中列出的核苷酸序列的编码序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:45中列出的核苷酸序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:45中列出的核苷酸序列的编码序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:47中列出的核苷酸序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:47中列出的核苷酸序列的编码序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:49中列出的核苷酸序列的全长杂交。在具体的实施方式中,所述核酸能够在高度严格条件下与SEQ ID NO:49中列出的核苷酸序列的编码序列的全长杂

交。在具体的实施方式中,嵌合HA由附图12A和附图12B中列出的核酸序列或其互补物编码。在具体的实施方式中,嵌合HA由一核酸序列或其互补物编码,所述核酸序列包含附图12A和附图12B中列出的编码胞外域的核苷酸序列(即,排除附图12A和附图12B中列出的5'和3'非编码区以及编码信号肽、跨膜结构域和胞质结构域的核酸序列)。在具体的实施方式中,嵌合HA由附图14A和附图14B中列出的核酸序列或其互补物编码。在具体的实施方式中,嵌合HA由一核酸序列或其互补物编码,所述核酸序列包含附图14A和附图14B中列出的编码胞外域的核苷酸序列(即,排除附图14A和附图14B中列出的5'和3'非编码区以及编码信号肽、跨膜结构域和胞质结构域的核酸序列)。在具体的实施方式中,嵌合HA由附图16A和附图16B中列出的核酸序列或其互补物编码。在具体的实施方式中,嵌合HA由一核酸序列或其互补物编码,核酸序列包含附图16A和附图16B中列出的编码胞外域的核苷酸序列(即,排除附图16A和附图16B中列出的5'和3'非编码区以及编码信号肽、跨膜结构域和胞质结构域的核酸序列)。在具体的实施方式中,嵌合HA由附图18A和附图18B中列出的核酸序列或其互补物编码。在具体的实施方式中,嵌合HA由一核酸序列或其互补物编码,所述核酸序列包含附图18A和附图18B中列出的编码胞外域的核苷酸序列(即,排除附图18A和附图18B中列出的5'和3'非编码区以及编码信号肽、跨膜结构域和胞质结构域的核酸序列)。在具体的实施方式中,嵌合HA由附图29中列出的核酸序列或其互补物编码。在具体的实施方式中,嵌合HA由一核酸序列或其互补物编码,所述核酸序列包含附图29中列出的编码胞外域的核苷酸序列(即,排除附图29中列出的5'和3'非编码区以及编码信号肽、跨膜结构域和胞质结构域的核酸序列)。在具体的实施方式中,嵌合HA由附图31中列出的核酸序列或其互补物编码。在具体的实施方式中,嵌合HA由一核酸序列或其互补物编码,所述核酸序列包含附图31中列出的编码胞外域的核苷酸序列(即,排除附图31中列出的5'和3'非编码区以及编码信号肽、跨膜结构域和胞质结构域的核酸序列)。在具体的实施方式中,嵌合HA由附图33中列出的核酸序列或其互补物编码。在具体的实施方式中,嵌合HA由一核酸序列或其互补物编码,所述核酸序列包含附图33中列出的编码胞外域的核苷酸序列(即,排除附图33中列出的5'和3'非编码区以及编码信号肽、跨膜结构域和胞质结构域的核酸序列)。在具体的实施方式中,嵌合HA由附图35中列出的核酸序列或其互补物编码。在具体的实施方式中,嵌合HA由一核酸序列或其互补物编码,所述核酸序列包含附图35中列出的编码胞外域的核苷酸序列(即,排除附图35中列出的5'和3'非编码区以及编码信号肽、跨膜结构域和胞质结构域的核酸序列)。

[0157] 在具体的实施方式中,嵌合HA多肽由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码附图12中列出的胞外域的核苷酸序列或其互补物,以及一个、两个或所有以下的:(1)编码附图12中列出的信号肽的核苷酸序列,或其互补物;(2)编码附图12中列出的跨膜结构域的核苷酸序列,或其互补物;和(3)编码附图12中列出的胞质结构域的核苷酸序列,或其互补物。在具体的实施方式中,嵌合HA多肽由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码附图14中列出的胞外域的核苷酸序列或其互补物,以及一个、两个或所有以下的:(1)编码附图14中列出的信号肽的核苷酸序列,或其互补物;(2)编码附图14中列出的跨膜结构域的核苷酸序列,或其互补物;和(3)编码附图14中列出的胞质结构域的核苷酸序列,或其互补物。在具体的实施方式中,嵌合HA多肽由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码附图16中列出的胞外域的核苷酸序列或其互补物,以及一个、两个或所有以下的:(1)编码附图16中列出的信号肽的

核苷酸序列,或其互补物;(2) 编码附图16中列出的跨膜结构域的核苷酸序列,或其互补物;和(3) 编码附图16中列出的胞质结构域的核苷酸序列,或其互补物。在具体的实施方式中,嵌合HA多肽由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码附图18中列出的胞外域的核苷酸序列或其互补物,以及一个、两个或所有以下的:(1) 编码附图18中列出的信号肽的核苷酸序列,或其互补物;(2) 编码附图18中列出的跨膜结构域的核苷酸序列,或其互补物;和(3) 编码附图18中列出的胞质结构域的核苷酸序列,或其互补物。在具体的实施方式中,嵌合HA多肽由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码附图29中列出的胞外域的核苷酸序列或其互补物,以及一个、两个或所有以下的:(1) 编码附图29中列出的信号肽的核苷酸序列,或其互补物;(2) 编码附图29中列出的跨膜结构域的核苷酸序列,或其互补物;和(3) 编码附图29中列出的胞质结构域的核苷酸序列,或其互补物。在具体的实施方式中,嵌合HA多肽由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码附图31中列出的胞外域的核苷酸序列或其互补物,以及一个、两个或所有以下的:(1) 编码附图31中列出的信号肽的核苷酸序列,或其互补物;(2) 编码附图31中列出的跨膜结构域的核苷酸序列,或其互补物;和(3) 编码附图31中列出的胞质结构域的核苷酸序列,或其互补物。在具体的实施方式中,嵌合HA多肽由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码附图33中列出的胞外域的核苷酸序列或其互补物,以及一个、两个或所有以下的:(1) 编码附图33中列出的信号肽的核苷酸序列,或其互补物;(2) 编码附图33中列出的跨膜结构域的核苷酸序列,或其互补物;和(3) 编码附图33中列出的胞质结构域的核苷酸序列,或其互补物。在具体的实施方式中,嵌合HA多肽由核酸序列编码,所述核酸序列包含编码附图35中列出的胞外域的核苷酸序列或其互补物,以及一个、两个或所有以下的:(1) 编码附图35中列出的信号肽的核苷酸序列,或其互补物;(2) 编码附图35中列出的跨膜结构域的核苷酸序列,或其互补物;和(3) 编码附图35中列出的胞质结构域的核苷酸序列,或其互补物。

[0158] 在具体的实施方式中,编码嵌合HA多肽的核酸序列包含SEQ ID NO:12、14、16、18、29、31、33或35中列出的核苷酸序列,或其互补物。在另一个具体的实施方式中,编码嵌合HA多肽的核酸序列包含没有信号肽的SEQ ID NO:12、14、16、18、29、31、33或35中列出的核苷酸序列,或其互补物。在另一个具体的实施方式中,编码嵌合HA多肽的核酸序列包含没有5'非编码区、3'非编码区或这两者的SEQ ID NO:12、14、16、18、29、31、33或35中列出的核苷酸序列,或其互补物。在另一个具体的实施方式中,编码嵌合HA多肽的核酸序列包含没有信号肽和没有5'非编码区、3'非编码区或这两者的SEQ ID NO:12、14、16、18、29、31、33或35中列出的核苷酸序列,或其互补物。

[0159] 在某些实施方式中,编码嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的核酸是分离的。在某些实施方式中,“分离的”核酸是指与存在于该核酸的天然来源中的其他核酸分子分离的核酸分子。换句话说,所述分离的核酸可以包含与它在自然中不相关的异源核酸。在其他实施方式中,“分离的”核酸分子,例如cDNA分子,当通过重组技术产生时可以基本上不含其他细胞材料、或培养基,或当化学合成时可以基本上不含化学前体或其他化学品。术语“基本上没有细胞材料”包括核酸的制品,其中核酸从细胞的细胞成分分离,所述核酸分离自所述细胞或由所述细胞重组产生。因而,基本上没有细胞材料的核酸包括具有小于约30%、20%、10%或5% (按干重) 的其他核酸的核酸制品。术语“基本上没有培养基”包括核酸的制品,其中培养基代表所述制品体积的小于约50%、20%、10%或5%。术语“基本上不含化学前体或

其他化学品”包括制品,其中所述核酸从在该核酸的合成中所涉及的化学前体或其他化学品中分离。在具体的实施方式中,这样的核酸制品具有小于约50%、30%、20%、10%或5%(按干重)的目标核酸以外的化学前体或化合物。

[0160] 此外,本文提供的是编码嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的单独成分的核酸。在具体的实施方式中,提供了编码所述嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的球形头部结构域和/或茎杆结构域的核酸。编码嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的成分的核酸可以使用本领域技术人员已知的标准分子生物学技术来组装。在具体的实施方式中,所述嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的单独成分可以通过相同的或不同的载体表达。

[0161] 5.3嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的表达

[0162] 本文提供的是载体,包括表达载体,其含有编码本文描述的嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的核酸。在具体的实施方式中,所述载体是能够指导编码嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的核酸的表达的表达载体。表达载体的非限制性实例包括但不限于质粒和病毒载体,例如,复制缺陷性逆转录病毒、腺病毒、腺病毒相关病毒和杆状病毒。表达载体还可以包括,无限制地,转基因动物和非哺乳动物细胞/生物体,例如,已被工程化以进行哺乳动物N-连接的糖基化的哺乳动物细胞/生物体。

[0163] 在某些实施方式中,本文提供的是编码嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的成分(例如,茎杆结构域和头部结构域,或任一结构域的部分)的表达载体。这样的载体可以用于在一个或多个宿主细胞中表达所述成分,所述成分可以使用本领域技术人员已知的技术分离和用接头结合在一起。

[0164] 表达载体包含编码本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的核酸,以及处于适合在宿主细胞中所述核酸的表达式中。在具体的实施方式中,表达载体包括在用于表达的宿主细胞的基础上选择的一个或多个调节序列,其与要表达的核酸可操作地连接。在表达载体之内,“可操作连接的”意图指目标核酸以允许所述核酸的表达(例如,在体外转录/翻译系统中,或当所述载体被导入宿主细胞时在宿主细胞中)的方式与所述调节序列连接。调节序列包括启动子、增强子和其他表达控制元件(例如,多腺苷酸化信号)。调节序列包括在许多类型的宿主细胞中指导核酸的组成型表达的那些,仅在某些宿主细胞中指导所述核酸的表达的那些(例如,组织特异性调节序列),以及在使用特定试剂刺激时指导所述核酸的表达的那些(例如,可诱导的调节序列)。本领域技术人员将理解的是,表达载体的设计可以取决于一些因素,例如,要转化的宿主细胞的选择、希望的蛋白质表达水平,等等。术语“宿主细胞”意图包括用核酸转染的特定目标细胞,以及这样的细胞的子代或可能的子代。这样的细胞的子代可能由于可能存在于后续世代中的突变或环境影响、或核酸向宿主细胞基因组中的整合而不相同于用所述核酸转化或转染的亲本细胞。在具体的实施方式中,所述宿主细胞是细胞系。

[0165] 表达载体可以被设计用于使用原核细胞(例如,E.coli)或真核细胞(例如,昆虫细胞(使用杆状病毒表达载体,参见,例如,Treanor et al.,2007,JAMA,297(14):1577-1582,通过引用以其整体合并在本文中)、酵母细胞、植物细胞、藻类、禽类或哺乳动物细胞)。酵母宿主细胞的实例包括但不限于裂殖酵母(S.pombe)和酿酒酵母(S.cerevisiae),以及下文的实例。禽类细胞的实例包括但不限于EB66细胞。哺乳动物宿主细胞的实例包括但不限于Crucell Per.C6细胞、Vero细胞、CHO细胞、VERO细胞、BHK细胞、HeLa细胞、COS细胞、MDCK细

胞、293细胞、3T3细胞或WI38细胞。在某些实施方式中,宿主细胞是骨髓瘤细胞,例如,NS0细胞、45.6TG1.7细胞、AF-2克隆9B5细胞、AF-2克隆9B5细胞、J558L细胞、MOPC315细胞、MPC-11细胞、NCI-H929细胞、NP细胞、NS0/1细胞、P3NS1Ag4细胞、P3/NS1/1-Ag4-1细胞、P3U1细胞、P3X63Ag8细胞、P3X63Ag8.653细胞、P3X63Ag8U.1细胞RPMI 8226细胞、Sp20-Ag14细胞、U266B1细胞、X63AG8.653细胞、Y3.Ag.1.2.3细胞和Y0细胞。昆虫细胞的非限制性实例包括Sf9、Sf21、粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*)、草地夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)和家蚕(*Bombyx mori*)。在特定的实施方式中,哺乳动物细胞培养系统(例如,中国仓鼠卵巢或婴儿仓鼠肾脏细胞)被用于嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的表达。在另一个实施方式中,植物细胞培养系统被用于嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的表达。制备细胞和利用植物细胞培养系统生产蛋白质的方法,参见,例如,美国专利Nos.7,504,560;6,770,799;6,551,820;6,136,320;6,034,298;5,914,935;5,612,487;和5,484,719,以及美国专利公开No.2009/0208477、2009/0082548、2009/0053762、2008/0038232、2007/0275014和2006/0204487。在具体的实施方式中,植物细胞培养系统不用于嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的表达。包含编码本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的核酸的宿主细胞可以是分离的,即,所述细胞在对象的身体之外。在某些实施方式中,所述细胞被工程化以表达编码本文描述的嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的核酸。在具体的实施方式中,所述宿主细胞是来自细胞系的细胞。

[0166] 表达载体可以通过常规的转化或转染技术导入宿主细胞中。这样的技术包括但不限于磷酸钙或氯化钙共同沉淀、DEAE-葡聚糖介导的转染、脂转染和电穿孔。转化或转染宿主细胞的适合的方法可以在Sambrook et al,1989,Molecular Cloning-A Laboratory Manual,2nd Edition,Cold Spring Harbor Press,New York和其他实验手册中找到。在某些实施方式中,宿主细胞使用含有编码嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的核酸的表达载体瞬时转染。在其他实施方式中,宿主细胞使用含有编码嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的核酸的表达载体稳定转染。

[0167] 对于哺乳动物细胞的稳定转染,已知的是,取决于使用的表达载体和转染技术,仅小部分细胞可能将外源DNA整合到它们的基因组中。为了鉴定和选择这些整合体,一般与目标核酸一起将编码可选择标记(例如,抗生素抗性)的核酸导入宿主细胞。可选择标记的实例包括赋予对药物,例如G418、潮霉素和氨甲蝶呤的抗性的那些。用导入的核酸稳定转染的细胞可以通过药物选择来鉴定(例如,掺入了可选择标记基因的细胞将生存,而其他细胞将死亡)。

[0168] 作为对使用宿主细胞重组表达嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的替代,含有编码嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的核酸的表达载体可以使用例如T7启动子调节序列和T7聚合酶在体外转录和翻译。在具体的实施方式中,联合的转录/翻译系统,例如Promega TNT®,或包含转录和翻译所必需成分的细胞溶胞产物或细胞提取物可以用于生产嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。

[0169] 一旦已经产生嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,可以通过本领域已知的用于蛋白质分离或纯化的任何方法来分离或纯化,例如,通过层析(离子交换、亲和,特别是通过对特定抗原的亲和性,通过蛋白A、以及分子大小柱层析)、离心、差异溶解度、或通过用于分离或纯化蛋白质的任何其他的标准技术。

[0170] 因而本文提供的是生产嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的方法。在一个实施方式中,

所述方法包括在适合的培养基中培养含有编码所述多肽的核酸的宿主细胞,从而产生所述多肽。在某些实施方式中,所述方法进一步包括从培养基或宿主细胞中分离所述多肽。

[0171] 本文还提供的生产包含本文描述的嵌合HA的病毒的方法,包括在容许所述病毒生长到允许它们根据本文描述的方法的用途的滴度的任何基底中增殖所述病毒。在一个实施方式中,所述基底容许所述病毒生长到与相应的野生型病毒测定的那些可比较的滴度。在具体的实施方式中,所述病毒在有胚蛋(例如,鸡蛋)中增殖。在具体的实施方式中,所述病毒在8天龄、9天龄、8-10天龄、10天龄、11天龄、10-12天龄或12天龄的有胚蛋(例如,鸡蛋)中增殖。在某些实施方式中,所述病毒在MDCK细胞、Vero细胞、293T细胞或本领域已知的其他细胞系中增殖。在某些实施方式中,所述病毒在衍生自有胚蛋的细胞中增殖。

[0172] 5.4流感病毒载体

[0173] 在一个方面,本文提供的是含有本文描述的嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的流感病毒。在具体的实施方式中,所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽被掺入所述流感病毒的病毒粒中。所述流感病毒可以结合到将所述病毒靶向至特定细胞类型例如免疫细胞的部分上。在某些实施方式中,所述流感病毒的病毒粒已经在它们中掺入了或表达了嵌合血细胞凝集素(HA)多肽以外的异源多肽。所述异源多肽可以是具有免疫增强活性的多肽、将所述流感病毒靶向特定细胞类型的多肽,例如,结合特定细胞类型上的抗原的抗体,或结合特定细胞类型上的特定受体的配体。

[0174] 含有嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的流感病毒可以通过利用本领域技术人员已知的技术,例如反向遗传学和无辅助质粒拯救,在病毒粒的生产期间反式提供嵌合血细胞凝集素(HA)多肽来生产。或者,亲本流感病毒包含被工程化以在对感染敏感、反式提供血细胞凝集素功能的细胞中表达嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的基因组,所述亲本流感病毒的复制将产生含有所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的子代流感病毒。

[0175] 在另一个方面,本文提供的是流感病毒,其包含被工程化以表达嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的基因组。在具体的实施方式中,亲本流感病毒的基因组被工程化以编码嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽由子代流感病毒表达。在另一个具体的实施方式中,亲本流感病毒的基因组被工程化以编码嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽被表达并掺入子代流感病毒的病毒粒中。因而,由亲本流感病毒的复制产生的子代流感病毒含有嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。所述亲本流感病毒的病毒粒可以已经在它们中掺入了嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽含有来自乙型流感病毒的相同或不同谱系或毒株的茎杆和/或头部结构域。做为选择,所述亲本流感病毒的病毒粒可以已经在它们中掺入了能够功能上置换流感病毒血细胞凝集素多肽的一种或更多种活性(例如,流感病毒血细胞凝集素的受体结合和/或膜融合活性)的部分。在具体的实施方式中,所述亲本流感病毒是甲型流感病毒。在具体的实施方式中,所述亲本流感病毒是乙型流感病毒。

[0176] 在某些实施方式中,所述亲本流感病毒的病毒粒已经在它们中掺入了异源多肽。在某些实施方式中,所述亲本流感病毒的基因组被工程化以表达异源多肽和嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,所述异源多肽和嵌合血细胞凝集素(HA)多肽由子代流感病毒表达。在具体的实施方式中,所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽、异源多肽或这两者被掺入子代流感病毒的病毒粒中。

[0177] 由于甲型和乙型流感病毒的基因组由八(8)条单链的、负义片段组成(丙型流感病毒由七(7)条单链的负义片段组成),使用本领域技术人员已知的重组片段和技术,例如反向遗传学和无辅助质粒拯救,亲本流感病毒的基因组可以被工程化以表达嵌合血细胞凝集素(HA)多肽(和任何其他多肽,例如,异源多肽)。在一个实施方式中,所述重组片段包含编码所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的核酸以及vRNA的正确复制、转录和包装所需的3'和5'掺入信号(Fujii et al.,2003,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 100:2002-2007;Zheng,et al.,1996,Virology 217:242-251,国际公开No.WO 2011/014645,所有这些通过引用以它们的整体合并在本文中)。在具体的实施方式中,所述重组片段使用来自与亲本流感病毒不同或相同谱系或毒株的、流感病毒的片段的3'和5'非编码和/或非翻译序列。在某些实施方式中,所述重组片段包含流感病毒血细胞凝集素多肽的3'非编码区,流感病毒血细胞凝集素多肽的非翻译区,以及流感病毒血细胞凝集素多肽的5'非编码区。在具体的实施方式中,所述重组片段包含流感病毒的HA片段的3'和5'非编码和/或非翻译序列,所述流感病毒与嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的HA1茎杆片段、球形头部结构域和/或HA2的流感病毒谱系或毒株是相同的谱系或毒株。在具体的实施方式中,所述重组片段包含来自与流感病毒主干相同型、谱系或毒株的流感病毒的HA片段的包装信号,例如,5'和3'非编码区和信号肽。例如,如果所述嵌合HA被工程化以从甲型流感病毒表达,则编码嵌合HA的核苷酸序列包含甲型流感病毒的5'和3'非编码区,以及编码HA片段的信号肽的核苷酸序列。在另一个实例中,如果所述嵌合HA被工程化以从乙型流感病毒表达,则编码嵌合HA的核苷酸序列包含乙型流感病毒的5'和3'非编码区,以及编码HA片段的信号肽的核苷酸序列。在某些实施方式中,编码嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的重组片段可以替换亲本流感病毒的HA片段。

[0178] 在某些实施方式中,嵌合的血细胞凝集素基因片段编码嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。在具体的实施方式中,所述嵌合血细胞凝集素(HA)基因片段以及至少一个其他流感病毒基因片段包括包装信号,其允许所述嵌合血细胞凝集素(HA)基因片段和所述至少一个其他基因片段在重组流感病毒的复制期间一起分离(参见,Gao&Palese 2009,PNAS 106:15891-15896;和国际申请公开No.WO11/014645)。

[0179] 在某些实施方式中,亲本流感病毒的基因组可以被工程化以利用作为双顺反子的重组片段表达嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。双顺反子技术容许通过使用内部核糖体进入位点(IRES)序列将多个蛋白质的编码序列工程化到单个mRNA中。IRES序列指导核糖体向RNA分子的内部征募,并容许以帽无关的方式进行下游翻译。简要地说,一种蛋白质的编码区被插入到第二蛋白质的开放阅读框(ORF)中。所述插入物的侧翼是IRES和为适当的表达和/或功能所必需的任何非翻译信号序列。所述插入物必需不破坏所述第二蛋白质的ORF、多聚腺苷酸或转录启动子(参见,例如,Garcia-Sastre et al,1994,J.Virol.68:6254-6261和Garcia-Sastre et al,1994Dev.Biol.Stand.82:237-246,它们每一个通过以其整体引用合并在本文中)。也参见,例如,美国专利No.6,887,699、美国专利No.6,001,634、美国专利No.5,854,037和美国专利No.5,820,871,它们每一个通过以其整体引用合并在本文中)。本领域已知的或本文描述的任何IRES可以根据本发明使用(例如,BiP基因的IRES,GenBank数据库条目HUMGRP78的核苷酸372到592;或脑心肌炎病毒(EMCV)的IRES,GenBank数据库条目CQ867238的核苷酸1430-2115)。因而,在某些实施方式中,亲本流感病毒被工程化以含有双顺反子RNA片段,所述双顺反子RNA片段表达嵌合血细胞凝集素(HA)多肽和另一个多肽,例

如,由亲本流感病毒表达的基因。在某些实施方式中,所述亲本流感病毒基因是HA基因。

[0180] 可以使用本领域技术人员已知的技术来产生含有嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的流感病毒,和包含被工程化以表达嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的基因组的流感病毒。例如,反向遗传技术可以用于产生这样的流感病毒。简要地说,反向遗传学技术一般涉及制备合成的重组病毒RNA,其含有负链病毒RNA的非编码区,所述非编码区对于病毒聚合酶的识别以及对于产生成熟病毒所必需的包装信号是必不可少的。重组RNA从重组DNA模板中合成,并使用纯化的病毒聚合酶复合物在体外重构,以形成可用于转染细胞的重组核糖核蛋白(RNP)。如果在体外或体内的所述合成RNA的转录期间存在病毒聚合酶蛋白,实现更高效的转染。合成的重组RNP可以被拯救成为传染性的病毒颗粒。上述技术描述于1992年11月24日授权的美国专利No.5,166,057;1998年12月29日授权的美国专利No.5,854,037;1996年2月20日公开的欧洲专利公开EP0702085A1;美国专利申请系列号No.09/152,845;1997年4月3日公开的国际专利公开PCT W097/12032;1996年11月7日公开的W096/34625;欧洲专利公开EP A780475;1999年1月21日公开的W099/02657;1998年11月26日公开的W098/53078;1998年1月22日公开的W098/02530;1999年4月1日公开的W099/15672;1998年4月2日公开的W098/13501;1997年2月20日公开的W097/06270;和1997年6月25日公开的EP0780475A1,它们的每一个以其整体通过引用合并在本文中。

[0181] 或者,无辅助质粒技术可以用于生产含有嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的流感病毒以及包含被工程化以表达嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的基因组的流感病毒。简要地说,病毒片段的全长cDNA使用包括独特限制位点的引物用PCR扩增,所述限制位点容许PCR产物向所述质粒载体中插入(Flandorfer et al,2003,J.Virol.77:9116-9123;Nakaya et al.,2001,J.Virol.75:11868-11873;这两者通过以它们整体引用合并在本文中)。设计质粒载体以便表达精确的负(vRNA有义)转录产物。例如,可以设计质粒载体以将PCR产物定位在截短的人RNA聚合酶I启动子和丁型肝炎病毒核酶序列之间,从而从聚合酶I启动子产生精确的负(vRNA有义)转录产物。可以将包含每个病毒片段的单独质粒载体以及包含必需病毒蛋白的表达载体转染到细胞中,从而产生重组病毒颗粒。在另一个实例中,可以使用质粒载体,从所述质粒载体表达病毒基因组RNA和编码必需病毒蛋白质的mRNA。无辅助质粒技术的详细说明参见,例如,国际公开No.W001/04333;美国专利No.6,951,754、7,384,774、6,649,372和7,312,064;Fodor et al,1999,J.Virol.73:9679-9682;Quinlivan et al,2005,J.Virol.79:8431-8439;Hoffmann et al,2000,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 97:6108-6113;和Neumann et al.,1999,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 96:9345-9350,通过引用以它们整体合并在本文中。

[0182] 本文描述的流感病毒可以在允许病毒生长至允许根据本文所述方法使用的滴度的任何基底中增殖。因而,在某些实施方式中,本文提供的是生产本文描述的病毒的方法,包括在基底中增殖所述病毒。在一个实施方式中,所述基底容许所述病毒生长到与相应的野生型病毒测定的那些可比较的滴度。在某些实施方式中,所述基底是生物学上与所述流感病毒相关的基底,或与衍生所述HA功能的病毒相关的基底。在具体的实施方式中,借助例如NS1基因中的突变减毒的流感病毒可以在IFN缺陷的基底中增殖。例如,适合的IFN缺陷的基底可以是在它产生或响应干扰素的能力方面有缺陷的基底,或是用于需要干扰素缺陷生长环境的许多病毒生长的IFN缺陷基底。参见,例如,2003年6月3日授权的美国专利No.6,

573,079,2005年2月8日授权的6,852,522,2009年2月24日授权的7,494,808,它们每一篇的全部内容通过引用以它们的整体合并在本文中。在具体的实施方式中,所述病毒在有胚蛋(例如,鸡蛋)中增殖。在具体的实施方式中,所述病毒在8天龄、9天龄、8-10天龄、10天龄、11天龄、10-12天龄或12天龄的有胚蛋(例如,鸡蛋)中增殖。在某些实施方式中,所述病毒在对流感病毒感染敏感的细胞系中增殖。在某些实施方式中,所述病毒在MDCK细胞、Vero细胞、293T细胞或本领域已知的其他细胞系中增殖。在某些实施方式中,所述病毒在衍生自有胚蛋的细胞中增殖。

[0183] 本文描述的流感病毒可以通过本领域技术人员已知的任何方法分离和纯化。在一个实施方式中,一般通过公知的澄清操作,将所述病毒从细胞培养物中移出并从细胞成分中分离,例如,梯度离心和柱层析,并且可以按需要使用本领域技术人员公知的操作例如蚀斑分析进行进一步纯化。

[0184] 在某些实施方式中,按本文描述使用的流感病毒、或流感病毒多肽、基因或基因组片段获自或衍生自甲型流感病毒。在某些实施方式中,按本文描述使用的流感病毒、或流感病毒多肽、基因或基因组片段获自或衍生自单一的甲型流感病毒亚型或毒株。在其他实施方式中,按本文描述使用的流感病毒、或流感病毒多肽、基因或基因组片段获自或衍生自两种或更多种甲型流感病毒亚型或毒株。在具体的实施方式中,所述甲型流感病毒是H1、H2、H3、H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17或H18亚型的流感病毒。在具体的实施方式中,所述甲型流感病毒是H2、H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17或H18亚型的流感病毒。在具体的实施方式中,所述甲型流感病毒是H5、H8、H11、H12或H13亚型的流感病毒。在具体的实施方式中,所述甲型流感病毒是H5亚型的流感病毒。在具体的实施方式中,所述甲型流感病毒是H8亚型的流感病毒。在具体的实施方式中,所述甲型流感病毒是H11亚型的流感病毒。在具体的实施方式中,所述甲型流感病毒是H12亚型的流感病毒。在具体的实施方式中,所述甲型流感病毒是H13亚型的流感病毒。在具体的实施方式中,所述甲型流感病毒是禽流感病毒。

[0185] 在某些实施方式中,按本文描述使用的流感病毒、或流感病毒多肽、基因或基因组片段获自或衍生自乙型流感病毒。在某些实施方式中,按本文描述使用的流感病毒、或流感病毒多肽、基因或基因组片段获自或衍生自单一的乙型流感病毒谱系或毒株。在其他实施方式中,按本文描述使用的流感病毒、或流感病毒多肽、基因或基因组片段获自或衍生自两种或更多种乙型流感病毒谱系或毒株。在其他实施方式中,按本文描述使用的流感病毒、或流感病毒多肽、基因或基因组片段获自或衍生自甲型流感和乙型流感病毒亚型、谱系或毒株的组合。

[0186] 在某些实施方式中,按本文描述使用的流感病毒、或流感病毒多肽、基因或基因组片段获自或衍生自丙型流感病毒。在某些实施方式中,按本文描述使用的流感病毒、或流感病毒多肽、基因或基因组片段获自或衍生自单一的丙型流感病毒亚型或毒株。在其他实施方式中,按本文描述使用的流感病毒、或流感病毒多肽、基因或基因组片段获自或衍生自两种或更多种丙型流感病毒亚型或毒株。在其他实施方式中,按本文描述使用的流感病毒、或流感病毒多肽、基因或基因组片段获自或衍生自丙型流感病毒和甲型流感病毒和/或乙型流感病毒亚型或毒株的组合。

[0187] 甲型流感病毒的非限制性实例包括,H10N4亚型、H10N5亚型、H10N7亚型、H10N8亚

型、H10N9亚型、H11N1亚型、H11N13亚型、H11N2亚型、H11N4亚型、H11N6亚型、H11N8亚型、H11N9亚型、H12N1亚型、H12N4亚型、H12N5亚型、H12N8亚型、H13N2亚型、H13N3亚型、H13N6亚型、H13N7亚型、H14N5亚型、H14N6亚型、H15N8亚型、H15N9亚型、H16N3亚型、H1N1亚型、H1N2亚型、H1N3亚型、H1N6亚型、H1N9亚型、H2N1亚型、H2N2亚型、H2N3亚型、H2N5亚型、H2N7亚型、H2N8亚型、H2N9亚型、H3N1亚型、H3N2亚型、H3N3亚型、H3N4亚型、H3N5亚型、H3N6亚型、H3N8亚型、H3N9亚型、H4N1亚型、H4N2亚型、H4N3亚型、H4N4亚型、H4N5亚型、H4N6亚型、H4N8亚型、H4N9亚型、H5N1亚型、H5N2亚型、H5N3亚型、H5N4亚型、H5N6亚型、H5N7亚型、H5N8亚型、H5N9亚型、H6N1亚型、H6N2亚型、H6N3亚型、H6N4亚型、H6N5亚型、H6N6亚型、H6N7亚型、H6N8亚型、H6N9亚型、H7N1亚型、H7N2亚型、H7N3亚型、H7N4亚型、H7N5亚型、H7N7亚型、H7N8亚型、H7N9亚型、H8N4亚型、H8N5亚型、H9N1亚型、H9N2亚型、H9N3亚型、H9N5亚型、H9N6亚型、H9N7亚型、H9N8、和H9N9亚型。

[0188] 甲型流感病毒的毒株的具体实例包括但不限于:A/Victoria/361/2011 (H3N2) ; A/California/4/2009 (H1N1) ; A/California/7/2009 (H1N1) ; A/Perth/16/2009 (H3N2) ; A/Brisbane/59/2007 (H1N1) ; A/Brisbane/10/2007 (H3N2) ; A/sw/Iowa/15/30 (H1N1) ; A/WSN/33 (H1N1) ; A/eq/Prague/1/56 (H7N7) ; A/PR/8/34; A/mallard/Potsdam/178-4/83 (H2N2) ; A/herring gull/DE/712/88 (H16N3) ; A/sw/Hong Kong/168/1993 (H1N1) ; A/mallard/Alberta/211/98 (H1N1) ; A/shorebird/Delaware/168/06 (H16N3) ; A/sw/Netherlands/25/80 (H1N1) ; A/sw/Germany/2/81 (H1N1) ; A/sw/Hannover/1/81 (H1N1) ; A/sw/Potsdam/1/81 (H1N1) ; A/sw/Potsdam/15/81 (H1N1) ; A/sw/Potsdam/268/81 (H1N1) ; A/sw/Finistere/2899/82 (H1N1) ; A/sw/Potsdam/35/82 (H3N2) ; A/sw/Cote d'Armor/3633/84 (H3N2) ; A/sw/Gent/1/84 (H3N2) ; A/sw/Netherlands/12/85 (H1N1) ; A/sw/Karrenzien/2/87 (H3N2) ; A/sw/Schwerin/103/89 (H1N1) ; A/turkey/Germany/3/91 (H1N1) ; A/sw/Germany/8533/91 (H1N1) ; A/sw/Belgium/220/92 (H3N2) ; A/sw/Gent/V230/92 (H1N1) ; A/sw/Leipzig/145/92 (H3N2) ; A/sw/Re220/92hp (H3N2) ; A/sw/Bakum/909/93 (H3N2) ; A/sw/Schleswig-Holstein/1/93 (H1N1) ; A/sw/Scotland/419440/94 (H1N2) ; A/sw/Bakum/5/95 (H1N1) ; A/sw/Best/5C/96 (H1N1) ; A/sw/England/17394/96 (H1N2) ; A/sw/Jena/5/96 (H3N2) ; A/sw/Oedenrode/7C/96 (H3N2) ; A/sw/Lohne/1/97 (H3N2) ; A/sw/Cote d'Armor/790/97 (H1N2) ; A/sw/Bakum/1362/98 (H3N2) ; A/sw/Italy/1521/98 (H1N2) ; A/sw/Italy/1553-2/98 (H3N2) ; A/sw/Italy/1566/98 (H1N1) ; A/sw/Italy/1589/98 (H1N1) ; A/sw/Bakum/8602/99 (H3N2) ; A/sw/Cotes d'Armor/604/99 (H1N2) ; A/sw/Cote d'Armor/1482/99 (H1N1) ; A/sw/Gent/7625/99 (H1N2) ; A/Hong Kong/1774/99 (H3N2) ; A/sw/Hong Kong/5190/99 (H3N2) ; A/sw/Hong Kong/5200/99 (H3N2) ; A/sw/Hong Kong/5212/99 (H3N2) ; A/sw/Ille et Villaine/1455/99 (H1N1) ; A/sw/Italy/1654-1/99 (H1N2) ; A/sw/Italy/2034/99 (H1N1) ; A/sw/Italy/2064/99 (H1N2) ; A/sw/Berlin/1578/00 (H3N2) ; A/sw/Bakum/1832/00 (H1N2) ; A/sw/Bakum/1833/00 (H1N2) ; A/sw/Cote d'Armor/800/00 (H1N2) ; A/sw/Hong Kong/7982/00 (H3N2) ; A/sw/Italy/1081/00 (H1N2) ; A/sw/Belzig/2/01 (H1N1) ; A/sw/Belzig/54/01 (H3N2) ; A/sw/Hong Kong/9296/01 (H3N2) ; A/sw/Hong Kong/9745/01 (H3N2) ; A/sw/Spain/33601/01 (H3N2) ; A/sw/Hong Kong/1144/02 (H3N2) ; A/sw/Hong Kong/1197/02 (H3N2) ; A/sw/Spain/39139/02 (H3N2) ; A/sw/Spain/42386/02 (H3N2) ; A/Switzerland/8808/2002 (H1N1) ; A/sw/Bakum/1769/03 (H3N2) ;

A/sw/Bissendorf/IDT1864/03 (H3N2) ;A/sw/Ehren/IDT2570/03 (H1N2) ;A/sw/Gescher/IDT2702/03 (H1N2) ;A/sw/Haselunne/2617/03hp (H1N1) ;A/sw/L6ningen/IDT2530/03 (H1N2) ;A/sw/IVD/IDT2674/03 (H1N2) ;A/sw/Nordkirchen/IDT 1993/03 (H3N2) ;A/sw/Nordwalde/IDT2197/03 (H1N2) ;A/sw/Norden/IDT2308/03 (H1N2) ;A/sw/Spain/50047/03 (H1N1) ;A/sw/Spain/51915/03 (H1N1) ;A/sw/Vechta/2623/03 (H1N1) ;A/sw/Visbek/IDT2869/03 (H1N2) ;A/sw/Waltersdorf/IDT2527/03 (H1N2) ;A/sw/Damme/IDT2890/04 (H3N2) ;A/sw/Geldern/IDT2888/04 (H1N1) ;A/sw/Granstedt/IDT3475/04 (H1N2) ;A/sw/Greven/IDT2889/04 (H1N1) ;A/sw/Gudensberg/IDT2930/04 (H1N2) ;A/sw/Gudensberg/IDT2931/04 (H1N2) ;A/sw/Lohne/IDT3357/04 (H3N2) ;A/sw/Nortrup/IDT3685/04 (H1N2) ;A/sw/Seesen/IDT3055/04 (H3N2) ;A/sw/Spain/53207/04 (H1N1) ;A/sw/Spain/54008/04 (H3N2) ;A/sw/Stolzenau/IDT3296/04 (H1N2) ;A/sw/Wedel/IDT2965/04 (H1N1) ;A/sw/Bad Griesbach/IDT4191/05 (H3N2) ;A/sw/Cloppenburg/IDT4777/05 (H1N2) ;A/sw/D6tlingen/IDT3780/05 (H1N2) ;A/sw/D6tlingen/IDT4735/05 (H1N2) ;A/sw/Egglham/IDT5250/05 (H3N2) ;A/sw/Harkenblek/IDT4097/05 (H3N2) ;A/sw/Hertzen/IDT4317/05 (H3N2) ;A/sw/Krogel/IDT4192/05 (H1N1) ;A/sw/Laer/IDT3 893/05 (H1N1) ;A/sw/Laer/IDT4126/05 (H3N2) ;A/sw/Merzen/IDT4114/05 (H3N2) ;A/sw/Muesleringen-S./IDT4263/05 (H3N2) ;A/sw/Osterhofen/IDT4004/05 (H3N2) ;A/sw/Sprengel/IDT3805/05 (H1N2) ;A/sw/Stadtlahn/IDT3853/05 (H1N2) ;A/sw/Voglarn/IDT4096/05 (H1N1) ;A/sw/Wohlerst/IDT4093/05 (H1N1) ;A/sw/Bad Griesbach/IDT5604/06 (H1N1) ;A/sw/Herzlake/IDT5335/06 (H3N2) ;A/sw/Herzlake/IDT5336/06 (H3N2) ;A/sw/Herzlake/IDT5337/06 (H3N2) ;以及A/wild boar/Germany/R169/2006 (H3N2) 。

[0189] 甲型流感病毒的毒株的其他具体实例包括但不限于:A/Toronto/3141/2009 (H1N1) ;A/Regensburg/D6/2009 (H1N1) ;A/Bayern/62/2009 (H1N1) ;A/Bayern/62/2009 (H1N1) ;A/Bradenburg/19/2009 (H1N1) ;A/Bradenburg/20/2009 (H1N1) ;A/Distrito Federal/2611/2009 (H1N1) ;A/Mato Grosso/2329/2009 (H1N1) ;A/Sao Paulo/1454/2009 (H1N1) ;A/Sao Paulo/2233/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/37/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/41/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/45/2009 (H1N1) ;A/swine/Alberta/OTH-33-1/2009 (H1N1) ;A/swine/Alberta/OTH-33-14/2009 (H1N1) ;A/swine/Alberta/OTH-33-2/2009 (H1N1) ;A/swine/Alberta/OTH-33-21/2009 (H1N1) ;A/swine/Alberta/OTH-33-22/2009 (H1N1) ;A/swine/Alberta/OTH-33-23/2009 (H1N1) ;A/swine/Alberta/OTH-33-24/2009 (H1N1) ;A/swine/Alberta/OTH-33-25/2009 (H1N1) ;A/swine/Alberta/OTH-33-3/2009 (H1N1) ;A/swine/Alberta/OTH-33-7/2009 (H1N1) ;A/Beijing/502/2009 (H1N1) ;A/Firenze/10/2009 (H1N1) ;A/Hong Kong/2369/2009 (H1N1) ;A/Italy/85/2009 (H1N1) ;A/Santo Domingo/572N/2009 (H1N1) ;A/Catalonia/385/2009 (H1N1) ;A/Catalonia/386/2009 (H1N1) ;A/Catalonia/3 87/2009 (H1N1) ;A/Catalonia/390/2009 (H1N1) ;A/Catalonia/394/2009 (H1N1) ;A/Catalonia/397/2009 (H1N1) ;A/Catalonia/398/2009 (H1N1) ;A/Catalonia/399/2009 (H1N1) ;A/Sao Paulo/2303/2009 (H1N1) ;A/Akita/1/2009 (H1N1) ;A/Castro/JXP/2009 (H1N1) ;A/Fukushima/1/2009 (H1N1) ;A/Israel/276/2009 (H1N1) ;A/Israel/277/2009 (H1N1) ;A/Israel/70/2009 (H1N1) ;A/Iwate/1/2009 (H1N1) ;A/Iwate/2/2009 (H1N1) ;A/

Kagoshima/1/2009 (H1N1) ;A/Osaka/180/2009 (H1N1) ;A/Puerto Montt/Bio87/2009 (H1N1) ;A/Sao Paulo/2303/2009 (H1N1) ;A/Sapporo/1/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/30/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/31/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/32/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/33/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/34/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/35/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/36/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/38/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/39/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/40/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/42/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/43/2009 (H1N1) ;A/Stockholm/44/2009 (H1N1) ;A/Utsunomiya/2/2009 (H1N1) ;A/WRAIR/0573N/2009 (H1N1) 和A/Zhejiang/DTID-ZJU01/2009 (H1N1) 。

[0190] 乙型流感病毒的非限制性实例包括毒株Aichi/5/88、毒株B/Brisbane/60/2008; Akita/27/2001、毒株Akita/5/2001、毒株Alaska/16/2000、毒株Alaska/1777/2005、毒株Argentina/69/2001、毒株Arizona/146/2005、毒株Arizona/148/2005、毒株Bangkok/163/90、毒株Bangkok/34/99、毒株Bangkok/460/03、毒株Bangkok/54/99、毒株Barcelona/215/03、毒株Beijing/15/84、毒株Beijing/184/93、毒株Beijing/243/97、毒株Beijing/43/75、毒株Beijing/5/76、毒株Beijing/76/98、毒株Belgium/WV106/2002、毒株Belgium/WV107/2002、毒株Belgium/WV109/2002、毒株Belgium/WV114/2002、毒株Belgium/WV122/2002、毒株Bonn/43、毒株Brazil/952/2001、毒株Bucharest/795/03、毒株Buenos Aires/161/00)、毒株Buenos Aires/9/95、毒株Buenos Aires/SW 16/97、毒株Buenos Aires/VL518/99、毒株Canada/464/2001、毒株Canada/464/2002、毒株Chaco/366/00、毒株Chaco/R113/00、毒株Cheju/303/03、毒株Chiba/447/98、毒株Chongqing/3/2000、毒株临床分离物SA1Thailand/2002、毒株临床分离物SA10Thailand/2002、毒株临床分离物SA100Philippines/2002、毒株临床分离物SA101Philippines/2002、毒株临床分离物SA110Philippines/2002)、毒株临床分离物SA112Philippines/2002、毒株临床分离物SA113Philippines/2002、毒株临床分离物SA114Philippines/2002、毒株临床分离物SA2Thailand/2002、毒株临床分离物SA20Thailand/2002、毒株临床分离物SA38Philippines/2002、毒株临床分离物SA39Thailand/2002、毒株临床分离物SA99Philippines/2002、毒株CNIC/27/2001、毒株Colorado/2597/2004、毒株Cordoba/VA418/99、毒株Czechoslovakia/16/89、毒株Czechoslovakia/69/90、毒株Daegu/10/97、毒株Daegu/45/97、毒株Daegu/47/97、毒株Daegu/9/97、毒株B/Du/4/78、毒株B/Durban/39/98、毒株Durban/43/98、毒株Durban/44/98、毒株B/Durban/52/98、毒株Durban/55/98、毒株Durban/56/98、毒株England/1716/2005、毒株England/2054/2005)、毒株England/23/04、毒株Finland/154/2002、毒株Finland/159/2002、毒株Finland/160/2002、毒株Finland/161/2002、毒株Finland/162/03、毒株Finland/162/2002、毒株Finland/162/91、毒株Finland/164/2003、毒株Finland/172/91、毒株Finland/173/2003、毒株Finland/176/2003、毒株Finland/184/91、毒株Finland/188/2003、毒株Finland/190/2003、毒株Finland/220/2003、毒株Finland/WV5/2002、毒株Fujian/36/82、毒株Geneva/5079/03、毒株Genoa/11/02、毒株Genoa/2/02、毒株Genoa/21/02、毒株Genova/54/02、毒株Genova/55/02、毒株Guangdong/05/94、毒株Guangdong/08/93、毒株Guangdong/5/94、毒株Guangdong/55/89、毒株Guangdong/8/93、毒株Guangzhou/7/97、毒株Guangzhou/86/92、毒株Guangzhou/87/92、毒株Gyeonggi/592/2005、毒株Hannover/2/90、毒株Harbin/07/94、毒株

Hawaii/10/2001、毒株Hawaii/1990/2004、毒株Hawaii/38/2001、毒株Hawaii/9/2001、毒株Hebei/19/94、毒株Hebei/3/94)、毒株Henan/22/97、毒株Hiroshima/23/2001、毒株Hong Kong/110/99、毒株Hong Kong/1115/2002、毒株HongKong/112/2001、毒株Hong Kong/123/2001、毒株Hong Kong/1351/2002、毒株Hong Kong/1434/2002、毒株Hong Kong/147/99、毒株Hong Kong/156/99、毒株Hong Kong/157/99、毒株Hong Kong/22/2001、毒株Hong Kong/22/89、毒株Hong Kong/336/2001、毒株Hong Kong/666/2001、毒株Hong Kong/9/89、毒株Houston/1/91、毒株Houston/1/96、毒株Houston/2/96、毒株Hunan/4/72、毒株Ibaraki/2/85、毒株ncheon/297/2005、毒株India/3/89、毒株India/77276/2001、毒株Israel/95/03、毒株Israel/WV187/2002、毒株Japan/1224/2005、毒株Jiangsu/10/03、毒株Johannesburg/1/99、毒株Johannesburg/96/01、毒株Kadoma/1076/99、毒株Kadoma/122/99、毒株Kagoshima/15/94、毒株Kansas/22992/99、毒株Khazkov/224/91、毒株Kobe/1/2002, strain、毒株Kouchi/193/99、毒株Lazio/1/02、毒株Lee/40、毒株Leningrad/129/91、毒株Lissabon/2/90)、毒株Los Angeles/1/02、毒株Lusaka/270/99、毒株Lyon/1271/96、毒株Malaysia/83077/2001、毒株Maputo/1/99、毒株Mar del Plata/595/99、毒株Maryland/1/01、毒株Memphis/1/01、毒株Memphis/12/97-MA、毒株Michigan/22572/99、毒株Mie/1/93、毒株Milano/1/01、毒株Minsk/318/90、毒株Moscow/3/03、毒株Nagoya/20/99、毒株Nanchang/1/00、毒株Nashville/107/93、毒株Nashville/45/91、毒株Nebraska/2/01、毒株Netherland/801/90、毒株Netherlands/429/98、毒株New York/1/2002、毒株NIB/48/90、毒株Ningxia/45/83、毒株Norway/1/84、毒株Oman/16299/2001、毒株Osaka/1059/97、毒株Osaka/983/97-V2、毒株Oslo/1329/2002、毒株Oslo/1846/2002、毒株Panama/45/90、毒株Paris/329/90、毒株Parma/23/02、毒株Perth/211/2001、毒株Peru/1364/2004、毒株Philippines/5072/2001、毒株Pusan/270/99、毒株Quebec/173/98、毒株Quebec/465/98、毒株Quebec/7/01、毒株Roma/1/03、毒株Saga/S172/99、毒株Seoul/13/95、毒株Seoul/37/91、毒株Shangdong/7/97、毒株Shanghai/361/2002)、毒株Shiga/T30/98、毒株Sichuan/379/99、毒株Singapore/222/79、毒株Spain/WV27/2002、毒株Stockholm/10/90、毒株Switzerland/5441/90、毒株Taiwan/0409/00、毒株Taiwan/0722/02、毒株Taiwan/97271/2001、毒株Tehran/80/02、毒株Tokyo/6/98、毒株Trieste/28/02、毒株Ulan Ude/4/02、毒株United Kingdom/34304/99、毒株USSR/100/83、毒株Victoria/103/89、毒株Vienna/1/99、毒株Wuhan/356/2000、毒株WV194/2002、毒株Xuanwu/23/82、毒株Yamagata/1311/2003、毒株Yamagata/K500/2001、毒株Alaska/12/96、毒株GA/86、毒株NAGASAKI/1/87、毒株Tokyo/942/96、毒株B/Wisconsin/1/2010;和毒株Rochester/02/2001。在具体的实施方式中,所述乙型流感病毒是B/Malaysia/2506/04。

[0191] 丙型流感病毒的非限制性实例包括毒株Aichi/1/81、毒株Ann Arbor/1/50、毒株Aomori/74、毒株California/78、毒株England/83、毒株Greece/79、毒株Hiroshima/246/2000、毒株Hiroshima/252/2000、毒株Hyogo/1/83、毒株Johannesburg/66、毒株Kanagawa/1/76、毒株Kyoto/1/79、毒株Mississippi/80、毒株Miyagi/1/97、毒株Miyagi/5/2000、毒株Miyagi/9/96、毒株Nara/2/85、毒株New Jersey/76、毒株pig/Beijing/115/81、毒株Saitama/3/2000)、毒株Shizuoka/79、毒株Yamagata/2/98、毒株Yamagata/6/2000、毒株Yamagata/9/96、毒株BERLIN/1/85、毒株ENGLAND/892/8、毒株GREAT LAKES/1167/54、毒株

JJ/50、毒株PIG/BEIJING/10/81、毒株PIG/BEIJING/439/82)、毒株TAYLOR/1233/47、和毒株C/YAMAGATA/10/81。

[0192] 在某些实施方式中,本文提供的流感病毒具有减毒的表型。在具体的实施方式中,所述减毒的流感病毒基于甲型流感病毒。在其他实施方式中,所述减毒的流感病毒基于乙型流感病毒。在其他的实施方式中,所述减毒的流感病毒基于丙型流感病毒。在其他实施方式中,所述减毒的流感病毒可以包含来自甲型流感病毒、乙型流感病毒和/或丙型流感病毒的一个或更多个毒株或亚型的基因或基因组片段。在某些实施方式中,所述减毒的主干病毒包含来自甲型流感病毒和乙型流感病毒的基因。在具体的实施方式中,所述减毒流感病毒包含、编码、或包含且编码嵌合HA,并且具有甲型流感病毒的主干。在具体的实施方式中,所述减毒流感病毒包含、编码、或包含且编码嵌合HA,并且具有乙型流感病毒的主干。

[0193] 在具体的实施方式中,流感病毒的减毒是期望的,从而所述病毒至少部分地保留传染性,并且可以在体内复制,但是仅产生低的滴度,产生非致病的亚临床水平的感染。这样的减毒病毒特别适合于本文描述的实施方式,其中病毒或其免疫原性组合物被施用给对象以诱导免疫应答。流感病毒的减毒可以根据本领域已知的任何方法实现,例如,选择通过化学物诱变作用产生的病毒突变体,通过遗传工程突变基因组,选择含有具备减毒功能的片段的重配体病毒(例如,截短的NS1蛋白(参见,例如,Hai et al,2008,Journal of Virology 82(21):10580-10590,通过引用以其整体合并在本文中)或NS1删除(参见,例如,Wressnigg et al,2009,Vaccine 27:2851-2857,通过引用将其全部合并在本文中)),或选择条件性病毒突变体(例如,冷适应的病毒,参见,例如,Alexandrova et al.,1990,Vaccine,8:61-64,通过引用将其全部合并在本文中)。或者,天然存在的减毒流感病毒可以用作流感病毒载体的流感病毒主干。

[0194] 在某些实施方式中,包含本文描述的嵌合HA的流感病毒具有包含野生型流感病毒HA的流感病毒的一个、两个或更多个功能。野生型流感病毒HA的功能的非限制性实例包括融合活性、受体结合活性、出芽和颗粒形成。在具体的实施方式中,包含本文描述的嵌合流感HA多肽的流感病毒具有膜融合活性。可以利用本领域技术人员已知的分析来评估包含本文描述的嵌合流感HA多肽的流感病毒的膜融合活性,例如,免疫荧光分析和假型病毒样颗粒分析。在具体的实施方式中,包含本文描述的嵌合流感HA多肽流感病毒具有复制活性。可以利用本领域技术人员已知的分析来评估包含本文描述的嵌合流感HA多肽的流感病毒的复制活性,例如,蚀斑分析和Western印迹分析。

[0195] 5.5病毒样颗粒和病毒粒

[0196] 本文描述的嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽可以掺入病毒样颗粒(VLP)载体中,例如,纯化的/分离的VLP。VLP一般包括病毒多肽,所述病毒多肽一般衍生自病毒的结构蛋白质。在某些实施方式中,所述VLP不能复制。在某些实施方式中,所述VLP缺乏病毒的完整基因组,或包含病毒的基因组的一部分。在某些实施方式中,所述VLP不能感染细胞。在某些实施方式中,所述VLP在它们的表面表达本领域技术人员已知的或本文描述、一种或更多种病毒的(例如,病毒表面糖蛋白)或非病毒的(例如,抗体或蛋白质)靶向部分。在某些实施方式中,所述VLP包含嵌合血细胞凝集素(HA)多肽以及病毒结构蛋白质,例如HIV gag。在具体的实施方式中,所述VLP包含嵌合血细胞凝集素(HA)多肽和HIV gag多肽。在另一个具体的实施方式中,所述VLP包含嵌合血细胞凝集素(HA)多肽和流感病毒神经氨酸酶多肽。在另一

个具体的实施方式中,所述VLP包含嵌合血细胞凝集素(HA)多肽、流感病毒神经氨酸酶多肽和流感病毒M1多肽。

[0197] 已经基于几种病毒描述了生产和表征重组产生的VLP的方法,包括流感病毒(Bright et al. (2007) Vaccine.25:3871),1型人乳头状瘤病毒(Hagnese et al. (1991) J.Virol.67:315),16型人乳头状瘤病毒(Kirnbauer et al.Proc.Natl.Acad.Sci. (1992) 89:12180),HIV-1(Haffer et al, (1990) J.Virol.64:2653),和甲型肝炎(Winokur (1991) 65:5029),它们的每一个以其整体合并并在本文中。表达含有NDV蛋白的VLP的方法由Pantua et al. (2006) J.Virol.80:11062-11073和2009年3月12日公开的美国专利申请公开No.20090068221提供,它们的每一个以其整体合并并在本文中。在具体的实施方式中,包含本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的VLP使用杆状病毒产生,如下文的实施例章节中描述的。在其他实施方式中,包含本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的VLP使用293T细胞产生。

[0198] 在具体的实施方式中,VLP,例如包含嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的VLP在细胞(例如,哺乳动物细胞(例如,293T细胞)和昆虫细胞(例如,High Five细胞和Sf9细胞)中表达。在某些实施方式中,所述VLP在表达包含唾液酸的表面糖蛋白的细胞中表达。在某些实施方式中,VLP,例如包含嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的VLP在不表达包含唾液酸的表面糖蛋白的细胞中表达。

[0199] 在具体的实施方式中,嵌合血细胞凝集素(HA)多肽可以掺入病毒粒中。含有嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的病毒粒可以使用本领域技术人员已知的技术产生。例如,通过破坏纯化的病毒、提取基因组、用病毒蛋白质(例如,嵌合血细胞凝集素(HA)多肽)和脂质重新装配颗粒以形成含有病毒蛋白质的脂质颗粒,可以产生病毒粒。

[0200] 本文还提供的产生和表征包含本文描述的嵌合HA的重组产生的VLP的方法。已经基于几种病毒描述了生产和表征重组产生的VLP的方法,包括流感病毒(Bright et al. (2007) Vaccine.25:3871),1型人乳头状瘤病毒(Hagnese et al. (1991) J.Virol.67:315),16型人乳头状瘤病毒(Kirnbauer et al.Proc.Natl.Acad.Sci. (1992) 89:12180),HIV-1(Haffer et al., (1990) J.Virol.64:2653),和甲型肝炎(Winokur (1991) 65:5029),它们的每一个以其整体合并并在本文中。表达含有NDV蛋白的VLP的方法由Pantua et al. (2006) J.Virol.80:11062-11073和2009年3月12日公开的美国专利申请公开No.20090068221提供,它们的每一个以其整体合并并在本文中。在具体的实施方式中,包含本文描述的嵌合HA多肽的VLP使用杆状病毒产生。在其他实施方式中,包含本文描述的嵌合HA多肽的VLP使用293T细胞产生。

[0201] 在具体的实施方式中,VLP,例如包含嵌合HA多肽的VLP在细胞(例如,293T细胞)中表达。在某些实施方式中,所述VLP在表达包含唾液酸的表面糖蛋白的细胞中表达。按照这样的实施方式,所述细胞在存在神经氨酸酶(例如,细菌神经氨酸酶的病毒)的情况下培养。在某些实施方式中,VLP,例如包含嵌合HA多肽的VLP在不表达包含唾液酸的表面糖蛋白的细胞中表达。

[0202] 在具体的实施方式中,嵌合HA多肽可以掺入病毒粒中。含有嵌合HA多肽的病毒粒可以使用本领域技术人员已知的技术产生。例如,通过破坏纯化的病毒、提取基因组、用病毒蛋白质(例如,嵌合HA多肽)和脂质重新装配颗粒以形成含有病毒蛋白质的脂质颗粒,可

以产生病毒粒。

[0203] 5.6 针对嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的抗体的产生

[0204] 本文描述的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽、编码这样的多肽的核酸、或包含这样的核酸或多肽的载体可以用于引发针对流感的抗体 (例如, 中和抗体), 例如, 针对流感病毒血细胞凝集素多肽的柄部区 (stalk region) (例如, 流感病毒血细胞凝集素多肽的柄部区中的亚优势的表位)。在具体的实施方式中, 本文描述的嵌合HA多肽、编码这样的多肽的核酸、或包含这样的核酸或多肽的载体可以用于引发针对所述嵌合HA的球形头部结构域中的保守表位的抗体。在具体的实施方式中, 本文描述的嵌合HA多肽、编码这样的多肽的核酸、或包含这样的核酸或多肽的载体可以用于引发针对所述嵌合HA的柄部结构域中的保守表位的抗体。在具体的实施方式中, 本文描述的嵌合HA多肽、编码这样的多肽的核酸、或包含这样的核酸或多肽的载体可以用于引发针对所述嵌合HA的球形头部结构域和柄部结构域中的保守表位的抗体。在具体的实施方式中, 本文描述的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽、编码这样的多肽的核酸、包含这样的核酸或多肽的载体, 或本文描述的免疫原性组合物可以向非人类对象 (例如, 小鼠、兔、大鼠、豚鼠, 等) 施用来诱导免疫应答, 包括产生可以使用本领域技术人员已知的技术 (例如, 免疫亲和层析、离心、沉淀, 等) 分离的抗体。

[0205] 在某些实施方式中, 施用本文描述的嵌合HA多肽、编码这样的多肽的核酸、或包含这样的核酸或多肽的载体、或本文描述的免疫原性组合物的非人类对象是能够产生人类抗体的转基因动物 (例如, 转基因小鼠)。也可以使用不能表达功能性内源免疫球蛋白、但可以表达人免疫球蛋白基因的转基因小鼠来产生人类抗体。例如, 人类重链和轻链免疫球蛋白基因复合体可以随机地或通过同源重组导入小鼠胚胎干细胞中。做为选择, 除了人类重链和轻链基因之外, 人类可变区、恒定区和多变区可以被导入小鼠胚胎干细胞。小鼠重链和轻链免疫球蛋白基因可以通过同源重组导入人免疫球蛋白基因座来单独地或同时地变得无功能。特别地, JH区域的纯合删除防止内源抗体产生。修饰的胚胎干细胞被扩增并微注射到胚泡中来产生嵌合的小鼠。然后培育嵌合小鼠来产生表达人类抗体的纯合后代。由转基因小鼠携带的人免疫球蛋白转基因在B细胞分化期间重排, 随后经历种类转变和体细胞突变。因而, 利用这种技术, 有可能产生治疗上有用的IgG、IgA、IgM和IgE抗体。对于生产人类抗体的这种技术的综述, 参见Lonberg和Huszar, *Int. Rev. Immunol.*, 13:65-93 (1995)。对于生产人类抗体和人类单克隆抗体的这种技术和生产这种抗体的方案的详细论述, 参见, 例如PCT公开W0 98/24893、W0 92/01047、W0 96/34096、W0 96/33735、欧洲专利No.0 598 877、美国专利No.5,413,923、5,625,126、5,633,425、5,569,825、5,661,016、5,545,806、5,814,318、5,885,793、5,916,771和5,939,598, 通过引用以它们的整体合并在本文中。此外, 可以雇佣例如Abgenix, Inc. (Freemont, Calif)、Genpharm (San Jose, Calif)、Regeneron (Tarryton, N.J.) 和Medarex, Inc. (Princeton, N.J.) 公司来提供针对选定抗原的人类抗体。

[0206] 做为选择, 本文描述的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽可以用于从抗体库筛选抗体。例如, 分离的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽可以固定在固相支持物 (例如, 硅胶、树脂、衍生化的塑料薄膜、玻璃珠、棉花、塑料珠子、聚苯乙烯珠子、氧化铝凝胶、或多糖、磁性珠子) 上, 并筛选对抗体的结合。作为可选择项, 抗体可以固定在固相支持物上, 筛选对所述分离的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的结合。本领域已知的任何筛选分析, 例如, 淘选分析、ELISA、表面等离子体共振、或其他抗体筛选分析可以用于筛选结合所述嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的

抗体。被筛选的抗体库可以是商业上可获得的抗体库、体外产生的库、或通过从感染流感的个体鉴定并克隆或分离抗体获得的库。在特定的实施方式中,所述抗体库产自流感病毒爆发的幸存者。可以根据本领域已知的方法产生抗体库。在特定的实施方式中,所述抗体库通过克隆抗体并在噬菌体展示文库或噬菌粒展示库中使用它们来产生。

[0207] 在本文描述的方法中鉴定的抗体可以使用本领域已知的或本文描述的生物测定来测试中和活性和自体反应性的缺乏。在一个实施方式中,分离自非人动物或抗体库的抗体中和来自特定谱系的超过一种流感毒株的血细胞凝集素多肽。在某些实施方式中,使用嵌合血细胞凝集素(HA)多肽、编码这样的多肽的核酸、或编码这样的核酸或多肽的载体引发或鉴定的抗体中和Victoria系的乙型流感病毒和/或Yamagata系的乙型流感病毒。在一个实施方式中,所述中和抗体中和一种或更多种甲型流感病毒以及一种或更多种乙型流感病毒。

[0208] 使用嵌合血细胞凝集素(HA)多肽、编码这样的多肽的核酸、或包含这样的核酸的载体或多肽鉴定或引发的抗体包括结合免疫球蛋白和结合免疫球蛋白的免疫活性部分,即,含有特异性结合血细胞凝集素多肽的抗原结合位点的分子。所述免疫球蛋白分子可以是免疫球蛋白分子的任何类型(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、种类(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)或子类。抗体包括但不限于单克隆抗体、多特异性抗体、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、单链Fv(scFv)、单链抗体、Fab片段、F(ab')片段、二硫化物连接的Fv(sdFv)和抗独特型(抗-Id)抗体(包括,例如,针对使用本文描述的方法引发或鉴定的抗体的抗-Id抗体),以及任何上述的表位结合片段。

[0209] 使用嵌合血细胞凝集素(HA)多肽、编码这样的多肽的核酸、或包含这样的核酸或多肽的载体引发或鉴定的抗体可以用于诊断性免疫分析、被动免疫治疗、和抗独特型抗体的产生。在用于被动免疫治疗之前,所述抗体可以被修饰,例如,所述抗体可以被嵌合化或人源化。对于产生嵌合和人源化抗体的综述,还参见,例如,美国专利No.4,444,887和4,716,111,以及国际公开WO 98/46645、WO 98/50433、WO 98/24893、WO 98/16654、WO 96/34096、WO 96/33735和WO 91/10741,它们的每一个通过引用以它们整体合并在本文中。此外,所述抗体中和血细胞凝集素多肽的能力,以及所述抗体对所述多肽的特异性可以在被动免疫治疗中使用所述抗体之前进行测试。

[0210] 使用嵌合血细胞凝集素(HA)多肽、编码这样的多肽的核酸、包含这样的核酸或多肽的载体引发或鉴定的抗体可以用于监视治疗的效力和/或疾病进展。不受任何特定理论的限制,使用嵌合血细胞凝集素(HA)多肽引发或鉴定的抗体的水平可能是针对流感病毒疾病的保护程度的指示:例如,低水平的流感特异性抗体可能表示需要再接种或强化疫苗接种。本领域已知的任何免疫分析系统可以用于这一目的,包括但不限于竞争性和非竞争性的分析系统,利用一些技术,例如放射免疫分析、ELISA(酶联免疫吸附测定)、“三明治法”免疫分析、沉淀素反应、凝胶扩散沉淀素反应、免疫扩散分析、凝集分析、补体定影分析、免疫放射分析、荧光免疫分析、蛋白质A免疫分析和免疫电泳,略举数例。进一步的,不受任何特定理论的限制,引发的或鉴定的可以在分析中利用,以确定所述抗体的抗流感性质,其可能是用所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽、编码这样的多肽的核酸或包含这样的核酸或多肽的载体免疫接种提供的保护水平的指示。用于评估抗流感性质的本领域已知的任何分析可以用于这一目的,包括但不限于血细胞凝集素抑制分析、流感病毒生长曲线和蚀斑减少分析,

略举数例。

[0211] 使用嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽、编码这样的多肽的核酸或包含这样的核酸或多肽的载体引发或鉴定的抗体可以用于抗独特型抗体的生产。所述抗独特型抗体随后可以用于免疫,以产生结合流感的特定抗原例如血细胞凝集素多肽的中和表位的抗体亚群 (Jerne, 1974, Ann. Immunol. (Paris) 125c:373; Jerne et al, 1982, EMBO J. 1:234, 通过引用以它们的整体合并在本文中)。

[0212] 5.7 组合物

[0213] 本文描述的核酸、载体、多肽、抗体或细胞 (有时本文称为“活性化合物”) 可以掺入组合物中。在具体的实施方式中, 本文描述的活性化合物是本文描述的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽、编码这样的多肽的核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体 (例如, 病毒载体), 或本文描述的细胞。在具体的实施方式中, 所述组合物是药物组合物, 例如, 免疫原性组合物 (例如, 疫苗制剂)。本文提供的药物组合物可以处于容许所述组合物向对象施用的任何形式。在具体的实施方式中, 所述药物组合物适合于兽医学和/或人类施用。所述组合物可以用于预防或治疗流感病毒疾病的方法中。

[0214] 在一个实施方式中, 药物组合物包含处于与药学上可接受的载体的混合物中的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽。在另一个实施方式中, 药物组合物 (例如, 免疫原性组合物) 包含处于与药学上可接受的载体的混合物中的、编码本文描述的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的核酸。在另一个实施方式中, 药物组合物 (例如, 免疫原性组合物) 包含处于与药学上可接受的载体的混合物中的、包含编码嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的核酸的表达载体。在另一个实施方式中, 药物组合物 (例如, 免疫原性组合物) 包含处于与药学上可接受的载体的混合物中的、含有嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的流感病毒或非流感病毒。在另一个实施方式中, 药物组合物 (例如, 免疫原性组合物) 包含处于与药学上可接受的载体的混合物中的、被基因组工程化以表达嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的流感病毒或非流感病毒。在另一个实施方式中, 药物组合物 (例如, 免疫原性组合物) 包含处于与药学上可接受的载体的混合物中的、含有嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的病毒样颗粒或病毒粒。在某些实施方式中, 所述组合物进一步包含一种或更多种佐剂 (参见, 例如, 下文的章节 5.7.5, 例如, AS03 或 MF59)。

[0215] 在某些实施方式中, 除了利用本文描述的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的治疗之外, 药物组合物可以包含一种或更多种其他治疗。

[0216] 如本文使用的, 术语“药学上可接受的”是指由联邦或州政府的管理机构批准的或在美国药典中或其他一般公认的药典中列出的, 用于在动物和更特别地用于人类中的。术语“载体”是指稀释剂、佐剂、赋形剂或运载体, 药物组合物与它们一同施用。盐水溶液与葡萄糖和甘油水溶液也可以用作液体载体, 特别是对于可注射的溶液。适和的赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、米、面粉、碳酸钙、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等。在 E. W. Martin 的 “Remington's Pharmaceutical Sciences” 中描述了适合的药物载体的实例。制剂应当适合施用的方式。

[0217] 在具体的实施方式中, 药物组合物被配制以适合于对对象的预期的施用途径。例如, 药物组合物可以被配制以适合于胃肠外的、口服的、真皮内的、穿表皮的、结肠直肠的、腹膜内的和直肠的施用。在具体的实施方式中, 所述药物组合物可以被配制用于静脉内的、口服的、腹膜内的、鼻内的、气管内的、皮下的、肌肉内的、局部的、真皮内的、穿表皮的或肺

部的施用。

[0218] 在某些实施方式中,可生物降解的聚合物,例如,乙烯醋酸乙烯酯、聚酐、聚乙二醇(PEG化)、聚甲基丙烯酸甲酯聚合物、聚交酯、聚(丙交酯-共-乙交酯)、聚羟基乙酸、胶原蛋白、聚原酸酯和聚乳酸可以用作载体。在某些实施方式中,可以使用载体制备活性化合物,所述载体提高所述化合物对抗从身体快速清除的保护,例如控释制剂,包括植入物和微密封的递送系统。这种制剂的制备方法对于本领域技术人员是显而易见的。脂质体或胶粒团也可以用作药学上可接受的载体。这些可以根据本领域技术人员已知的方法来制备,例如,如美国专利No.4,522,811中描述的。在某些实施方式中,所述药物组合物包含一种或更多种佐剂(参见,例如,下文的章节5.7,关于佐剂,例如AS03或MF49)。

[0219] 在具体的实施方式中,本文描述的免疫原性组合物是单价的制剂。在其他实施方式中,本文描述的免疫原性组合物是多价的制剂。在一个实例中,多价的制剂包含超过一种表达嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的载体。在另一个实例中,多价的制剂包含超过一种含有嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的病毒。在某些实施方式中,多价的制剂可以包含使用单一载体表达的一种或更多种不同的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。在某些实施方式中,本文描述的免疫原性组合物是包含一种嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的三价疫苗。在某些实施方式中,本文描述的免疫原性组合物是包含三种不同的流感病毒的三价疫苗,每种流感病毒包含不同的嵌合HA。在某些实施方式中,本文描述的免疫原性组合物是包含至少两种不同的本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的四价疫苗。在某些实施方式中,本文描述的免疫原性组合物是包含四种不同的流感病毒的四价疫苗,每种流感病毒包含不同的嵌合HA。在某些实施方式中,本文描述的组合物包含国际公开No.WO 2014/099931和WO 2013/043729中描述的一种或更多种嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,以及一种或更多种本文描述的嵌合HA多肽。在某些实施方式中,本文描述的组合物可以包含本文描述的嵌合HA以及重组HA,其中所述重组HA包含甲型流感病毒的一种亚型的HA的球形头部结构域,以及甲型流感病毒的不同亚型的HA的茎杆结构域。例如,所述重组HA可以包含H5亚型的甲型流感病毒的HA的球形头部结构域以及H1或H3亚型的甲型流感病毒的HA的茎杆结构域。在另一个实例中,所述重组HA可以包含H7亚型的甲型流感病毒的HA的球形头部结构域以及H1或H3亚型的甲型流感病毒的HA的茎杆结构域。

[0220] 在某些实施方式中,本文描述的药物组合物另外包含防腐剂,例如,汞衍生的硫柳汞。在具体的实施方式中,本文描述的药物组合物包含0.001%到0.01%的硫柳汞。在其他实施方式中,本文描述的药物组合物不包含防腐剂。在具体的实施方式中,在制造本文描述的药物组合物期间使用硫柳汞,在生产药物组合物之后通过纯化步骤除去硫柳汞,即,所述药物组合物含有痕量的硫柳汞(纯化后每剂量<0.3 μ g汞;这样的药物组合物被认为是无硫柳汞的产品)。

[0221] 在某些实施方式中,本文描述的药物组合物另外包含卵蛋白质(例如,卵白蛋白或其他卵蛋白质)。本文描述的药物组合物中卵蛋白质的数量可以约0.0005到约1.2 μ g的卵蛋白质比1ml药物组合物。在其他实施方式中,本文描述的药物组合物不包含卵蛋白质。

[0222] 在某些实施方式中,本文描述的药物组合物另外包含一种或更多种抗微生物剂(例如,抗生素),包括但不限于庆大霉素、新霉素、多粘菌素(例如,多粘菌素B),和卡那霉素、链霉素。在其他实施方式中,本文描述的药物组合物不包含任何抗生素。

[0223] 在某些实施方式中,本文描述的药物组合物另外包含用于灭活病毒的一种或更多种成分,例如,福尔马林或甲醛,或洗涤剂例如脱氧胆酸钠、辛苯聚醇9 (Triton X-100) 和辛苯聚醇10。在其他实施方式中,本文描述的药物组合物不包含任何用于灭活病毒的成分。

[0224] 在某些实施方式中,本文描述的药物组合物另外包含明胶。在其他实施方式中,本文描述的药物组合物不包含明胶。

[0225] 在某些实施方式中,本文描述的药物组合物另外包含一种或更多种缓冲剂,例如,磷酸盐缓冲剂和磷酸蔗糖谷氨酸缓冲剂。在其他实施方式中,本文描述的药物组合物不包含缓冲剂。

[0226] 在某些实施方式中,本文描述的药物组合物另外包含一种或更多种盐,例如,氯化钠、氯化钙、磷酸钠、谷氨酸单钠和铝盐(例如,氢氧化铝、磷酸铝、白矾(硫酸铝钾)、或这样的铝盐的混合物)。在其他实施方式中,本文描述的药物组合物不包含盐。

[0227] 在具体的实施方式中,本文描述的药物组合物是低添加的流感病毒疫苗,即,所述药物组合物不包含通常在流感病毒疫苗中存在的一种或更多种添加剂。已经描述了低添加的流感疫苗(参见,例如,作为国际公开No. WO 09/001217公开的国际申请NO. PCT/IB2008/002238,通过引用以其整体合并在本文中)。

[0228] 本文描述的药物组合物可以与施用的说明一起被包括在容器、包装或分配器中。

[0229] 本文描述的药物组合物可以在使用之前保存,例如,所述药物组合物可以冷冻保存(例如,在约-20℃下或在约-70℃下);在冷藏条件下保存(例如,在约4℃下);或在室温下保存(对于无冷藏地保存包含流感疫苗的组合物,参见作为国际公开No. WO 07/110776公开的国际申请NO. PCT/IB2007/001149,通过引用以其整体合并在本文中)。

[0230] 在某些实施方式中,当本文描述的药物组合物中的活性化合物是被工程化以表达嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的细胞时,所述细胞不是哺乳动物细胞(例如,所述细胞是CB-1细胞)。

[0231] 5.7.1亚单位疫苗

[0232] 在具体的实施方式中,本文提供的是包含本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的亚单位疫苗。在某些实施方式中,亚单位疫苗包含嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,以及一种或更多种表面糖蛋白(例如,流感病毒神经氨酸酶)、其他靶向部分,或佐剂。在具体的实施方式中,所述佐剂是下文的章节5.7.5中描述的一类佐剂或一种具体的佐剂。在具体的实施方式中,亚单位疫苗包含单一的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。在其他实施方式中,亚单位疫苗包含两种、三种、四种或更多种嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。在具体的实施方式中,亚单位疫苗中使用的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽不是膜结合的,即,是可溶的。在具体的实施方式中,所述亚单位疫苗的多肽成分在杆状病毒表达系统中产生。在特定的实施方式中,亚单位疫苗包含纯化的本文描述的嵌合HA多肽,其是在连续的昆虫细胞系中产生的,例如,使用杆状病毒载体(例如,苜蓿银纹夜蛾(*Autographa californica*)核多角体病毒)衍生自草地粘虫草地夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)的细胞系。所述嵌合HA多肽可以从所述细胞中提取,并通过柱层析进一步纯化。在某些实施方式中,亚单位疫苗包含超过一种本文描述的嵌合HA多肽。

[0233] 在具体的实施方式中,所述亚单位疫苗使用在有胚鸡蛋中增殖的流感病毒制备(即,所述亚单位疫苗的成分(例如,嵌合HA多肽)分离自在有胚鸡蛋中增殖的病毒)。在另一

个具体的实施方式中,所述亚单位疫苗使用不在有胚鸡蛋中增殖的流感病毒制备(即,所述亚单位疫苗的成分(例如,嵌合HA多肽)分离自不在有胚鸡蛋中增殖的病毒)。在另一个具体的实施方式中,所述亚单位疫苗使用在哺乳动物细胞中增殖的流感病毒制备,例如,永生化的人类细胞(参见,例如,作为国际公开No.WO 07/045674公开的国际申请NO.PCT/EP2006/067566,通过引用以其整体合并在本文中)或犬肾细胞例如MDCK细胞(参见,例如,作为国际公开No.WO 08/032219公开的国际申请NO.PCT/IB2007/003536,通过引用以其整体合并在本文中)(即,所述亚单位疫苗的成分(例如,嵌合HA多肽)分离自在哺乳动物细胞中增殖的病毒)。在另一个具体的实施方式中,亚单位疫苗中的所述嵌合HA多肽使用表达载体制备,例如,病毒载体、植物载体、杆状病毒载体或细菌载体(即,所述亚单位疫苗中的所述嵌合HA多肽获自/分离自表达载体)。

[0234] 5.7.2活病毒疫苗

[0235] 在一个实施方式中,本文提供的是包含活流感病毒的免疫原性组合物(例如,疫苗),所述活流感病毒含有嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。在另一个实施方式中,本文提供的是包含活流感病毒的免疫原性组合物(例如,疫苗),所述活流感病毒被工程化以编码嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽由在施用所述组合物的对象中产生的子代病毒表达。在具体的实施方式中,所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽是膜结合的。在其他具体实施方式中,所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽不是膜结合的,即,它是可溶的。在某些实施方式中,所述活流感病毒是减毒的。在某些实施方式中,免疫原性组合物包含两种、三种、四种或更多种活流感病毒,所述流感病毒含有或被工程化以表达两种、三种、四种或更多种不同的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。

[0236] 包含用于向对象施用的活流感病毒的免疫原性组合物可能是优选的,因为在所述对象中所述病毒的增殖可以引起与自然感染中发生的相似类型和量级的延长刺激,因而赋予实质上持久的免疫性。

[0237] 在具体的实施方式中,在本文描述的免疫原性组合物中使用之前,所述含有嵌合HA多肽的活病毒在有胚鸡蛋中增殖。在另一个具体的实施方式中,在本文描述的免疫原性组合物中使用之前,所述含有嵌合HA多肽的活病毒不在有胚鸡蛋中增殖。在另一个具体的实施方式中,在本文描述的免疫原性组合物中使用之前,所述含有嵌合HA多肽的活病毒在哺乳动物细胞中增殖,例如,永生化的人类细胞(参见,例如,作为国际公开No.WO 07/045674公开的国际申请NO.PCT/EP2006/067566,通过引用以其整体合并在本文中)或犬肾细胞例如MDCK细胞(参见,例如,作为国际公开No.WO 08/032219公开的国际申请NO.PCT/IB2007/003536,通过引用以其整体合并在本文中)。

[0238] 5.7.3灭活病毒疫苗

[0239] 在一个实施方式中,本文提供的是包含灭活流感病毒的免疫原性组合物(例如,疫苗),所述灭活流感病毒含有嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。在具体的实施方式中,所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽是膜结合的。在某些实施方式中,免疫原性组合物包含两种、三种、四种或更多种灭活流感病毒,所述灭活流感病毒含有两种、三种、四种或更多种不同的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。在某些实施方式中,所述灭活流感病毒免疫原性组合物包含一种或更多种佐剂。在具体的实施方式中,所述佐剂是下文的章节5.7.5中描述的一类佐剂或一种具体的佐剂。

[0240] 本领域技术人员已知的技术可以用于灭活含有嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的病毒。常见的方法使用福尔马林、热、或洗涤剂进行灭活。参见,例如,美国专利No.6,635,246,通过引用以其整体合并在本文中。其他方法包括美国专利No.5,891,705;5,106,619和4,693,981中描述的那些,通过引用以它们整体合并在本文中。

[0241] 5.7.4裂解病毒疫苗

[0242] 在一个实施方式中,包含嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的免疫原性组合物是裂解病毒疫苗。在某些实施方式中,裂解病毒疫苗含有两种、三种、四种或更多种不同的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽。在某些实施方式中,所述嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽是/曾是膜结合的。在某些实施方式中,所述裂解病毒疫苗包含一种或更多种佐剂。

[0243] 产生裂解病毒疫苗的技术是本领域技术人员已知的。作为非限制性实例,流感病毒裂解疫苗可以使用洗涤剂破坏的灭活颗粒来制备。适合根据本文描述的方法使用的裂解病毒疫苗的一个实例是用于肌肉内使用的**fluzone®**,流感病毒疫苗 (Zonal Purified, Subvirion),其被配制为从有胚鸡蛋中增殖的流感病毒中制备的无菌悬浮液。收获含有病毒的液体,并用甲醛灭活。使用连续流动离心在线性蔗糖密度梯度溶液中浓缩并纯化流感病毒。然后使用非离子表面活性剂辛苯苄醇-9 (**Triton®X-100**,Union Carbide公司的注册商标) 化学地破坏病毒,产生“裂解病毒”。所述裂解病毒然后通过化学方法进一步纯化,悬浮在磷酸钠缓冲的等渗氯化钠溶液中。

[0244] 5.7.5佐剂

[0245] 在某些实施方式中,本文描述的组合物包含佐剂或与佐剂组合施用。用于与本文描述的组合物共同施用的佐剂可以在所述组合物的施用之前、伴随地或之后施用。在某些实施方式中,术语“佐剂”是指一种化合物,当与本文描述的组合物一起施用或作为本文描述的组合物的一部分施用时,增大、增强和/或强化对嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的免疫应答,但是当所述化合物单独施用时不产生针对多肽的免疫应答。在某些实施方式中,所述佐剂产生针对所述多肽的免疫应答,不产生过敏或其他不良反应。佐剂可以通过几种机制增强免疫应答,包括,例如,淋巴细胞征募、刺激B细胞和/或T细胞以及刺激巨噬细胞。

[0246] 在某些实施方式中,佐剂增大对所述嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的内在反应,不引起影响所述反应的定性形式的、在所述多肽中的构象改变。佐剂的具体实例包括但不限于铝盐(白矾)(例如,氢氧化铝、磷酸铝和硫酸铝)、3脱O-酰化的单磷酸基脂质A (MPL) (参见GB 2220211)、MF59 (Novartis)、AS03 (GlaxoSmithKline)、AS04 (GlaxoSmithKline)、聚山梨酯80 (Tween 80; ICL Americas, Inc.)、咪唑并吡啶化合物(参见国际申请NO.PCT/US2007/064857,作为国际公开No.WO2007/109812公开)、咪唑并吡啶化合物(参见国际申请NO.PCT/US2007/064858,作为国际申请WO2007/109813公开)和皂角苷,例如,QS21(参见Kensil et al., in Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach (eds. Powell & Newman, Plenum Press, NY, 1995); 美国专利No.5,057,540)。在具体的实施方式中,所述佐剂是AS03 (GlaxoSmithKline)。在具体的实施方式中,所述佐剂是MF59 (Novartis)。在某些实施方式中,所述佐剂是弗氏佐剂(完全的或不完全的)。其他佐剂是水包油乳剂(例如,角鲨烯或花生油),任选地与免疫刺激剂组合,例如单磷酸基脂质A(参见Stoute et al., N.Engl.J.Med.336,86-91(1997))。另一种佐剂是CpG (Bioworld Today, Nov.15,1998)。这样的佐剂可以在有或者没有其他特定免疫刺激试剂的情况下使用,所述免疫刺激试剂例如

MPL或3-DMP、QS21、聚合的或单体的氨基酸例如聚谷氨酸或聚赖氨酸。要理解的是，嵌合HA多肽的不同制剂可以包含不同的佐剂，或可以包含相同的佐剂。

[0247] 5.8预防和治疗用途

[0248] 在一个方面，本文提供的是利用本文描述的活性化合物(例如，本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽，编码这样的多肽的核酸，含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如，病毒载体)，本文描述的细胞)或组合物在对象中诱导免疫应答的方法。在具体的实施方式中，在对象中诱导针对流感病毒血细胞凝集素多肽的免疫应答的方法包括向有需要的对象施用有效量的本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽或其免疫原性组合物。在另一个实施方式中，在对象中诱导针对流感病毒血细胞凝集素多肽的免疫应答的方法包括向有需要的对象施用有效量的编码本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的核酸或其免疫原性组合物。在另一个实施方式中，在对象中诱导针对流感病毒血细胞凝集素多肽的免疫应答的方法包括向有需要的对象施用有效量的含有、表达或含有并表达本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的病毒载体或免疫原性组合物。在某些实施方式中，所述方法中使用的本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽是衍生自哺乳动物细胞、植物细胞或昆虫细胞的纯化的本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。

[0249] 在具体的实施方式中，在对象中诱导针对流感病毒血细胞凝集素多肽的免疫应答的方法包括向有需要的对象施用本文描述的亚单位疫苗。在另一个实施方式中，在对象中诱导针对流感病毒血细胞凝集素多肽的免疫应答的方法包括向有需要的对象施用本文描述的活流感病毒疫苗。在特定的实施方式中，所述活流感病毒疫苗包含减毒的流感病毒。在另一个实施方式中，在对象中诱导针对流感病毒血细胞凝集素多肽的免疫应答的方法包括向有需要的对象施用本文描述的灭活流感病毒疫苗。在另一个实施方式中，在对象中诱导针对流感病毒血细胞凝集素多肽的免疫应答的方法包括向有需要的对象施用本文描述的裂解病毒疫苗。在另一个实施方式中，在对象中诱导针对流感病毒血细胞凝集素多肽的免疫应答的方法包括向有需要的对象施用本文描述的病毒样颗粒疫苗。在另一个实施方式中，在对象中诱导针对流感病毒血细胞凝集素多肽的免疫应答的方法包括向有需要的对象施用本文描述的病毒粒。在某些实施方式中，所述方法中使用的本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽是衍生自哺乳动物细胞、植物细胞或昆虫细胞的纯化的本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。

[0250] 在具体的实施方式中，在对象中诱导针对流感病毒血细胞凝集素多肽的免疫应答的方法包括：(a) 向有需要的对象施用包含本文描述的嵌合HA的第一免疫原性组合物；和(b) 在所述第一免疫原性组合物的施用之后一段时间，向所述对象施用包含第二本文描述的嵌合HA的第二免疫原性组合物。在具体的实施方式中，所述第一和第二嵌合HA多肽包含胞外域，所述胞外域具有相同的茎杆结构域、但具有一项、两项、三项或所有以下的：不同的120环、不同的150环、不同的160环和不同的190螺旋。在具体的实施方式中，所述方法进一步包括向所述对象施用包含第三本文描述的嵌合HA的第三免疫原性组合物。在具体的实施方式中，所述第一、第二和第三嵌合HA多肽包含胞外域，所述胞外域具有相同的茎杆结构域、但具有一项、两项、三项或所有以下的：不同的120环、不同的150环、不同的160环和不同的190螺旋。在具体的实施方式中，所述第二免疫原性组合物在施用所述第一免疫原性组合物之后约6周、约12周、约4个月、约6个月或约9个月施用。在另一个具体的实施方式中，所述

第二免疫原性组合在施用所述第一免疫原性组合之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。在具体的实施方式中,所述第三免疫原性组合在施用所述第二免疫原性组合之后约6周、约12周、约4个月、约6个月或约9个月施用。在另一个具体的实施方式中,所述第三免疫原性组合在施用所述第二免疫原性组合之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。

[0251] 在另一个实施方式中,本文提供的是针对流感病毒疾病或感染(例如,乙型流感病毒疾病或感染)免疫对象的方法,包括(i)所述第一嵌合HA多肽向所述对象的第一次施用,编码这样的多肽的第一核酸,含有、表达或含有并表达这样的多肽的第一载体,或本文描述的细胞;和(ii)第二嵌合HA多肽、编码这样的多肽的第二核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的第二载体或本文描述的细胞向所述对象的第二次施用,其中所述第一和第二嵌合HA多肽包含胞外域,所述胞外域具有相同的茎杆结构域、但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和(iv)不同的190螺旋。所述第一和第二次施用可以分隔至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或至少6个月。在某些实施方式中,所述第一和第二次施用可以分隔1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。在某些实施方式中,强化接种可以在所述第二次接种之后以6到12个月的间隔时间向对象施用。在某些实施方式中,所述强化接种可以在所述第二次接种之后以1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月的间隔时间向对象施用。在某些实施方式中,所述强化接种包含第三嵌合HA多肽、编码这样的多肽的第三核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的第三载体、或本文描述的细胞,其中所述第一、第二和第三嵌合HA多肽包含胞外域,所述胞外域具有相同的茎杆结构域、但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和(iv)不同的190螺旋。

[0252] 在另一个实施方式中,本文提供的是针对流感病毒疾病或感染(例如,乙型流感病毒感染或疾病)免疫对象的方法,包括(i)第一免疫原性组合向所述对象的第一次施用,其中所述第一免疫原性组合包含活的减毒流感病毒,所述活的减毒流感病毒含有、表达或含有并表达第一本文描述的嵌合HA多肽;和(ii)第二免疫原性组合向所述对象的第二次施用,其中所述第二免疫原性组合是灭活流感病毒疫苗,所述灭活流感病毒疫苗包含第二本文描述的嵌合HA多肽和佐剂(佐剂参见,例如,章节5.75),其中所述第一和第二嵌合HA多肽包含胞外域,所述胞外域具有相同的茎杆结构域、但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和(iv)不同的190螺旋。所述第一和第二次施用可以分隔至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或至少6个月。在某些实施方式中,所述第一和第二次施用可以分隔1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。在某些实施方式中,强化接种可以在所述第二次接种之后以6到12个月的间隔时间向对象施用。在某些实施方式中,所述强化接

种可以在所述第二次接种之后以1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月的间隔时间向对象施用。在某些实施方式中,所述强化接种包含第三嵌合HA多肽、编码这样的多肽的第三核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的第三载体、或本文描述的细胞,其中所述第一、第二和第三嵌合HA多肽包含胞外域,所述胞外域具有相同的茎杆结构域、但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和(iv)不同的190螺旋。

[0253] 在另一个实施方式中,本文提供的是针对流感病毒疾病或感染(例如,乙型流感病毒疾病或感染)免疫对象的方法,包括(i)第一免疫原性组合物向所述对象的第一次施用,其中所述第一免疫原性组合物包含活的减毒流感病毒,所述活的减毒流感病毒含有、表达或含有并表达第一本文描述的嵌合HA多肽;和(ii)第二免疫原性组合物向所述对象的第二次施用,其中所述第二免疫原性组合物是亚单位流感病毒疫苗,所述亚单位流感病毒疫苗包含第二本文描述的嵌合HA多肽和佐剂(佐剂参见,例如,章节5.75,例如,AS03或MF59),其中所述第一和第二嵌合HA多肽包含胞外域,所述胞外域具有相同的茎杆结构域、但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和(iv)不同的190螺旋。所述第一和第二次施用可以分隔至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或至少6个月。在某些实施方式中,所述第一和第二次施用可以分隔1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。在某些实施方式中,强化接种可以在所述第二次接种之后以6到12个月的间隔时间向对象施用。在某些实施方式中,所述强化接种可以在所述第二次接种之后以1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月的间隔时间向对象施用。在某些实施方式中,所述强化接种包含第三嵌合HA多肽、编码这样的多肽的第三核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的第三载体、或本文描述的细胞,其中所述第一、第二和第三嵌合HA多肽包含胞外域,所述胞外域具有相同的茎杆结构域、但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和(iv)不同的190螺旋。

[0254] 在另一个实施方式中,本文提供的是针对流感病毒疾病或感染(例如,乙型流感病毒疾病或感染)免疫对象的方法,包括(i)第一免疫原性组合物向所述对象的第一次施用,其中所述第一免疫原性组合物包含活的减毒流感病毒,所述活的减毒流感病毒含有、表达或含有并表达第一本文描述的嵌合HA多肽;和(ii)第二免疫原性组合物向所述对象的第二次施用,其中所述第二免疫原性组合物是裂解流感病毒疫苗,所述裂解流感病毒疫苗包含第二本文描述的嵌合HA多肽和佐剂(佐剂参见,例如,章节5.75,例如,AS03或MF59),其中所述第一和第二嵌合HA多肽包含胞外域,所述胞外域具有相同的茎杆结构域、但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和(iv)不同的190螺旋。所述第一和第二次施用可以分隔至少1天、2天、3天、5天、10天、15天、30天、45天、2个月、75天、3个月或至少6个月。在某些实施方式中,所述第一和第二次施用可以分隔1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。在某些实施方式

中,强化接种可以在所述第二次接种之后以6到12个月的间隔时间向对象施用。在某些实施方式中,所述强化接种可以在所述第二次接种之后以1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月的间隔时间向对象施用。在某些实施方式中,所述强化接种包含第三嵌合HA多肽、编码这样的多肽的第三核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的第三载体、或本文描述的细胞,其中所述第一、第二和第三嵌合HA多肽包含胞外域,所述胞外域具有相同的茎杆结构域、但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和(iv)不同的190螺旋。

[0255] 在具体的实施方式中,本文提供对是针对流感病毒疾病或感染(例如,乙型流感病毒疾病或感染)免疫对象的方法,所述方法包括:编码第一嵌合HA多肽的核酸的第一次施用,其中所述第一嵌合HA多肽包含第一乙型流感病毒的第一胞外域,所述第一胞外域包含:(i)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;(ii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;(iii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和(iv)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和(b)在所述第一次施用之后第一时间段的第二嵌合HA多肽向所述对象的第二次施用,其中所述第二嵌合HA多肽包含第二乙型流感病毒的第二胞外域,所述第二胞外域包含:(i)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;(ii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;(iii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和(iv)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型

流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基；和(c)在所述第二次施用之后第二时间段的向所述对象的包含第三嵌合HA多肽的强化接种，其中所述第三嵌合HA多肽包含第三乙型流感病毒的第三胞外域，所述第三胞外域包含(i)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基；(ii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基；(iii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基；和(iv)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中，所述第一、第二和第三胞外域包含相同的茎杆结构域。在特定的实施方式中，所述茎杆结构域是流感B/Yamagata/16/88的茎杆结构域。在具体的实施方式中，所述第一、第二和第三亚型是相互不同的。在具体的实施方式中，所述第一亚型是H13亚型，所述第二亚型是H5亚型，以及所述第三亚型是H8亚型。在某些实施方式中，所述第一、第二和第三亚型是不同的，所述亚型选自H5、H8、H11、H12和H13。在具体的实施方式中，所述第一嵌合HA多肽包含附图36的嵌合HA的120环、150环、160环和190螺旋。在具体的实施方式中，所述第二嵌合HA多肽包含附图30的嵌合HA的120环、150环、160环和190螺旋。在具体的实施方式中，所述第三嵌合HA多肽包含附图32的嵌合HA的120环、150环、160环和190螺旋。在具体的实施方式中，所述第一次施用之后的第一时间段是1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。在具体的实施方式中，所述第二次施用之后的第二时间段是1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。

[0256] 在具体的实施方式中，一种针对流感病毒疾病或感染(例如，乙型流感病毒疾病或感染)免疫对象的方法，所述方法包括：(a)包含第一嵌合HA多肽的第一免疫原性组合物的第一次施用，其中所述第一嵌合HA多肽包含第一乙型流感病毒的第一胞外域，所述第一胞外域包含：(i)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用H13亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基；(ii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、

5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;(iii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和(iv)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和(b)在所述第一次施用之后第一时间段的包含第二嵌合HA多肽的第二免疫原性组合物向所述对象的第二次施用,其中所述第二嵌合HA多肽包含第二乙型流感病毒的第二胞外域,所述第二胞外域包含:(i)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;(ii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;(iii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和(iv)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和(c)在所述第二次施用之后第二时间段的包含第三嵌合HA多肽的第三免疫原性组合物向所述对象的强化接种,其中所述第三嵌合HA多肽包含第三乙型流感病毒的第三胞外域,所述第三胞外域包含(i)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;(ii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;(iii)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和(iv)处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更

多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。在具体的实施方式中,所述第一、第二和第三胞外域包含相同的茎杆结构域。在特定的实施方式中,所述茎杆结构域是流感B/Yamagata/16/88的茎杆结构域。在具体的实施方式中,所述第一、第二和第三亚型是相互不同的。在具体的实施方式中,所述第一亚型是H13亚型,所述第二亚型是H5亚型,以及所述第三亚型是H8亚型。在某些实施方式中,所述第一、第二和第三亚型是不同的,所述亚型选自H5、H8、H11、H12和H13。在具体的实施方式中,所述第一嵌合HA多肽包含附图36的嵌合HA的120环、150环、160环和190螺旋。在具体的实施方式中,所述第二嵌合HA多肽包含附图30的嵌合HA的120环、150环、160环和190螺旋。在具体的实施方式中,所述第三嵌合HA多肽包含附图32的嵌合HA的120环、150环、160环和190螺旋。在具体的实施方式中,第一、第二或第三嵌合HA多肽之一,或所述第一、第二和第三嵌合HA多肽中的两个或三个,可以作为蛋白质、在流感病毒或其他载体中、或作为核酸序列向所述对象施用。在具体的实施方式中,所述第一次施用之后的第一时间段是1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。在具体的实施方式中,所述第二次施用之后的第二时间段是1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。

[0257] 在某些实施方式中,由本文描述的活性化合物或组合物诱导的免疫应答有效预防和/或治疗由乙型流感病毒的一种或两种谱系引起的流感病毒感染。在某些实施方式中,由本文描述的活性化合物或组合物诱导的免疫应答有效预防和/或治疗由乙型流感病毒的同一谱系内的一种或更多种毒株引起的流感病毒感染。在具体的实施方式中,由本文描述的活性化合物或组合物诱导的免疫应答诱导针对乙型流感病毒HA的茎杆结构域的抗体。在具体的实施方式中,由本文描述的活性化合物或组合物诱导的免疫应答诱导针对乙型流感病毒HA的球形头部结构域和茎杆结构域中的亚优势表位的抗体。

[0258] 在某些实施方式中,本文描述的活性化合物(例如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,编码这样的多肽的核酸,含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如,病毒载体),本文描述的细胞)或组合物诱导的免疫应答有效降低由流感病毒疾病/感染引起的症状。流感病毒疾病/感染的症状包括但不限于,身体疼痛(特别是关节和咽喉)、发烧、恶心、头痛、眼睛刺激、疲劳、喉咙痛、眼睛或皮肤发红和腹痛。

[0259] 在某些实施方式中,本文描述的活性化合物(例如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,编码这样的多肽的核酸,含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如,病毒载体),本文描述的细胞)或组合物诱导的免疫应答有效降低患有流感病毒疾病/感染的对象的住院。在某些实施方式中,由本文描述的活性化合物或组合物诱导的免疫应答有效降低患有流感病毒疾病/感染的对象的住院的持续时间。

[0260] 在另一个方面,本文提供的是利用本文描述的活性化合物(例如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,编码这样的多肽的核酸,含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如,病毒载体),本文描述的细胞)或组合物在对象中预防和/或治疗流感病毒感染的方法。在一个实施方式中,预防或治疗对象中的流感病毒感染的方法包括向有需要的对象

施用嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽、编码这样的多肽的核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体,或上述任一项的组合物。在具体的实施方式中,预防或治疗对象中的流感病毒感染的方法包括向有需要的对象施用亚单位疫苗、活流感病毒疫苗、灭活流感病毒疫苗、裂解病毒疫苗、病毒样颗粒疫苗或病毒粒。

[0261] 在另一个方面,本文提供的是利用本文描述的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,编码这样的多肽的核酸,含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体,或本文描述的细胞预防和/或治疗对象中的流感病毒疾病的方法。在具体的实施方式中,预防或治疗对象中的流感病毒疾病的方法包括向有需要的对象施用有效量的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽或其免疫原性组合物。在另一个实施方式中,预防或治疗对象中的流感病毒疾病的方法包括向有需要的对象施用有效量的编码嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的核酸或其免疫原性组合物。在另一个实施方式中,预防或治疗对象中的流感病毒疾病的方法包括向有需要的对象施用有效量的、含有、表达或含有并表达嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的病毒载体或其免疫原性组合物。

[0262] 在具体的实施方式中,预防或治疗对象中的流感病毒疾病的方法包括向有需要的对象施用本文描述的亚单位疫苗。在另一个实施方式中,预防或治疗对象中的流感病毒疾病的方法包括向有需要的对象施用本文描述的活流感病毒疫苗。在特定的实施方式中,所述活流感病毒疫苗包含减毒的病毒。在另一个实施方式中,预防或治疗对象中的流感病毒疾病的方法包括向有需要的对象施用本文描述的灭活流感病毒疫苗。在另一个实施方式中,预防或治疗对象中的流感病毒疾病的方法包括向有需要的对象施用本文描述的裂解病毒疫苗。在另一个实施方式中,预防或治疗对象中的流感病毒疾病的方法包括向有需要的对象施用本文描述的病毒样颗粒疫苗。在另一个实施方式中,预防或治疗对象中的流感病毒疾病的方法包括向有需要的对象施用本文描述的病毒粒。

[0263] 在另一个方面,本文提供的是通过施用本文描述的抗体(例如,中和抗体)预防和/或治疗对象中的流感病毒疾病的方法。在具体的实施方式中,预防或治疗对象中的流感病毒疾病的方法包括向有需要的对象施用有效量的本文描述的抗体或其药物组合物。在特定的实施方式中,所述抗体是单克隆抗体。在特定的实施方式中,所述抗体是人类抗体。在特定的实施方式中,所述抗体是人源化抗体。

[0264] 在某些实施方式中,本文提供的预防或治疗对象(例如,人类或非人动物)中的流感病毒疾病或感染的方法引起所述对象中流感病毒的复制的降低,根据本领域技术人员已知的和本文描述的体内和体外分析所测定。在某些实施方式中,所述流感病毒的复制降低大约1log或更多、大约2logs或更多、大约3logs或更多、大约4logs或更多、大约5logs或更多、大约6logs或更多、大约7logs或更多、大约8logs或更多、大约9logs或更多、大约10logs或更多、1到3logs、1到5logs、1到8logs、1到9logs、2到10logs、2到5logs、2到7logs、2logs到8logs、2到9logs、2到10logs、3到5logs、3到7logs、3到8logs、3到9logs、4到6logs、4到8logs、4到9logs、5到6logs、5到7logs、5到8logs、5到9logs、6到7logs、6到8logs、6到9logs、7到8logs、7到9logs、或8到9logs。

[0265] 5.8.1组合治疗

[0266] 在各种实施方式中,本文描述的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,编码这样的多肽的核酸,含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如,病毒载体),本文描述的细胞,或中

和抗体,可以与一种或更多种其他治疗(例如,抗病毒的、抗细菌的或者免疫调节治疗)组合施用给对象。在某些实施方式中,本文描述的药物组合物(例如,免疫原性组合物)可以与一种或更多种治疗组合施用给对象。所述一种或更多种其他治疗在流感病毒疾病的治疗或预防方面可能是有益的,或可能改善与流感病毒疾病相关的症状或状况。在某些实施方式中,所述一种或更多种其他治疗是止痛药、抗发热药物、或缓和或帮助呼吸的治疗。在某些实施方式中,所述治疗以小于5分钟间隔、小于30分钟间隔、1小时间隔、约1小时间隔、约1到约2小时间隔、约2小时到约3小时间隔、约3小时到约4小时间隔、约4小时到约5小时间隔、约5小时到约6小时间隔、约6小时到约7小时间隔、约7小时到约8小时间隔、约8小时到约9小时间隔、约9小时到约10小时间隔、约10小时到约11小时间隔、约11小时到约12小时间隔、约12小时到18小时间隔、18小时到24小时间隔、24小时到36小时间隔、36小时到48小时间隔、48小时到52小时间隔、52小时到60小时间隔、60小时到72小时间隔、72小时到84小时间隔、84小时到96小时间隔、或96小时到120小时间隔施用。在具体的实施方式中,两种或更多种治疗在同一次患者就诊中施用。

[0267] 5.8.2患者群体

[0268] 在某些实施方式中,本文描述的活性化合物(例如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,编码这样的多肽的核酸,含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如,病毒载体),本文描述的细胞)或组合物可以施用给原初对象,即,不患有由流感病毒感染引起的疾病、或未被且当前没有被流感病毒感染的对象。在一个实施方式中,本文描述的活性化合物或组合物被施用给有获得流感病毒感染风险的原初对象。在一个实施方式中,本文描述的活性化合物或组合物被施用给不患有由特定流感病毒引起的疾病、或未被且没有被所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的特定流感病毒感染的对象。本文描述的活性化合物或组合物还可以施用给被和/或已经被流感病毒或另一种谱系、类型、亚型或毒株的流感病毒感染的对象,所述嵌合血细胞凝集素(HA)多肽针对所述流感病毒诱导免疫应答。

[0269] 在某些实施方式中,本文描述的活性化合物(例如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,编码这样的多肽的核酸,含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如,病毒载体),本文描述的细胞)或组合物被施用给已被诊断患有流感病毒感染的患者。在某些实施方式中,本文描述的活性化合物或组合物在症状显现或症状变得严重之前(例如,在患者需要住院之前)施用给感染了流感病毒的患者。在某些实施方式中,本文描述的活性化合物或组合物被施用给感染或已被诊断带有乙型流感病毒的患者,所述乙型流感病毒与衍生出所述活性化合物的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的乙型流感病毒是不同的。

[0270] 在某些实施方式中,要施用本文描述的活性化合物(例如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,编码这样的多肽的核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如,病毒载体)、本文描述的细胞)或组合物的对象是动物。在某些实施方式中,所述动物是禽类。在某些实施方式中,所述动物是犬类。在某些实施方式中,所述动物是猫。在某些实施方式中,所述动物是马。在某些实施方式中,所述动物是牛。在某些实施方式中,所述动物是哺乳动物,例如,马、猪、小鼠或灵长类,优选人类。

[0271] 在具体的实施方式中,要施用本文描述的活性化合物(例如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,编码这样的多肽的核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如,病毒载体)、本文描述的细胞)或组合物的对象是人类婴儿。如本文使用的,术语“人

类婴儿”是指新生儿到1岁的人类。在具体的实施方式中,要施用本文描述的活性化合物(例如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,编码这样的多肽的核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如,病毒载体)、本文描述的细胞)或组合物的对象是人类儿童。如本文使用的,术语“人类儿童”是指1岁到18岁的人类。在具体的实施方式中,要施用本文描述的活性化合物(例如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,编码这样的多肽的核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如,病毒载体)、本文描述的细胞)或组合物的对象是人类成年人。如本文使用的,术语“人类成年人”是指18岁或以上的人类。在具体的实施方式中,要施用本文描述的活性化合物(例如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,编码这样的多肽的核酸、含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如,病毒载体)、本文描述的细胞)或组合物的对象是老年人。如本文使用的,术语“老年人”是指65岁或以上的人类。

[0272] 在某些实施方式中,包含活的流感病毒载体的免疫原性制剂不与其他活病毒疫苗同时给予。

[0273] 5.9施用的方式

[0274] 5.9.1递送的途径

[0275] 本文描述的活性化合物(例如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽(例如,编码这样的多肽的核酸,含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如,病毒载体),本文描述的细胞)或组合物可以通过各种途径递送给对象。这些包括但不限于鼻内的、气管内的、口服的、真皮内的、肌肉内的、腹膜内的、穿表皮的、静脉内的、结膜的和皮下的途径。在某些实施方式中,组合物被配制用于局部施用,例如,应用于皮肤。在具体的实施方式中,所述施用途径是鼻部,例如,作为鼻喷雾的部分。在某些实施方式中,组合物被配制用于肌肉内的施用。在某些实施方式中,组合物被配制用于皮下的施用。在某些实施方式中,组合物不被配制为通过注射施用。在活病毒疫苗的特定实施方式中,所述疫苗被配制为通过注射以外的途径施用。

[0276] 例如,在抗原是病毒载体或病毒样颗粒载体的情况下,可能优选的是通过衍生出所述载体的主干病毒的天然感染途径来导入免疫原性组合物。做为选择,可能优选的是通过衍生出多肽的流感病毒的天然传染途径导入嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。可以有益地利用抗原特别是病毒载体诱导强力的分泌性和细胞性免疫应答的能力。例如,病毒载体对呼吸道的感染可能诱导例如在泌尿生殖系统中的强分泌性免疫应答,伴随着对抗流感病毒的保护。此外,在优选的实施方式中,可能希望通过任何适合的途径将药物组合物导入肺部。也可以采用肺部施用,例如,通过使用吸入器或喷雾器,和具有雾化试剂的制剂用作喷雾剂。

[0277] 在具体的实施方式中,肌肉注射地施用亚单位疫苗。在另一个实施方式中,鼻内地施用活流感病毒疫苗。在另一个实施方式中,肌肉注射地施用灭活流感病毒疫苗或裂解流感病毒疫苗。在另一个实施方式中,肌肉注射地施用病毒样颗粒或其组合物。

[0278] 5.9.2施用的剂量和频率

[0279] 在治疗和/或预防流感病毒感染或流感病毒疾病中将会有效的活性化合物(例如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,编码这样的多肽的核酸,含有、表达或含有并表达这样的多肽的载体(例如,病毒载体),本文描述的细胞)或组合物的数量,将取决于疾病的

性质,可以通过标准的临床技术确定。

[0280] 在制剂中采用的准确剂量也将取决于给药途径、由其引起的感染或疾病起的严重程度,并且应当根据医师的判断和每个对象的状况来决定。例如,有效剂量还可以取决于施用手段、目标位点、患者的生理状态(包括年龄、体重、健康)、患者是人类还是动物、施用的其他药物、治疗是预防性的还是治疗性的而变化。通常,患者是人类,但非人哺乳动物包括转基因哺乳动物也可以被治疗。治疗剂量最佳地被滴定以优化安全性和效力。

[0281] 在某些实施方式中,本文描述的病毒载体(例如,流感病毒)的剂量可以是 10^4 蚀斑形成单位(PFU)到 10^8 PFU。在某些实施方式中,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽的剂量(例如,在裂解病毒疫苗和亚单位疫苗中提供的)可以是约1 μ g到150 μ g。在某些实施方式中,VLP的剂量可以是约1 μ g到约150 μ g的嵌合HA多肽。在某些实施方式中,配制灭活疫苗,使得它可以含有约1 μ g到约150 μ g本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。

[0282] 在某些实施方式中,采用体外分析来帮助鉴定最佳的剂量范围。有效的剂量可以从来源于体外或动物模型测试系统的剂量反应曲线推断。

[0283] 5.10对象中抗体的评估

[0284] 在另一个方面,本文描述的嵌合HA,含有、或表达、或含有并表达本文描述的嵌合HA的病毒,可以用于评估对象(例如,原初对象或免疫的/接种的对象)或对象群体对流感病毒血细胞凝集素多肽(例如,嵌合HA)的抗体反应。在具体的实施方式中,嵌合HA或含有、表达或含有并表达嵌合HA的病毒可以用于评估对象或对象群体中茎杆特异性(stem-specific)抗体的存在。

[0285] 在具体的实施方式中,对已经用本文描述的嵌合HA、或含有、表达、或含有并表达本文描述的嵌合HA免疫/接种的对象或对象群体的抗体反应进行评估来鉴定所述对象或对象群体中柄部特异性(stalk-specific)抗体的类型。这样的评估可以容许鉴定在测定对施用本文描述的嵌合HA、或含有、表达或含有并表达本文描述的嵌合HA的病毒的临床反应方面重要的替代标志物/终点。在这样的方法中,来自对象或对象群体的生物样品例如血液可以进行分离,直接测试抗体的存在,或可以被加工(例如,以获得血清)并随后测试抗体的存在。

[0286] 在另一个具体的实施方式中,评估原初对象(即,没有用本文描述的嵌合HA、或含有或表达或含有并表达嵌合HA的病毒免疫/接种的对象)或原初对象群体的抗体分布,以确定所述对象或对象群体是否拥有针对各种流感病毒毒株或亚型的球形头部特异性抗体和/或茎杆特异性抗体。这样的评估可以容许产生适合于向所述对象或对象群体施用的嵌合HA、或含有、表达或含有并表达嵌合HA的病毒,例如,包含对于所述对象或对象群体是原初的(不具有针对它的抗体)头部结构域的嵌合HA。这样的评估可以确定对所述患者的免疫策略。

[0287] 在另一个具体的实施方式中,本文提供的是评估/检测对象中特异于特定流感病毒毒株或谱系的茎杆结构域的抗体的存在的方法,包括用本文描述的嵌合HA体外接触来自所述对象的生物样品(例如,血液、血清),其中所述嵌合HA包含来自所述目标毒株或谱系的茎杆结构域。在另一个具体的实施方式中,本文提供的是评估/检测对象中特异于特定流感病毒毒株或谱系的茎杆结构域的抗体的存在的方法,包括用表达/含有本文描述的嵌合HA的病毒体外接触来自所述对象的生物样品(例如,血液、血清),其中所述嵌合HA包含来自所

述目标毒株或谱系的茎杆结构域。

[0288] 5.11生物分析

[0289] 本文还提供的是可以用于表征嵌合HA、编码这样的嵌合HA的核酸、以及含有、表达或含有并表达这样的嵌合HA的病毒的生物分析。也参见下文的章节6。

[0290] 5.11.1用于测试嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽的活性的分析

[0291] 用于测试在本文公开的载体中嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的表达的分析可以使用本领域已知的任何分析来进行。例如,对于病毒载体内的掺入的分析包括如本章节或章节5.4或5.5中描述的生长病毒,通过蔗糖缓冲通过离心纯化病毒颗粒,随后使用本领域公知的方法通过免疫分析例如western印迹来分析嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽表达。确定血细胞凝集素多肽是否嵌合的方法是技术人员已知的(参见,例如,国际公开No.WO2013/043729的实施例3和4,通过引用以其整体合并在本文中)。

[0292] 在一个实施方式中,使用本领域已知的任何针对抗体-抗原相互作用的分析,通过测试特异性结合针对流感病毒血细胞凝集素多肽例如嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的柄部区的中和抗体的能力,来分析本文公开的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的正确折叠和功能。用于这样的分析的中和抗体包括,例如,以下之中描述的中和抗体Ekiert et al,2009, Science Express,26February 2009;Kashyap et al,2008,Proc Natl Acad Sci USA 105:5986-5991;Sui et al.2009,Nature Structural and Molecular Biology,16:265-273;Wang et al.,2010,PLOS Pathogens 6(2):1-9;美国专利No.5,589,174、5,631,350、6,337,070和6,720,409;作为国际公开No.WO 2007/134237公开的国际申请No.PCT/US2007/068983;作为国际公开No.WO2009/036157公开的国际申请NO.PCT/US2008/075998;作为国际公开No.WO2008/028946公开的国际申请NO.PCT/EP2007/059356;以及作为国际公开No.WO2009/079259公开的国际申请NO.PCT/US2008/085876。这些抗体包括CR6261、CR6325、CR6329、CR6307、CR6323、2A、D7、D8、F10、G17、H40、A66、D80、E88、E90、H98、C179 (FERM BP-4517)、ADC (FERM BP-4516),等。

[0293] 在另一个实施方式中,使用本领域已知的任何方法,例如,NMR、X射线的晶体成像方法或二级结构预测方法,例如圆二色性法,测定嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的结构或构象,来分析本文公开的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的正确折叠。

[0294] 在另一个实施方式中,分析本文公开的嵌合HA对野生型流感HA的一种、两种、或更多种或所有功能的保留。野生型流感HA的功能的非限制性实例包括膜融合活性、受体结合活性、出芽和颗粒形成。在具体的实施方式中,分析本文公开的嵌合HA的膜融合活性。可以利用本领域技术人员已知的分析评估本文描述的嵌合流感血细胞凝集素 (HA) 多肽的膜融合活性,例如,免疫荧光分析和假型病毒样颗粒分析。在某些实施方式中,在一种或更多种以下分析:血细胞凝集分析、融合分析或出芽分析中评估本文描述的嵌合HA多肽的活性。

[0295] 5.11.2测试使用嵌合流感病毒血细胞凝集素多肽产生的抗体的活性的分析

[0296] 在以本领域技术人员已知的多种方式表征本文描述的抗体(例如,ELISA、表面等离子体共振展示(BIAcore)、Western印迹、免疫荧光、免疫染色和/或微量中和分析)。这样的分析可以在溶液中(例如,Houghten,1992,Bio/Techniques 13:412-421),在珠子上(Lam,1991,Nature 354:8284)、在芯片上(Fodor,1993,Nature 364:555-556)、在细菌上(美国专利No.5,223,409)、在孢子上(美国专利Nos.5,571,698;5,403,484;和5,223,409)、

在质粒上 (Cull et al, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:1865-1869)、或在噬菌体上 (Scott and Smith, 1990, Science 249:386-390; Cwirla et al, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:6378-6382; 以及 Felici, 1991, J. Mol. Biol. 222:301-310) 进行 (这些参考文献的每一个通过引用以其整体合并在本文中)。

[0297] 可以通过本领域已知的任何方法评估抗体对嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽或其结构域的特异性结合以及与其他抗原的交叉反应性。可以用于分析特异性结合和交叉反应性的免疫分析包括但不限于竞争性和非竞争性分析系统, 利用一些技术, 例如 Western 印迹、放射免疫分析、ELISA (酶联免疫吸附测定)、“三明治法”免疫分析、免疫沉淀分析、沉淀素反应、凝胶扩散沉淀素反应、免疫扩散分析、凝集分析、补体固定分析、免疫放射分析、荧光免疫分析、蛋白质 A 免疫分析, 略举数例。这样的分析是常规的和本领域公知的 (参见, 例如, Ausubel et al., eds., 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., 通过引用以其整体合并在本文中)。

[0298] 抗体对嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽或其结构域的结合亲和力, 以及抗体-抗原相互作用的解离速率可以通过竞争性结合分析来测定。竞争性结合分析的一个实例是放射免疫分析, 包括在存在递增数量的未标记抗原的孵育下赋予标记的抗原 (例如 ^3H 或 ^{125}I) 和目标抗体, 并检测与所述标记的抗原结合的所述抗体。抗体对嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的亲合性以及结合解离速率可以通过 Scatchard 绘图分析从数据中确定。还可以使用放射免疫分析测定与第二抗体的竞争。在这种情况下, 嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽在存在递增数量的未标记的第二抗体的情况下与结合到标记化合物 (例如, ^3H 或 ^{125}I) 的测试抗体孵育。

[0299] 在具体的实施方式中, 抗体对嵌合 HA 多肽或其结构域的结合亲和力使用 Nachbagauer et al., mBio. 2016 Jan-Feb; 7 (1): e01996-15 中描述的分析测定。

[0300] 在某些实施方式中, 使用 KinExA 3000 系统 (Sapidyne Instruments, Boise, ID) 测量抗体结合亲和力和速率常数。在某些实施方式中, 使用表面等离子体共振 (例如, BIAcore kinetic) 分析来测定抗体对流感病毒血细胞凝集素多肽的结合和解离速率。在具体的实施方式中, 使用 Tan et al., PLoS Pathog. 2016 Apr; 12 (4): e1005578 中描述的分析来测定抗体对嵌合 HA 多肽的结合和解离速率。

[0301] 抗体的中和活性可以利用本领域技术人员已知的任何分析来测定。可以使用本领域技术人员已知的技术分析本文描述的抗体抑制流感病毒、或包含嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽的任何其他组合物与它的宿主细胞受体 (即, 唾液酸) 结合的能力。在具体的实施方式中, 使用以下文章之一中描述的分析来测定抗体的中和活性 Tan et al., PLoS Pathog. 2016 Apr; 12 (4): e1005578; Pica et al., Proc Natl Acad Sci USA. 2012 Feb 14; 109 (7): 2573-2578; 和 Nachbagauer et al., mBio. 2016 Jan-Feb; 7 (1): e01996-15。

[0302] 在其他实施方式中, 适用于本文描述的方法中的抗体不抑制流感病毒受体结合, 但仍然在本文描述的分析中被发现是中和性的。在某些实施方式中, 适合根据本文描述的方法使用的抗体在本领域已知的或本文描述的分析中抑制病毒-宿主膜融合。

[0303] 在一个实施方式中, 使用含有流感病毒的报告物和能够被所述病毒感染的宿主细胞在体外分析中分析病毒-宿主膜融合。如果与阴性对照 (例如, 在存在对照抗体或不存在抗体的情况下的报告物活性) 相比报告物活性被抑制或降低, 抗体抑制融合。在具体的实施方式中, 使用 Heaton et al., J Virol. 2013 Aug; 87 (15): 8272-81 中描述的报告物分析。

[0304] 5.11.3 抗病毒活性分析

[0305] 本文描述的抗体或其组合物可以在体外评估抗病毒活性。在一个实施方式中,所述抗体或其组合物在体外测试它们对流感病毒生长的影响。流感病毒的生长可以通过本领域已知的或本文描述的任何方法(例如,细胞培养)来评估。在具体的实施方式中,以0.0005和0.001、0.001和0.01、0.01和0.1、0.1和1、或1和10的MOI,或0.0005、0.001、0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1、5或10的MOI感染细胞,并与增补的无血清培养基孵育。通过血细胞凝集素蚀斑或本文描述的任何其他病毒分析,测定上清液中的病毒滴度。可以在其中评估病毒滴度的细胞包括但不限于EFK-2细胞、Vero细胞、MDCK细胞、原代人脐静脉内皮细胞(HUVEC)、H292人上皮细胞系和HeLa细胞。体外分析包括使用本领域公知的或本文描述的方法在体外测量培养的细胞中改变的病毒复制(例如,通过蚀斑形成所测定的)、或病毒蛋白质(例如,通过Western印迹分析所测定的)或病毒RNA(例如,通过RT-PCR或Northern印迹分析所测定的)的产生的那些分析。

[0306] 在一个非限制性实例中,目标哺乳动物细胞系的单层用不同数量(例如,3蚀斑形成单位(pfu)或5pfu的倍数)的病毒(例如,流感)感染,随后在存在或缺乏各种稀释度的抗体(例如,0.1 μ g/ml、1 μ g/ml、5 μ g/ml、或10 μ g/ml)的情况下培养。在感染后48小时或72小时收获感染的培养物,通过本领域已知的标准蚀斑分析在适当的靶细胞系(例如,Vero细胞)上进行滴定。

[0307] 在血细胞凝集分析的非限制性实例中,细胞与抗体接触,同时或随后用病毒(例如,1的MOI)感染,将病毒在允许病毒复制的条件下孵育(例如,20-24小时)。所述抗体优选地存在于整个感染过程中。然后使用0.5%的鸡红细胞通过血细胞凝集分析测定病毒复制和病毒颗粒的释放。参见,例如,Kashyap et al.,PNAS USA 105:5986-5991。在某些实施方式中,如果其降低病毒复制达至少2孔的HA,其等价于大约75%的病毒滴度降低,化合物被认为是病毒复制的抑制物。在具体的实施方式中,在这种分析中抑制物降低病毒滴度达到50%或更多、55%或更多、60%或更多、65%或更多、70%或更多、75%或更多、80%或更多、85%或更多、90%或更多、或95%或更多。在某些实施方式中,抑制物引起对象中病毒滴度的降低大约1log或更多、大约2logs或更多、大约3logs或更多、大约4logs或更多、大约5logs或更多、大约6logs或更多、大约7logs或更多、大约8logs或更多、大约9logs或更多、大约10logs或更多、1到3logs、1到5logs、1到8logs、1到9logs、2到10logs、2到5logs、2到7logs、2logs到8logs、2到9logs、2到10logs、3到5logs、3到7logs、3到8logs、3到9logs、4到6logs、4到8logs、4到9logs、5到6logs、5到7logs、5到8logs、5到9logs、6到7logs、6到8logs、6到9logs、7到8logs、7到9logs、或8到9logs。流感病毒滴度的log降低可以与阴性对照相比较、与另一种治疗相比较、或与施用抗体之前的所述患者中的滴度相比较。

[0308] 在血细胞凝集分析的非限制性实例中,细胞与抗体接触,同时或随后用病毒(例如,1的MOI)感染,将病毒在允许病毒复制的条件下孵育(例如,20-24小时)。所述抗体优选地存在于整个感染过程中。然后使用0.5%的鸡红细胞通过血细胞凝集分析测定病毒复制和病毒颗粒的释放。参见,例如,Kashyap et al.,PNAS USA 105:5986-5991。在某些实施方式中,如果其降低病毒复制达至少2孔的HA,其等价于大约75%的病毒滴度降低,化合物被认为是病毒复制的抑制物。在具体的实施方式中,在这种分析中抑制物降低病毒滴度达到50%或更多、55%或更多、60%或更多、65%或更多、70%或更多、75%或更多、80%或更多、

85%或更多、90%或更多、或95%或更多。在某些实施方式中,抑制物引起对象中病毒滴度的降低大约1 log或更多、大约2 logs或更多、大约3 logs或更多、大约4 logs或更多、大约5 logs或更多、大约6 logs或更多、大约7 logs或更多、大约8 logs或更多、大约9 logs或更多、大约10 logs或更多、1到3 logs、1到5 logs、1到8 logs、1到9 logs、2到10 logs、2到5 logs、2到7 logs、2 logs到8 logs、2到9 logs、2到10 logs、3到5 logs、3到7 logs、3到8 logs、3到9 logs、4到6 logs、4到8 logs、4到9 logs、5到6 logs、5到7 logs、5到8 logs、5到9 logs、6到7 logs、6到8 logs、6到9 logs、7到8 logs、7到9 logs、或8到9 logs。流感病毒滴度的log降低可以与阴性对照相比较、与另一种治疗相比较、或与施用抗体之前的所述患者中的滴度相比较。

[0309] 5.11.4细胞毒性分析

[0310] 本领域公知的许多分析可以用于评估在暴露于活性化合物之后细胞(感染的或未感染的)或细胞系的生存力,因而测定化合物或组合物的细胞毒性。例如,细胞增殖可以通过测量溴脱氧尿核苷(BrdU)掺入(参见,例如Hoshino et al.,1986,Int.J.Cancer 38,369;Campana et al,1988,J.Immunol.Meth.107:79)、(3H)-胸腺嘧啶核苷掺入(参见,例如Chen,J.,1996,Oncogene 13:1395-403;Jeoung,J.,1995,J.Biol.Chem.270:1836773)、通过直接细胞计数、通过检测在已知基因如原癌基因(例如,fos,myc)或细胞周期标记物(Rb、cdc2、cyclin A、D1、D2、D3、E,等等)的转录、翻译或活性方面的改变来分析。这样的蛋白质和mRNA的水平和活性可以通过本领域公知的任何方法来测定。例如,蛋白质可以通过已知的免疫诊断方法例如ELISA、Western印迹或免疫沉淀、利用抗体包括商业上可获得的抗体来测定。mRNA可以使用本领域公知的和常规的方法来定量,例如,使用northern分析、RNase保护、聚合酶链式反应连同逆转录。细胞生存力可以通过使用锥石蓝染色或其他本领域已知的细胞死亡或生存力标记物来评定。在具体的实施方式中,测量细胞ATP的水平来确定细胞生存力。

[0311] 在具体的实施方式中,使用本领域标准的分析,例如测量细胞内ATP水平的CellTiter-Glo分析试剂盒(Promega),在三天和七天的时间段内测量细胞生存力。细胞的ATP的降低是细胞毒性效果的指示。在另一个具体的实施方式中,细胞生存力可以在中性红摄取分析中测量。在其他实施方式中,形态变化的视觉观察可以包括膨大、粒度、具有粗糙边缘的细胞、薄膜外观、圆化、从反应孔的表面脱离、或其他改变。对这些改变给予与所见的细胞毒性程度相符的指示T(100%毒性)、PVH(部分毒性-非常重-80%)、PH(部分毒性-重-60%)、P(部分毒性-40%)、Ps(部分毒性-轻微-20%)或0(无毒-0%)。通过对这些数据的回归分析确定50%细胞抑制(细胞毒性)浓度(IC50)。

[0312] 在具体的实施方式中,细胞毒性分析中使用的细胞是动物细胞,包括原代细胞和细胞系。在某些实施方式中,所述细胞是人类细胞。在某些实施方式中,在一种或更多种以下细胞系中评估细胞毒性:U937,一种人类单核细胞细胞系;原代外周血单核细胞(PBMC);Huh7,一种人类肝胚细胞瘤细胞系;293T,一种人类胚肾细胞系;和THP-1,单核细胞。在某些实施方式中,在一种或更多种以下细胞系中评估细胞毒性:MDCK、MEF、Huh 7.5Detroit或人类气管支气管上皮(HTBE)细胞。

[0313] 可以在动物模型中测试活性化合物或其组合物的体内毒性。例如,本文描述的和/或本领域已知的用于测试活性化合物的活性的动物模型也可以用于测试这些化合物的体

内毒性。例如,向动物施用一系列浓度的活性化合物。随后,随着时间监测动物的致死率、体重减轻或体重增加不足,和/或可指示组织损伤的血清标志物水平(例如,作为一般组织损伤的指标的肌酸磷酸激酶水平,作为可能的肝损伤的指标的谷草转氨酶或丙酮酸转氨酶水平)。这些体内分析也可以适合于测试除了剂量之外的各种施用方式和/或方案的毒性。

[0314] 活性化合物的毒性和效力可以通过在细胞培养物或实验动物中的标准药理学过程来测定,例如,测定LD₅₀(对50%群体的致死剂量)和ED₅₀(在50%的群体中治疗有效的剂量)。毒性效应和治疗效应之间的剂量比是治疗指数,它可以表示为比值LD₅₀/ED₅₀。展现大的治疗指数的活性化合物是优选的。当使用展现了毒性副作用的活性化合物时,应当小心地设计递送系统,所述递送系统将这样的试剂靶向受影响组织以最小化对未受影响细胞的潜在损害,从而降低副作用。

[0315] 从细胞培养分析和动物研究获得的数据可被用于配制用于人类的活性化合物剂量范围。这些试剂的剂量优选地处在包括很小或没有毒性的ED₅₀的循环浓度范围内。取决于采用的剂型和使用的给药途径,剂量可以在这个范围内变动。对于在本文描述的中使用的任何活性化合物,最初可以从细胞培养分析来估计治疗有效剂量。可以在动物模型中配制剂量来达到包括在细胞培养中测定的IC₅₀的循环血浆浓度范围(即,达到症状的半最大抑制的测试化合物的浓度)。这种信息可用于更精确地测定人类中有用的剂量。例如,可以通过高性能液相色谱测量血浆中的水平。本文提供了关于剂量确定的其他信息。

[0316] 进一步的,本领域技术人员已知的任何分析可以用于评估本文描述的活性化合物以及组合物的预防和/或治疗功用,例如,通过测量病毒感染或与之相关的状况或症状。

[0317] 本文描述的以及本领域技术人员已知的细胞毒性分析对于活的减毒流感病毒是特别有用的。

[0318] 5.11.5体内抗病毒活性

[0319] 优选地在人类中使用之前在体内分析活性化合物及其组合物的期望的治疗或预防活性。例如,体内分析可以用于确定施用活性化合物或其组合物和/或另一种治疗是否是优选的。例如,为了评估活性化合物或其组合物用于预防流感病毒疾病的用途,可以在用流感病毒感染动物之前施用所述组合物。做为选择或另外地,可以在用流感病毒感染动物的同时向所述动物施用活性化合物或其组合物。为了评估活性化合物或其组合物用于治疗流感病毒感染或与之相关的疾病的用途,可以在用流感病毒感染动物之后施用所述化合物或组合物。在具体的实施方式中,活性化合物或其组合物被施用给所述动物超过一次。

[0320] 活性化合物及其组合物可以在动物模型系统中测试抗病毒活性,包括但不限于大鼠、小鼠、鸡、牛、猴、猪、雪貂、山羊、绵羊、狗、兔、豚鼠,等。在具体的实施方式中,活性化合物及其组合物在小鼠模型系统中测试。这种模型系统是广泛使用的,并且是技术人员公知的。在具体的实施方式中,活性化合物及其组合物在小鼠模型系统中测试。在本章节中提供了用于流感病毒的动物模型的非限制性实例。

[0321] 一般地,用流感病毒感染动物,同时地或随后地用活性化合物或其组合物、或安慰剂治疗。做为选择,动物用活性化合物或其组合物或安慰剂治疗,随后用流感病毒感染。从这些动物获得的样品(例如,血清、尿液、痰液、精液、唾液、血浆或组织样品)可以通过本领域公知的方法测试病毒复制,例如,测量改变的病毒滴度(例如,通过蚀斑形成测定的)、病毒蛋白质产生(例如,通过Western印迹、ELISA,流式细胞术分析测定的)或病毒核酸产生

(例如,通过RT-PCR或Northern印迹分析测定对抗的那些方法。对于组织样品中病毒的定量,在磷酸盐缓冲盐水(PBS)中将组织样品均质化,澄清的组织匀浆的稀释液在37℃下吸附在细胞单层(例如,Vero CEF或MDCK细胞)上1小时。在其他分析中,在感染之后进行组织病理学评估,优选地评估已知是病毒感染的靶标的器官。可以使用病毒特异性单克隆抗体进行病毒免疫组织化学。

[0322] 活性化合物或其组合物对病毒毒力的影响也可以使用体内分析来测定,其中评估施用了活性化合物或其组合物的感染对象中病毒的滴度、施用了活性化合物或其组合物的感染对象的存活时长、施用了活性化合物或其组合物的感染对象中的免疫应答、施用了活性化合物或其组合物的感染对象中症状的数量、持续时间和/或严重度、和/或施用了活性化合物或其组合物的感染对象中一种或更多种症状发作之前的时间期。本领域技术人员已知的技术可以用于这样这样的作用。在某些实施方式中,活性化合物或其组合物引起相对于未治疗的对象0.5倍、1倍、2倍、4倍、6倍、8倍、10倍、15倍、20倍、25倍、50倍、75倍、100倍、125倍、150倍、175倍、200倍、300倍、400倍、500倍、750倍、或1000倍或更大的流感病毒滴度降低。在某些实施方式中,活性化合物或其组合物引起相对于患有流感病毒感染的未治疗对象流感病毒滴度的降低大约1 log或更多、大约2 logs或更多、大约3 logs或更多、大约4 logs或更多、大约5 logs或更多、大约6 logs或更多、大约7 logs或更多、大约8 logs或更多、大约9 logs或更多、大约10 logs或更多、1到3 logs、1到5 logs、1到8 logs、1到9 logs、2到10 logs、2到5 logs、2到7 logs、2 logs到8 logs、2到9 logs、2到10 logs、3到5 logs、3到7 logs、3到8 logs、3到9 logs、4到6 logs、4到8 logs、4到9 logs、5到6 logs、5到7 logs、5到8 logs、5到9 logs、6到7 logs、6到8 logs、6到9 logs、7到8 logs、7到9 logs、或8到9 logs。

[0323] 已经描述了为了测试针对流感病毒的抗病毒剂而开发的流感病毒动物模型,例如,雪貂、小鼠、豚鼠、松鼠、猴、恒河猴和鸡。参见,例如,Sidwell et al, *Antiviral Res.*, 2000, 48:1-16; Lowen A.C. et al. *PNAS.*, 2006, 103:9988-92; 和 McCauley et al, *Antiviral Res.*, 1995, 27:179-186 以及 Rimmelzwann et al, *Avian Diseases*, 2003, 47: 931-933。对于流感的小鼠模型,可以用于分析施用给流感感染的小鼠的活性化合物的抗病毒活性参数的非限制性实例包括肺炎相关的死亡、血清 α 1酸性糖蛋白提高、动物体重、通过血细胞凝集素分析的肺部病毒、通过蚀斑分析分析的肺部病毒、以及肺部的组织病理学改变。进行统计分析来计数显著性(例如,0.05或更低的P值)。

[0324] 在其他分析中,在动物模型对象的感染之后进行组织病理学评估。可以检查鼻部鼻甲和气管的上皮改变和上皮下的炎症。可以检查肺的细支气管上皮改变和大、中、小或末端细支气管中的细支气管周的炎症。还评估肺泡的炎性改变。中等细支气管按照0至3+的等级分级如下:0(正常:由中到高的柱状上皮细胞排列,具有纤毛的顶端边缘和基底假复层细胞核;最小的炎症);1+(上皮层柱状,甚至在轮廓上,只有轻微增加的增殖;纤毛在许多细胞上仍然可见);2+(上皮层的显著变化,从衰减到显著的增殖;细胞结构破坏,层边缘在管腔边缘不规则);3+(上皮层明显破坏和结构破坏并且在管腔中可见坏死细胞;一些细支气管减弱,其他细胞有明显的反应性增殖)。

[0325] 气管按0至2.5+分级如下:0(正常:由中到高的柱状上皮细胞排列,具有纤毛的顶端边缘,核基底和假复层。顶端边界和细胞核之间明显的细胞质。偶尔的鳞状细胞小病灶);

1+ (上皮层的局灶性鳞状上皮化生); 2+ (大部分上皮层弥漫性鳞状化生, 纤毛可明显局灶性); 2.5+ (弥漫性鳞状化生, 纤毛很少)。

[0326] 使用病毒特异性单克隆抗体 (例如, NP-、N-或HN-特异性单克隆抗体) 进行病毒免疫组织化学。染色按0至3+分级如下: 0 (无感染细胞); 0.5+ (少数感染细胞); 1+ (少数感染细胞, 作为广泛分离的个体细胞); 1.5+ (少数感染细胞, 广泛分离的单个细胞和小团体); 2+ (中等数量的感染细胞, 通常影响细支气管上皮细胞层的相邻细胞簇, 或肺泡内小的小叶下灶); 3+ (许多感染细胞, 影响细支气管中的大部分上皮层, 或广泛存在于肺泡的大的小叶下灶)。

[0327] 在一个实例中, 使用野生型病毒和模拟病毒比较病毒感染动物模型中诱导肺部病变和导致感染的能力。肺部病变可以通过视觉检查评估为健康的肺叶的百分比。在p.i. 5天后通过静脉内施用戊巴比妥对动物进行安乐死, 将它们的肺全部取出。视觉上估计受到肉眼可见损伤影响的每个肺叶表面的百分比。将百分比平均以获得每只动物的7个肺叶的平均值。在其他分析中, 可以测试鼻拭子以确定病毒负荷或滴度。在尸体剖检期间可以采集鼻拭子以确定感染后的病毒负荷。

[0328] 在一个实施方式中, 对组织样品中的病毒进行定量。例如, 将组织样品在磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中匀浆, 并将澄清的组织匀浆的稀释液在37℃下吸附到单层细胞 (例如MDCK细胞) 上1小时。然后用含有0.1%牛血清白蛋白 (BSA)、0.01% DEAE-葡聚糖、0.1% NaHCO₃ 和1% 琼脂的最小必需培养基溶液覆盖感染的单层细胞。将平板孵育2至3天, 直到可以观察到蚀斑。用于从PR8感染的样品中滴定病毒的组织培养感染剂量 (TCID) 分析如下进行。将96孔板中的汇合的单层细胞 (例如, MDCK细胞) 与对数稀释的澄清组织匀浆在培养基中孵育。接种后2至3天, 通过血细胞凝集分析 (HA分析) 评估来自每个孔的0.05ml等分量的病毒生长。

[0329] 5.11.5.1.1 人类中的分析

[0330] 在一个实施方式中, 在感染的人类对象中评估调节流感病毒复制的活性化合物或其组合物。根据这一实施方式, 将活性化合物或其组合物施用给人类对象, 通过例如分析生物样品 (例如, 血清或血浆) 中病毒或病毒核酸的水平, 来确定所述活性化合物或组合物对病毒复制的影响。改变病毒复制的活性化合物或其组合物可以通过比较用对照治疗的对象或对象组中的病毒复制水平与用活性化合物或其组合物治疗的对象或对象组中的病毒复制水平来鉴定。做为选择, 可以通过比较给予活性化合物或其组合物之前和之后对象或对象组中病毒复制的水平来鉴定病毒复制的改变。可以使用本领域技术人员已知的技术来获得生物样品并分析mRNA或蛋白质表达。

[0331] 在另一个实施方式中, 在感染的对象中评估活性化合物或其组合物对与流感病毒感染/疾病相关的一种或多种症状的严重性的影响。根据这一实施方案, 将活性化合物或其组合物或对照给予患有流感病毒感染的人类对象, 并确定活性化合物或组合物对病毒感染的一种或多种症状的作用。通过将用对照治疗的对象与用活性化合物或组合物治疗的对象进行比较, 可以鉴定减轻一种或多种症状的活性化合物或其组合物。在具体的实施方式中, 施用活性化合物 (例如, 本文描述的嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽) 或其组合物导致由流感病毒疾病或感染引起的人或人群的住院治疗减少。在另一个具体实施方案中, 施用活性化合物 (例如, 本文描述的嵌合血凝素 (HA) 多肽) 或其组合物导致对患有流感病毒疾病或感染的人或人群的呼吸/呼吸辅助的需求减少。在另一个具体的实施方式中, 施用活性化合物 (例

如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽)或其组合物导致患有流感病毒疾病或感染的人或人群的患病时长降低。在另一个具体的实施方式中,施用活性化合物(例如,本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽)或其作为引起肺容积的改善(例如,增加),例如通过全身或肺部体积描记法评估。在另一个实施方案中,将活性化合物或其组合物施用于健康人对象并监测作为疫苗的功效(例如,监测对象的流感病毒感染症状的发作;流感病毒感染对象的能力;和/或减少/不存在与流感病毒感染相关的一种或多种症状)。熟悉传染病的医生已知的技术可用于确定活性化合物或其组合物是否减少与流感病毒疾病相关的一种或多种症状。

[0332] 5.12试剂盒

[0333] 本文提供的是药物包装或试剂盒,其包含装有本文描述的药物/免疫原性组合物的一种或多种成分,例如本文提供的一种或更多种活性化合物的一个或多个容器。任选的,与这种容器相关的可以是管理药物或生物产品的制造、使用或销售的政府机构所规定形式的注意事项,所述注意事项反映了所述制造、使用或销售的机构批准用于人类施用。

[0334] 本文涵盖的试剂盒可以根据本文描述的方法使用。在一个实施方式中,试剂盒包含处于一个或更多个容器中的本文描述的活性化合物,优选的一种或更多种嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。在某些实施方式中,试剂盒包含本文描述的疫苗,例如,裂解病毒疫苗、亚单位疫苗、灭活流感病毒疫苗或活流感病毒疫苗,其中所述疫苗包含一种或更多种本文描述的嵌合血细胞凝集素(HA)多肽。

6. 实施例

[0335] 6.1实施例1:设计和掺入嵌合血细胞凝集素作为针对乙型流感病毒的通用疫苗接种策略

[0336] 虽然通用疫苗接种策略的重点主要针对甲型流感病毒毒株,但乙型流感病毒仍然是年度疫苗的重要组成部分。普遍靶向乙型流感病毒毒株的一种策略是用来自外来的甲型流感病毒株的序列替换血细胞凝集素(HA)头部的优势抗原位点。通过替换这些抗原环,已经产生了容易通过反向遗传学掺入到功能性病毒中的嵌合HA。进行了所述嵌合HA以及表达这些HA的病毒的初步的体外表征,包括生长分析和表面表达。另外,通过替换抗原性位点,与野生型HA相比,具有嵌合HA的病毒在HI终点滴度方面的降低是明显的,强调了所述抗原性位点在功能上已被改变。在未来的研究中,将进一步评估这些嵌合病毒在动物中在攻击期间提供保护的能力。

[0337] 6.1.1材料和方法

[0338] 结构覆盖:使用Pymol软件进行结构覆盖。

[0339] 序列比对:使用BioEdit软件进行HA的序列比对以确定相应的环/螺旋序列。

[0340] 蚀斑分析步骤1:制备2x培养基用于琼脂糖覆盖(50mL总体积:25mL 2xMEM, 8mL WFI水, 660μL碳酸氢钠, 500μL糊精)并保存在37℃的水浴中。步骤2:如下进行病毒稀释(所用稀释度取决于样品和预期滴度):(a)将PBS/1%BSA+1%青霉素/链霉素与Ca²⁺/Mg²⁺混合,并向每个管中加入450μL用于稀释;(b)向第一个管中加入50μL病毒,将管混合,然后将来自该管的50μL加入到下一个管中,等等。步骤3:将预铺板的细胞在含有1mL PBS的6孔板中洗涤。步骤4:向每个孔中加入300μL病毒稀释液(来自步骤2);从最大稀释到最小稀释以避免浓度变

动。步骤5:吸附:将细胞在33℃或37℃(取决于病毒)孵育1小时;每10-15分钟摇晃。步骤6:当吸附几乎完成时,将2%琼脂糖在微波中加热,并将15mL加入到来自步骤1的培养基中。步骤7:将1/1000稀释的TPCK(N-甲苯磺酰基-L-苯丙氨酰基氯甲基酮)处理的胰蛋白酶(1mg/mL)加入到来自步骤1的培养基中(得到浓度为1μg/mL)。步骤8:将琼脂糖/培养基/胰蛋白酶混合物均匀地倒在6孔板(2mL/孔)上并使其硬化而不会干扰覆盖层。取决于病毒,将平板在33℃下保存72小时或37℃下48小时。

[0341] 免疫染色:蚀斑分析使用PBS中的4%甲醛进行固定。用PBS/脱脂奶粉溶液封闭细胞,并在该混合物中制备抗体。将针对A/Puerto Rico/8/34(PR8)病毒或含有荧光素酶基因的PR8病毒产生的多克隆小鼠血清用作一抗,并孵育至少2小时。在施加二抗之前用PBS洗涤反应孔。将第二抗小鼠HRP抗体加入PBS/脱脂奶粉封闭溶液中并孵育至少1小时。使用TrueBlue染料进行染色,用水洗除去染色。

[0342] MDCK细胞中的生长曲线:在6孔组织培养液处理的平板中平铺细胞形成汇合的单层。要表征的病毒在PBS/BSA中稀释。在向每个细胞反应孔中添加病毒样品之前,除去生长培养基,用PBS洗涤细胞一次。每个反应孔添加300微升的每种病毒样品,具有其相应时间点的每种病毒有独立的反应孔。添加了接种物的平板在33摄氏度下孵育1小时。在每个指定的时间点(8、24、48、72小时)从反应孔中移除上清液并保存。用一系列稀释度的每种样品进行蚀斑分析,以滴定获自所述时程的样品中存在的病毒的数量。使用GraphPad Prism软件标绘数据。

[0343] 表面染色:在转染之前一天平铺293T细胞。使用Lipofectamine 2000,细胞用500ng的空载体质粒(pDZ)或期望的HA构建体转染。1-2天后,固定细胞,用适当的抗体(多克隆血清或单克隆抗体)染色进行分析。抗小鼠Alexa488抗体用作二抗用于可视化。在荧光显微镜上显现染色的细胞。

[0344] HI分析:在进行HI分析之前,根据制造商的说明书,用100单位/mL的Receptor-Destroying Enzyme(BioWhittaker,Walkersville,MD)预处理任何用作抗体的血清。这产生用于HI分析的、1:10稀释度起始浓度(最高)的血清。对测试病毒和阳性对照病毒进行HA分析,确定所述稀释度产生8HAU(4个阳性反应孔)。这种标准化的病毒用于进行分析。为了寻找将产生4个反应孔的稀释度,最后一个阳性反应孔除以8。这提供了稀释因数,即,如果具有阳性凝集的最后稀释度是128HAU,则在进行以下计算后获得8HAU:128/8=16。为了产生8HAU,进行1:16稀释。为了确定新的稀释度的滴度是8HAU,进行反滴定。

[0345] 在平板上包括以下对照泳道:(A)含有PBS+病毒的泳道(无抗体);(B)50μL PBS(无抗体)并且没有病毒的泳道。在平板上,将50μL抗体添加到第1列,25μL PBS添加到其他反应孔中。将来自第一列的25μL转移到第二列(2倍稀释度的抗体),直到具有单独的PBS和没有抗体的最后一列。每个反应孔具有25μL的所述稀释液。将25μL的适当的病毒添加到所有其他反应孔中(测试病毒,或阳性对照病毒)。添加PBS作为“无病毒”对照。在室温下将病毒和抗体预孵育30分钟。照例添加50μL的PBS中0.5%的RBC(鸡或火鸡)用于血细胞凝集分析。平板在4℃保持30分钟。用扫描器捕获结果的图像。

[0346] 嵌合HA的产生:HA构建体的设计基于Wang et al.,2008,Journal of Virology, 82(6):3011-3020描述的对每个环或螺旋确定的相应残基。通过蛋白质结构比对和序列比对确定相应的残基。非编码区、信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域来源于流感A/Puerto

Rico/8/34病毒。在某些情况下,所述非编码区、信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域将来源于其他甲型流感病毒HA序列,或来自Victoria、Yamagata或可能更有历史的谱系的病毒的乙型流感HA序列。

[0347] 为产生嵌合HA构建体,合成HA。做为选择,通过对早先构建的质粒进行PCR、或通过使用这些PCR产物(每个产物之间至少15个核苷酸重叠)在In-fusion® (Clontech) 克隆反应期间产生HA片段。为了将HA片段插入它的载体中,使用SAPI限制酶将质粒pDZ线性化。每个HA片段含有与pDZ线性化载体重叠的15个核苷酸。在用于合成HA的设计期间包括这种重叠区域,或者通过将该序列添加到在PCR期间从HA的非编码区扩增的引物来人工添加。

[0348] 通过使用如制造商Clontech所描述的反应缓冲液,用产生的HA产物和线性化的pDZ进行In-fusion® 克隆反应。调节HA的PCR片段、合成的HA或线性化的pDZ载体的数量以具有相等的摩尔比(根据片段长度计算)。在PCR仪中在50℃下孵育In-fusion® 反应15分钟,然后移除。产生的克隆产物转化到Stellar细胞中,平铺于含有氨苄西林的LB平板上。筛选产生的菌落中正确的HA插入序列的存在,并且可以生长并纯化为DNA的mini-、midi-或maxi-preps。这产生最后的质粒产品。最终产品的浓度通过例如使用Nanodrop的方法来测定。

[0349] 6.1.2结果

[0350] 为了产生可以充当通用疫苗候选物的乙型流感病毒嵌合HA,根据来自H5、H8或H12亚型的甲型流感病毒(分别为流感A/Vietnam/1203/04病毒(HALo)、流感A/mallard/Sweden/24/2002病毒和流感A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007病毒)的球形头部结构域的抗原性位点,对流感B/Yamagata/16/88病毒的乙型流感病毒球形头部结构域中的关键抗原性位点进行修饰(称为“嵌合HA”) (附图1)。还产生了一些构建体,其中根据来自H11亚型的甲型流感病毒(流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99病毒)的球形头部结构域的抗原性位点,对流感B/Yamagata/16/88病毒的乙型流感病毒球形头部结构域中的关键抗原性位点进行修饰。具体地,基于来自甲型流感病毒的球形头部结构域的抗原性位点进行修饰的乙型流感病毒球形头部结构域的抗原性位点是120环、150环、160环和/或190螺旋(120环、150环、160环和190螺旋的说明参见Wang et al., 2008, Journal of Virology, 82 (6) :3011-3020)。拯救表达这些嵌合HA的病毒。

[0351] 基于来自流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒球形头部结构域的氨基酸,对流感B/Yamagata/16/88病毒HA球形头部的150环相关的氨基酸残基进行修饰(附图3A,附图3B)。具体地,流感B/Yamagata/16/88病毒HA 150环的氨基酸序列PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 替换为来自流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒球形头部结构域的氨基酸序列PYQGKSS (SEQ ID NO:19) (附图3A)。流感A/Puerto Rico/8/34病毒(“PR8”) 用作拯救表达这种嵌合HA构建体的病毒的主干(即, PB2、PB1、PA、NP、NA、M和NS来自PR8)。此外,所述嵌合HA构建体的非编码区、信号肽、跨膜结构域和细胞质尾部来自PR8。成功地拯救了这一病毒,具有 5.0×10^8 蚀斑形成单位(PFU)/mL的储备滴度(附图3C)。此外,与表达包含PR8的非编码区、信号肽、跨膜结构域和细胞质尾部,以及流感B/Yamagata/16/88病毒血细胞凝集素的胞外域的对照抗体相比,当在33℃下在MDCK相比中生长时,这种病毒不是减毒的(附图4)。来自B/Yamagata/16/88的HA多肽的150环氨基酸残基被替换为来自A/Vietnam/1203/04 (HALo) HA多肽的氨基酸残基的这种病毒,与其中150环残基仍然来自B/Yamagata/16/88的它的病毒对应物相比,在

MDCK相比中具有相似的生长动力学并生长到相似的峰滴度。这表明,替换150环抗原性位点不削弱这种病毒的生长。根据使用抗甲型流感病毒H5血清对用表达这种嵌合HA多肽的质粒转染的293T细胞进行的免疫荧光染色测定,这种嵌合HA多肽保持了它被抗甲型流感病毒H5血清识别的能力。附图5评估了移植到B/Yamagata/16/88 HA胞外域中的H5 150环表位是否保持了构象性完整性。使用具有抗H5活性的小鼠多克隆血清研究了完整的构象。如所预计的,用空载体(pDZ)转染的细胞不被抗H5血清染色。还如所预计的是,抗H5血清不结合第二阴性对照,在所述第二阴性对照中转染的HA具有B/Yamagata/16/88胞外域和A/Puerto Rico/8/34包装信号(非编码区(核苷酸)、信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域)。这是预期的,因为胞外域中不存在H5区。针对阳性对照cH5/3HA见到抗H5血清的染色。这一构建体表达具有H5头部结构域和Perth(H3)柄部结构域的HA蛋白。在这种情况下仅HA头部将被染色(非柄部)。最后,具有H5 150环、B/Yamagata/16/88胞外域和A/Puerto Rico/8/34包装信号(非编码区(核苷酸)、信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域)的构建体能被抗H5血清染色。与用cH5/3HA观察到的染色相比,观察到该染色以较低的程度发生。不受任何特定理论的限制,该降低的染色可能是与完整的HA头部相比,抗H5血清将仅识别移植的150环。通过用来自流感A/mallard Sweden/24/2002病毒(H8)、或流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99病毒(H11)的氨基酸替换流感B/Yamagata/16/88病毒HA的150环,也构建了类似的嵌合HA,按类似的方式拯救病毒。通过用来自流感A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007病毒(H12)的氨基酸置换流感B/Yamagata/16/88病毒HA的150环,还构建了类似的嵌合HA。

[0352] 通过用来自流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒球形头部结构域的氨基酸残基修饰的流感B/Yamagata/16/88病毒HA球形头部的190螺旋的NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 序列,产生其他的嵌合HA构建体。具体地,设法用来自流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒球形头部结构域的氨基酸序列NDAAEQT置换的流感B/Yamagata/16/88病毒HA球形头部的190螺旋的氨基酸序列NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 序列。然而,至此为止不能拯救表达这种构建体的病毒。因而,保留了保守的残基,即来自流感B/Yamagata/16/88病毒HA球形头部结构域的190螺旋的氨基酸序列NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 的M氨基酸残基。因而,流感B/Yamagata/16/88病毒HA球形头部结构域的190螺旋的NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 序列,用氨基酸序列NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 替换(附图6A和附图6B)。如上述,PR8用作拯救表达这种嵌合HA构建体的病毒的主干(即,PB2、PB1、PA、NP、NA、M和NS来自PR8)。此外,这种嵌合HA构建体的非编码区、信号肽、跨膜结构域和细胞质尾部来自PR8。成功地拯救了这一病毒,具有 5.3×10^8 蚀斑形成单位(PFU)/mL的储备滴度(附图6C)。

[0353] 通过对来自流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒球形头部结构域的160环的RDNKTA (SEQ ID NO:5) 序列的修饰,产生其他嵌合HA构建体。具体地,流感B/Yamagata/16/88病毒的160环的氨基酸序列RDNKTA (SEQ ID NO:5) 替换为氨基酸序列KKNSTY (SEQ ID NO:6) (在流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒球形头部结构域中不存在的N和T氨基酸,必需自流感B/Yamagata/16/88病毒HA球形头部结构域中保留,以拯救该病毒)(附图7A和附图7B)。如上述,PR8用作拯救表达这种嵌合HA构建体的病毒的主干(即,PB2、PB1、PA、NP、NA、M和NS来自PR8)。此外,这种嵌合HA构建体的非编码区、信号肽、跨膜结构域和细胞质尾部来自PR8。成功地拯救了这一病毒,具有 7.3×10^8 蚀斑形成单位(PFU)/mL的储备滴度(附图7C)。

[0354] 通过用来自流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒球形头部结构域的氨基酸残基修饰的流感B/Yamagata/16/88病毒HA球形头部的120环的氨基酸残基,产生其他的嵌合HA构建体。所述120环的氨基酸序列是NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1),所述球形头部的位置90-92 (相应于未成熟HA的编号,即,包括信号序列) 的氨基酸序列是TIP (附图8A)。基于流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒的球形头部结构域的氨基酸序列进行氨基酸取代。产生的嵌合HA多肽包含序列FIP和KIQLSTKNVINAEPGGPYRL (SEQ ID NO:2),分别代替TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 序列 (附图8A和附图8B) 以及位置90-92处的TIP。

[0355] 评估这些嵌合HA结合交叉保护性抗体的能力,所述交叉保护性抗体结合流感病毒柄部和/或头部结构域。为此,使用抗体CR9114、5A7、CR8059、CR8033和抗体X。这些抗体的概述在下文表2中提供。

[0356] 表2. 使用的交叉保护性抗体

[0357]

抗体	头部或柄部反应	谱系特异性?
----	---------	--------

[0358]

	性	
CR9114	柄部	结合甲型流感病毒和乙型流感病毒 (两种谱系)。中和甲型流感而非乙型流感,微量中和。在体内对甲型流感 and 乙型流感是保护性的
5A7	柄部, 靠近 HA1 的 C-末端 (接近头/柄部界面)	广泛中和来自 Victoria 和 Yamagata 系的病毒 (体外)
CR8059 (CR8071 是稳定的变体)	头部	结合并中和 Yamagata 和 Victoria 系 (微量中和); 对任一种没有 HI 反应性)
CR8033	头部	结合并中和 Yamagata 和 Victoria 系 (微量中和); 仅对 Yamagata 系有 HI 活性
抗体 X	头部	结合并中和 Yamagata 和 Victoria 系 (蚀斑降低, 微量中和); 无 HI 活性

[0359] 测试的嵌合HA多肽保持了它们被测试的抗柄部和抗头部抗体识别的能力 (附图9)。用已知结合甲型流感HA头部或柄部结构域的单克隆抗体在转染的293T细胞上进行表面染色 (附图9)。

[0360] 最后,测试所述嵌合HA的HI活性,以确定乙型流感病毒的抗原环是否被成功地替换。具体地,使用小鼠 (附图10A) 或雪貂 (附图10B) 血清进行HI分析。所述嵌合HA多肽展现了激烈地降低毒株特异性的HI活性。

[0361] 在附图10A中,使用小鼠血清、以及具有流感B/Yamagata/16/88 HA胞外域和A/Puerto Rico/8/34 HA包装信号 (非编码区 (核苷酸)、信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域) 的病毒或在该环境中3个环 (150环、160环、190螺旋) 或者4个环 (120环、150环、160环、190螺旋) 用A/Vietnam/1203/04 H5 HA氨基酸序列替换的病毒,进行血细胞凝集抑制 (HI)

分析。与具有完整的乙型流感病毒HA胞外域的病毒相比,具有4个环中的3个的病毒具有更低的HI滴度。这是一种间接的方法以评估乙型流感病毒HA内的抗原性位点,所述抗原性位点通过换入外来的甲型流感病毒HA序列(例如,来自H5的那些)被替换或删除。

[0362] 在附图10B中,使用雪貂血清、以及具有流感B/Yamagata/16/88 HA胞外域和A/Puerto Rico/8/34 HA包装信号(非编码区(核苷酸)、信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域)的病毒或在该环境中3个环(150环、160环、190螺旋)或者4个环(120环、150环、160环、190螺旋)用A/Vietnam/1203/04 H5 HA氨基酸序列替换的病毒,进行血细胞凝集抑制(HI)分析。与具有完整的乙型流感病毒HA胞外域的病毒相比,具有4个环中的3个的病毒具有更低的HI滴度。这是一种间接的方法以评估乙型流感病毒HA内的抗原性位点,所述抗原性位点通过换入外来的甲型流感病毒HA序列(例如,来自H5的那些)被替换或删除。

[0363] 还可以通过用来自甲型流感病毒(例如,H5、H8、H11、或H12亚型的)的氨基酸残基修饰乙型流感病毒HA的120环、150环、160环和190螺旋的每一个,来产生嵌合HA(参见,例如,附图11)。做为选择,所述120环、150环、160环和/或190螺旋可以用随机化的氨基酸残基或来自甲型流感病毒例如H11型甲型流感病毒的氨基酸进行修饰。

[0364] 表3提供了迄今为止在甲型流感病毒主干中克隆、表达和拯救的嵌合HA构建体的概述。这些嵌合HA构建体也可以在乙型流感病毒主干中拯救。使用来自流感B/Yamagata/16/88病毒的HA序列以及来自一种或更多种以下的HA序列产生了所有嵌合HA构建体:流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) (H5) 病毒、流感A/mallard/Sweden/24/2002病毒 (H8)、流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99病毒 (H11) 和/或流感A_mallardinterior Alaska_7MP0167_2007病毒 (H12)。3环设计是指一种嵌合HA构建体,其中150环、160环和190螺旋已经用来自指定流感病毒HA亚型 (H5、H8、H11或H12) 的相应的环进行修饰。4环设计是指一种嵌合HA构建体,其中120环、150环、160环和190螺旋已经用来自指定流感病毒HA亚型 (H5、H8、H11或H12) 的相应区域进行修饰。

[0365] 表3:乙型流感病毒HA序列来自流感B/Yamagata/16/88病毒。甲型流感病毒H5HA序列来自流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒。甲型流感病毒H8HA序列来自流感A/mallard/Sweden/24/2002病毒。甲型流感病毒H11HA序列来自流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99病毒。甲型流感病毒H12HA序列来自流感A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007病毒。

[0366]

	克隆的	表达的	在 A 主干中拯救的
H5 - 3 环设计(150, 160, 190)	是	是	是
H5 - 4 环设计(120, 150, 160, 190)	是(参见, 附图 12A, 12B, and 13)	是	是
H8 - 3 环设计(150, 160, 190)	是	未测试	未测试
H8 - 4 环设计(120, 150, 160, 190)	是(参见附图 14A, 14B, and 15)	未测试	未测试
H11 - 3 环设计(150, 160, 190)	是	是	是
H11 - 4 环设计(120, 150, 160, 190)	是(参见附图 16A, 16B, and 17)	未测试	未测试
H12 - 3 环设计(150, 160, 190)	是	未测试	未测试

[0367]

H12 - 4 环设计(120, 150, 160, 190)	是(参见附图 18A, 18B, and 19)	未测试	未测试
---------------------------------	--------------------------	-----	-----

[0368] 总之, 嵌合HA构建体可以掺入在蛋中有效生长的拯救的甲型流感病毒中。所述嵌合HA构建体保留了处在柄部和头部结构域两者中的保守表位。最后, 与对照HA构建体相比, 所述嵌合HA构建体展现了激烈地降低毒株特异性HI活性。

[0369] 6.2 实施例2: 嵌合HA的设计和表征

[0370] 这一实施例提供并分析了根据如实施例1中描述的类似方法(上文的章节6.1)制备的嵌合HA构建体。

[0371] 通过用来自甲型流感病毒毒株的序列替换乙型流感病毒血细胞凝集素(HA)的头部上的优势抗原性位点(附图27和28), 已经产生了容易通过反向遗传学掺入功能性病毒中的嵌合HA。进行了所述嵌合HA以及表达这些HA的病毒的初步的体外表征, 包括生长分析(附图37)和表面表达(附图38)。另外, 通过替换抗原性位点, 与野生型HA相比, 具有嵌合HA的病毒在HI终点滴度方面的降低是明显的(附图39), 强调了所述抗原性位点在功能上已被改变。

[0372] 6.2.1 材料和方法

[0373] 结构覆盖: 使用Pymol软件进行结构覆盖。

[0374] 序列比对: 使用BioEdit软件进行HA的序列比对以确定相应的环/螺旋序列。

[0375] 蚀斑分析: 步骤1: 制备2x培养基用于琼脂糖覆盖(50mL总体积: 25mL 2xMEM, 9mL WFI水, 660μL 7.5%碳酸氢钠, 500μL 1%葡聚糖)并保存在37℃的水浴中。步骤2: 如下进行病毒稀释(所用稀释度取决于样品和预期滴度): (a) 将PBS/1%BSA+1%青霉素/链霉素与Ca²⁺/Mg²⁺混合, 并向每个管中加入450μL用于稀释; (b) 向第一个管中加入50μL病毒, 将管混合, 然后将来自该管的50μL加入到下一个管中, 等等。步骤3: 将预铺板的细胞在含有1mL PBS的6孔板中洗涤。步骤4: 向每个孔中加入300μL病毒稀释液(来自步骤2); 从最大稀释到

最小稀释以避免浓度变动。步骤5:吸附:将细胞在33℃或37℃(取决于病毒)孵育1小时;每10-15分钟摇晃。步骤6:当吸附几乎完成时,将2%琼脂糖在微波中加热,并将15mL加入到来自步骤1的培养基中。步骤7:将1/1000稀释的TPCK(N-甲苯磺酰基-L-苯丙氨酰基氯甲基酮)处理的胰蛋白酶(1mg/mL)加入到来自步骤1的培养基中(得到浓度为1μg/mL)。步骤8:将琼脂糖/培养基/胰蛋白酶混合物均匀地倒在6孔板(2mL/孔)上并使其硬化而不会干扰覆盖层。取决于病毒,将平板在33℃下保存72小时或37℃下48小时。

[0376] 表面染色:在感染之前一天铺MDCK细胞。在没有TPCK-胰蛋白酶的情况下用5的感染复数(MOI)的指定病毒感染细胞,在33℃下孵育。感染后17小时,细胞用无甲醇的4%PFA进行固定,用于使用指定的抗乙型流感HA交叉保护性人/小鼠单克隆抗体和抗乙型流感病毒HA多克隆小鼠血清进行的免疫荧光表面染色。使用二抗Alexa-Fluor 488抗人或抗小鼠抗体。使用Zeiss LSM 880共焦显微镜采集图像。

[0377] 在蛋中的生长曲线:10天龄的有胚鸡蛋用500蚀斑形成单位/蛋的野生型流感B/Malaysia/2506/04 MA病毒或表达嵌合HA的流感B/Malaysia/2506/04 MA病毒进行感染。一式三份进行生长曲线。在感染后8小时、24小时、48小时和72小时收获尿囊液。如上所述在MDCK细胞上进行蚀斑分析以测定病毒滴度。

[0378] HI分析:针对野生型乙型流感病毒毒株B/Yamagata/16/88产生小鼠和雪貂血清,以获得血细胞凝集抑制(HI)反应性。在进行HI分析之前,根据制造商的说明书,用100单位/mL的Receptor-Destroying Enzyme(BioWhittaker,Walkersville,MD)预处理用作抗体用于HI分析的任何血清。这产生用于HI分析的、1:10稀释度起始浓度(最高)的血清。对测试病毒和阳性对照病毒进行HA分析,确定所述稀释度产生8HAU(4个阳性反应孔)。这种标准化的病毒用于进行分析。为了寻找将产生4个反应孔的稀释度,最后一个阳性反应孔除以8。这提供了稀释因数,即,如果具有阳性凝集的最后稀释度是128HAU,则在以下计算后获得8HAU:128/8=16。为了产生8HAU,进行1:16稀释。为了确定新的稀释度的滴度是8HAU,进行反滴定。

[0379] 在平板上包括以下对照泳道:(A)含有PBS+病毒的泳道(无抗体);(B)50μL PBS(无抗体)并且没有病毒的泳道。在平板上,将50μL抗体添加到第1列,25μL PBS添加到其他反应孔中。将来自第一列的25μL转移到第二列(2倍稀释度的抗体),直到具有单独的PBS和没有抗体的最后一列。每个反应孔具有25μL的所述稀释液。将25μL的适当的病毒添加到所有其他反应孔中(测试病毒,或阳性对照病毒)。添加PBS用作“无病毒”对照。在室温下将病毒和抗体预孵育30分钟。照例添加50μL的PBS中0.5%的RBC(火鸡)用于血细胞凝集分析。平板在4℃保持30分钟。用扫描器捕获结果的图像。

[0380] 嵌合HA的产生:HA构建体的设计基于Wang et al.,2008,Journal of Virology, 82(6):3011-3020描述的对每个环或螺旋确定的相应残基。通过蛋白质结构比对和序列比对确定相应的残基。

[0381] 为产生嵌合HA构建体,合成HA。做为选择,通过对早先构建的质粒进行PCR、或通过使用这些PCR产物(每个产物之间至少15个核苷酸重叠)在In-fusion®(Clontech)克隆反应期间产生HA片段。为了将HA片段插入它的载体中,使用SAPI限制酶将质粒pDZ线性化。每个HA片段含有与pDZ线性化载体重叠的15个核苷酸。在用于合成HA的设计期间包括这种重叠区域,或者通过将该序列添加到在PCR期间从HA的非编码区扩增的引物来人工添加。

[0382] 通过使用如制造商Clontech所描述的反应缓冲液,用产生的HA产物和线性化的pDZ进行In-fusion®克隆反应。调节HA的PCR片段、合成的HA或线性化的pDZ载体的数量以具有相等的摩尔比(根据片段长度计算)。在PCR仪中在50℃下孵育In-fusion®反应15分钟,然后移除。产生的克隆产物转化到Stellar细胞中,平铺于含有氨苄西林的LB平板上。筛选产生的菌落中正确的HA插入序列的存在,并且可以生长并纯化为DNA的mini-、midi-或maxi-preps。这产生最后的质粒产品。最终产品的浓度通过例如使用Nanodrop的方法来测定。

[0383] 6.2.2结果

[0384] 为了产生可以充当通用疫苗候选物的乙型流感病毒嵌合HA,流感B/Yamagata/16/88病毒HA的乙型流感病毒球形头部结构域中的关键抗原性位点(120环、150环、160环和/或190螺旋(120环、150环、160环和190螺旋的描述参见Wang et al.,2008,Journal of Virology,82(6):3011-3020)根据来自H5、H8、H11或H13亚型的甲型流感病毒(分别为流感A/Vietnam/1203/04病毒(HALo)(H5)、流感A/mallard/Sweden/24/2002病毒(H8)、流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99病毒(H11)或A/black headed gull/Sweden/1/99(H13))的球形头部结构域的抗原性位点进行修饰(分别称为mH5/B、mH8/B、mH11/B和mH13/B嵌合HA)(附图27和附图28)。

[0385] 为了产生用于在流感B/Malaysia/2506/04 MA病毒主干中拯救的mH5/B嵌合HA,与流感B/Yamagata/16/88病毒HA球形头部的120环、150环、160环和190螺旋相关的氨基酸残基基于来自流感A/Vietnam/1203/04(HALo)(H5)病毒球形头部结构域的氨基酸进行修饰(附图29和30)。具体地,来自流感B/Yamagata/16/88病毒HA 120环(TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1))、150环(PNVTSRNG(SEQ ID NO:18))、160环(RDNKTA(SEQ ID NO:5))和190螺旋(NKNQMKN(SEQ ID NO:7))的氨基酸序列基于流感A/Vietnam/1203/04(HALo)(H5)病毒球形头部结构域的氨基酸序列分别替换为氨基酸序列FIP、KIQLSTKNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:2)、PYQGKSS(SEQ ID NO:19)、KKNSTY(SEQ ID NO:6)和NDAAMQT(SEQ ID NO:8)。流感B/Malaysia/2506/04MA病毒用作拯救表达这种嵌合HA构建体的病毒的主干(即,PB2、PB1、PA、NP、NA、M和NS来自流感B/Malaysia/2506/04MA病毒)。另外,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的位置156处的谷氨酸(E)氨基酸在所述嵌合HA中用赖氨酸(K)(即,E156K突变)取代。这一病毒被成功地拯救,具有 6.95×10^8 PFU/mL的储备滴度。与对照流感B/Malaysia/2506/04MA病毒相比,当在33℃下在10天龄有胚蛋(500PFU/蛋接种)中生长时,这种病毒是稍微减毒的(附图37A)。峰值滴度p值是0.0005。

[0386] 为了产生用于在流感B/Malaysia/2506/04MA病毒主干中拯救的mH8/B嵌合HA,与流感B/Yamagata/16/88病毒HA球形头部的120环、150环、160环和190螺旋相关的氨基酸残基基于来自流感A/mallard/Sweden/24/2002病毒(H8)球形头部结构域的氨基酸进行修饰(附图31和32)。具体地,来自流感B/Yamagata/16/88病毒HA的120环(TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1))、150环(PNVTSRNG(SEQ ID NO:18))、160环(RDNKTA(SEQ ID NO:5))和190螺旋(NKNQMKN(SEQ ID NO:7))的氨基酸序列基于流感A/mallard/Sweden/24/2002病毒(H8)球形头部结构域的氨基酸序列分别替换为氨基酸序列HIP、RIRLSTYINVINAETAPGGPYRL(SEQ ID NO:51)、NASTGGQS(SEQ ID NO:52)、KKKADTY(SEQ ID NO:53)和ADAKMQT(SEQ ID NO:54)。流感B/Malaysia/2506/04MA病毒用作拯救表达这种

嵌合HA构建体的病毒的主干(即,PB2、PB1、PA、NP、NA、M和NS来自流感B/Malaysia/2506/04MA病毒)。另外,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的位置156处的谷氨酸(E)氨基酸在所述嵌合HA中用赖氨酸(K)(即,E156K突变)取代。这一病毒被成功地拯救,具有 1.16×10^9 PFU/mL的储备滴度。与表达包含流感B/Malaysia/2506/04MA病毒的HA的对照流感B/Malaysia/2506/04MA病毒相比,当在33°C下在10天龄有胚蛋(500PFU/蛋接种)中生长时,这种病毒是稍微减毒的(附图37B)。峰值滴度p值是0.0004。

[0387] 为了产生用于在流感B/Malaysia/2506/04MA病毒主干中拯救的mH11/B嵌合HA,与流感B/Yamagata/16/88病毒HA球形头部的120环、150环、160环和190螺旋相关的氨基酸残基基于来自流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99病毒(H11)的氨基酸进行修饰(附图33和34)。具体地,来自流感B/Yamagata/16/88病毒HA的120环(TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1))、150环(PNVTSRNG(SEQ ID NO:18))、160环(RDNKTA(SEQ ID NO:5))和190螺旋(NKNQMKN(SEQ ID NO:7))的氨基酸序列基于流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99病毒(H11)球形头部结构域的氨基酸序列分别替换为氨基酸序列LIP、KIELSTSNVINAEVAPGGPYRL(SEQ ID NO:55)、PFGSSNS(SEQ ID NO:56)、HQSGTY(SEQ ID NO:57)和TTLKMHQ(SEQ ID NO:58)。流感B/Malaysia/2506/04MA病毒用作主干(即,PB2、PB1、PA、NP、NA、M和NS来自流感B/Malaysia/2506/04MA病毒;核苷酸序列参见SEQ ID NO:80、81、82、84、85、86和87)以拯救表达这种嵌合HA构建体的病毒。另外,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的位置250处的甘氨酸(G)氨基酸在所述嵌合HA中用谷氨酸(E)(即,G250E突变)取代。这一病毒被成功地拯救,具有 1.42×10^8 PFU/mL的储备滴度。与对照流感B/Malaysia/2506/04MA病毒相比,当在33°C下在10天龄有胚蛋(500PFU/蛋接种)中生长时,这种病毒是稍微减毒的(附图37C)。峰值滴度p值是0.2310。

[0388] 为了产生用于在流感B/Malaysia/2506/04MA病毒主干中拯救的mH13/B嵌合HA,与流感B/Yamagata/16/88病毒HA球形头部的120环、150环、160环和190螺旋相关的氨基酸残基基于来自流感A/black headed gull/Sweden/1/99病毒球形头部结构域的氨基酸进行修饰(附图35和36)。具体地,来自流感B/Yamagata/16/88病毒HA的120环(TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL(SEQ ID NO:1))、150环(PNVTSRNG(SEQ ID NO:18))、160环(RDNKTA(SEQ ID NO:5))和190螺旋(NKNQMKN(SEQ ID NO:7))的氨基酸序列基于流感A/black headed gull/Sweden/1/99病毒球形头部结构域的氨基酸序列分别替换为氨基酸序列NIP、RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL(SEQ ID NO:59)、PDKGASS(SEQ ID NO:60)、KRGNQY(SEQ ID NO:61)和VSTNMAK(SEQ ID NO:62)。流感B/Malaysia/2506/04MA病毒用作拯救表达这种嵌合HA构建体的病毒的主干(即,PB2、PB1、PA、NP、NA、M和NS来自流感B/Malaysia/2506/04MA病毒)。另外,未成熟的流感B/Yamagata/16/88病毒HA的位置156处的谷氨酸(E)氨基酸在所述嵌合HA中用赖氨酸(K)(即,E156K突变)取代。这一病毒被成功地拯救,具有 2.19×10^8 PFU/mL的储备滴度。与对照流感B/Malaysia/2506/04MA病毒相比,当在33°C下在10天龄有胚蛋(500PFU/蛋接种)中生长时,这种病毒是稍微减毒的(附图37D)。峰值滴度p值是0.0072。

[0389] 评估这些嵌合HA结合交叉保护性抗体的能力,所述交叉保护性抗体结合流感病毒柄部和/或头部结构域。为此,使用抗体CR9114、5A7、CR8059、CR8033和抗体X(有时称为IIC7)。这些抗体的概述在上文的表2中提供。测试的嵌合HA多肽保持了它们被测试的抗柄

部和抗头部抗体识别的能力(附图38A-38D)。对在没有TPCK-胰蛋白酶的情况下以5的感染复数用指定病毒感染的MDCK细胞,在感染后17小时用已知结合乙型流感HA头部或柄部结构域的单克隆抗体进行表面染色(附图38A-38D)。

[0390] 测试所述嵌合HA的HI活性,以确定乙型流感病毒的抗原环是否被成功地替换。具体地,使用针对野生型流感B/Yamagata/16/88病毒引发的小鼠或雪貂血清进行HI分析(附图39A-39D)。所述嵌合HA多肽展现了激烈地降低毒株特异性HI活性(附图39A-39D)。这是一种间接的方法以评估乙型流感病毒HA内的抗原性位点,所述抗原性位点通过换入外来的甲型流感病毒HA序列(例如,来自H5、H8、H11或H13的那些)被替换或除去。

[0391] 总之,尽管与野生型病毒相比是减毒的,嵌合HA构建体可以被掺入到在蛋中生长到健壮滴度的拯救的乙型流感病毒中。所述嵌合HA看起来失去了它们的乙型HA免疫决定性头部表位,而乙型HA上亚优势性保守的、交叉保护性的表位得以保留。

[0392] 6.3 实施例3:包含嵌合HA的接种方案

[0393] 嵌合HA构建体的产生:mH5/B、mH8/B和mH13/B嵌合HA构建体如上文的章节6.2中描述的产生。编码mH13/B嵌合HA的pDZ质粒(参见,Martinez-Sobrido L,Garcia-Sastre A.Generation of Recombinant Influenza Virus from Plasmid DNA.Journal of Visualized Experiments:JoVE.2010;(42):2057.doi:10.3791/2057,通过引用以其整体合并在本文中)由他人制备(Genewiz提供的服务),来制备用于致敏的DNA(参见下文的表4)。使用如Margine I,Palese P,Krammer F.Expression of Functional Recombinant Hemagglutinin and Neuraminidase Proteins from the Novel H7N9 Influenza Virus Using the Baculovirus Expression System.Journal of Visualized Experiments:JoVE.2013;(81):51112.doi:10.3791/51112中早先描述的杆状病毒表达系统合成mH5/B和mH8/B嵌合HA重组蛋白,通过引用以其整体合并在本文中。

[0394] 小鼠模型和体内分析:这个实施例中使用五只6到8周龄雌性BALB/c小鼠/组(总共十组)(参见下文的表4)。如下文的表4中显示的对小鼠进行免疫接种。具体地,用以下对小鼠致敏:(i)通过电穿孔施用的80μg的编码mH13/B的pDZ质粒(组1、2、5-7和10);(ii)肌肉注射施用的1μg Fluzone(2006-2007季,包含Victoria系的乙型流感病毒;Sanofi Pasteur)(组3);(iii)肌肉注射施用的1μg的Flulaval(2008-2009季,包含Yamagata系的乙型流感病毒;GlaxoSmithKline)(组8);或模拟致敏(组4和9)。致敏后三周,组1、2、4-7、9和10中的小鼠用以下进行强化:(i)用5μg polyI:C为佐剂、5μg mH5/B蛋白的肌肉内施用,以及用5μg polyI:C为佐剂、5μg mH5/B蛋白的鼻内施用(组1、5、6和10);或(ii)用5μg polyI:C为佐剂、5μg牛血清白蛋白(BSA)的肌肉内施用,以及用5μg polyI:C为佐剂、5μg BSA的鼻内施用(组2、4、7和9)。组3和8中的小鼠不接受致敏后三周的强化。致敏后六周,小鼠用以下进行强化:(i)用5μg polyI:C为佐剂、5μg mH8/B蛋白的肌肉内施用,以及用5μg polyI:C为佐剂、5μg mH8/B蛋白的鼻内施用(组1、5、6和10);(ii)用5μg polyI:C为佐剂、5μg BSA的肌肉内施用,以及用5μg polyI:C为佐剂、5μg BSA的鼻内施用(组2、4、7和9);(iii)肌肉注射施用的1μg Fluzone(组3),或(iv)肌肉注射施用的1μg Flulaval(组8)。四周以后(即,致敏后10周),组1-4中的小鼠用流感B/Malaysia/2506/04病毒(Victoria系)以5倍小鼠半数致死剂量(“LD50”)鼻内地攻击,监视与原初小鼠相比组1-4中的小鼠的体重损失(附图40A)和存活(附图40B)。组1中的小鼠被完全保护免于死亡,具有最小的体重损失。

[0395] 另外,致敏之后10周,组6-9中的小鼠用流感B/Florida/4/06病毒(Yamagata系)以5倍小鼠LD50鼻内地攻击,组5和10中的小鼠进行尾端放血(用于,例如,被动转移研究)。监视被攻击的小鼠的体重损失和存活。

[0396] 表4.小鼠中的嵌合HA疫苗接种。TIV=三价的流感疫苗;BSA=牛血清白蛋白;IM=肌肉内的;IN=鼻内地;VIC表示病毒来自乙型流感病毒Victoria系;YAM表示病毒来自乙型流感病毒Yamagata系。mH5/B是指附图29和30中描述的mH5/B嵌合HA。mH8/B是指附图31和32中描述的mH8/B嵌合HA。mH13/B是指附图35和36中描述的mH13/B嵌合HA。

[0397]

组	致敏	强化 1 (3 周后)	强化 2 (3 周后)	攻击 (4 周后)
1	mH13/B DNA 80 µg	mH5/B 蛋白 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	mH8/B 蛋白 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	B/Malaysia/2506/04 (Vic)
2	mH13/B DNA 80 µg	BSA 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	BSA 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	B/Malaysia/2506/04 (Vic)
3	Fluzone 1 µg (IM) (TIV)	无	Fluzone 1 µg (IM) (TIV)	B/Malaysia/2506/04 (Vic)
4	Mock	BSA 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	BSA 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	B/Malaysia/2506/04 (Vic)
5	mH13/B DNA 80 µg	mH5/B 蛋白 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	mH8/B 蛋白 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	尾端放血
6	mH13/B DNA 80 µg	mH5/B 蛋白 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	mH8/B 蛋白 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	B/Florida/4/06 (Yam)
7	mH13/B DNA 80 µg	BSA 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	BSA 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	B/Florida/4/06 (Yam)
8	Flulaval 1 µg (IM) (TIV)	无	Flulaval 1 µg (IM) (TIV)	B/Florida/4/06 (Yam)
9	Mock	BSA 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	BSA 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	B/Florida/4/06 (Yam)
10	mH13/B DNA 80 µg	mH5/B 蛋白 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	mH8/B 蛋白 10 µg (5 µg IM, 5 µg IN) 10 µg polyI:C	尾端放血

[0398] 7.实施方式

[0399] 本文提供的是以下示范性的实施方式:

[0400] 1.一种嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞

外域,所述血细胞凝集素胞外域包含一项、两项、三项或所有以下的:

[0401] a.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

[0402] b.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;

[0403] c.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和

[0404] d.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。

[0405] 2.一种嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,所述血细胞凝集素胞外域包含一项、两项、三项或所有以下的:

[0406] a.处在所述乙型流感病毒HA的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

[0407] b.处在所述乙型流感病毒HA的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;

[0408] c.处在所述乙型流感病毒HA的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和

[0409] d.处在所述乙型流感病毒HA的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。

[0410] 3.实施方式1或2所述的嵌合HA多肽,其进一步包含所述乙型流感病毒HA的信号肽。

[0411] 4.实施方式1、2或3所述的嵌合HA多肽,其进一步包含所述乙型流感病毒HA的跨膜结构域和胞质尾部结构域。

[0412] 5.实施方式1到4的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述乙型流感病毒是Yamagata系或Victoria系的。

[0413] 6.实施方式1到4的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述乙型流感病毒是流感B/Yamagata/16/88。

[0414] 7.实施方式1到6的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒是H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17或H18的甲型流感病毒。

[0415] 8.实施方式1到6的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒是H5HA亚型。

[0416] 9.实施方式7所述的嵌合HA多肽,其中

[0417] a.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAETHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2) 取代;

[0418] b.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19) 取代;

[0419] c.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代;和/或

[0420] d.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。

[0421] 10.实施方式8或9所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

[0422] 11.实施方式8到10的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述H5亚型是流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒。

[0423] 12.实施方式1到6的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒是H8HA亚型。

[0424] 13.实施方式12所述的嵌合HA多肽,其中

[0425] a.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代;

[0426] b.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代;

[0427] c.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代;和/或

[0428] d.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。

[0429] 14.实施方式12所述的嵌合HA多肽,其中

[0430] a.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代;

[0431] b.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代;

[0432] c.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID

NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 或KKKPDTY (SEQ ID NO:68) 取代;和/或

[0433] d.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 或PDAKMQT (SEQ ID NO:69) 取代。

[0434] 15.实施方式12或13所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

[0435] 16.实施方式12、13或15所述的嵌合HA多肽,其中所述H8亚型是流感A/Mallard/Sweden/24/2002病毒。

[0436] 17.实施方式1到6的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒是H11 HA亚型。

[0437] 18.实施方式17所述的嵌合HA多肽,其中

[0438] a.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代;

[0439] b.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代;

[0440] c.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代;和/或

[0441] d.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 或ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。

[0442] 19.实施方式17所述的嵌合HA多肽,其中

[0443] a.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代;

[0444] b.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 或KFGSSNS (SEQ ID NO:67) 取代;

[0445] c.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代;和/或

[0446] d.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 或ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。

[0447] 20.实施方式17或18所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

[0448] 21.实施方式17、18或20所述的嵌合HA多肽,其中所述H11亚型是流感A/northern shoveler/Netherlands/18/99。

[0449] 22.实施方式1到6的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒是H12 HA亚型。

[0450] 23.实施方式22所述的嵌合HA多肽,其中

[0451] a.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代;

[0452] b.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代;

[0453] c.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代;和/或

[0454] d.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。

[0455] 24.实施方式22或23所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

[0456] 25.实施方式22到24的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述H12亚型是流感A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007。

[0457] 26.实施方式1到6的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒是H13 HA亚型。

[0458] 27.实施方式26所述的嵌合HA多肽,其中

[0459] a.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代;

[0460] b.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代;

[0461] c.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNQY (SEQ ID NO:61) 取代;和/或

[0462] d.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。

[0463] 28.实施方式26或27所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

[0464] 29.实施方式26到28的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述H13亚型是流感A/black headed gull/Sweden/1/99。

[0465] 30.一种嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含:

[0466] a.来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有一项、两项、三项或所有以下的

[0467] i.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

[0468] ii.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;

[0469] iii.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个

氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和

[0470] iv.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和

[0471] b.来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。

[0472] 31.一种嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含:

[0473] a.来自乙型流感病毒的血细胞凝集素胞外域,其具有一项、两项、三项或所有以下的

[0474] i.处在所述乙型流感病毒HA的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

[0475] ii.处在所述乙型流感病毒HA的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;

[0476] iii.处在所述乙型流感病毒HA的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和

[0477] iv.处在所述乙型流感病毒HA的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用甲型流感病毒HA的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和

[0478] b.来自甲型流感病毒的信号肽、跨膜结构域和胞质尾部结构域。

[0479] 32.实施方式30或31所述的嵌合HA多肽,其中所述乙型流感病毒是Yamagata系或Victoria系的。

[0480] 33.实施方式32所述的嵌合HA多肽,其中所述乙型流感病毒是流感B/Yamagata/16/88。

[0481] 34.实施方式30到33的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒是H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17或H18的甲型流感病毒。

[0482] 35.实施方式30到33的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒HA是H5 HA亚型。

[0483] 36.实施方式35所述的嵌合HA多肽,其中

[0484] a.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的120环中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1)被氨基酸残基FIP和KIQLSTKNVINAEHAPGGPYRL (SEQ ID NO:2)取代;

[0485] b.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18)被氨基酸残基PYQGKSS (SEQ ID NO:19)取代;

[0486] c.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKNSTY (SEQ ID NO:6) 取代;和/或

[0487] d.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基NDAAMQT (SEQ ID NO:8) 取代。

[0488] 37.实施方式35或36所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

[0489] 38.实施方式35到37的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述H5亚型是流感A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒。

[0490] 39.实施方式30到33的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒HA是H8HA亚型。

[0491] 40.实施方式39所述的嵌合HA多肽,其中

[0492] a.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基HIP和RIRLSTYNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:51) 取代;

[0493] b.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NASTGGQS (SEQ ID NO:52) 取代;

[0494] c.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KKKADTY (SEQ ID NO:53) 取代;和/或

[0495] d.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基ADAKMQT (SEQ ID NO:54) 取代。

[0496] 41.实施方式39或40所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

[0497] 42.实施方式39到41的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述H8亚型是流感A/mallard/Sweden/24/2002病毒。

[0498] 43.实施方式30到33的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒HA是H11HA亚型。

[0499] 44.实施方式43所述的嵌合HA多肽,其中

[0500] a.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基LIP和KIELSTSNVINAEPGGPYRL (SEQ ID NO:55) 取代;

[0501] b.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PFGSSNS (SEQ ID NO:56) 取代;

[0502] c.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基HQSGTY (SEQ ID NO:57) 取代;和/或

[0503] d.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基TTLKMHQ (SEQ ID NO:58) 或ATLKMHQ (SEQ ID NO:70) 取代。

[0504] 45.实施方式43或44所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

[0505] 46.实施方式43到45的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述H11亚型是流感A/

northern shoveler/Netherlands/18/99。

[0506] 47.实施方式30到33的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒HA是H12 HA亚型。

[0507] 48.实施方式47所述的嵌合HA多肽,其中

[0508] a.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基YIP和RIKLSTFNVINAETAPGGPYRL (SEQ ID NO:63) 取代;

[0509] b.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基NNTSNQGS (SEQ ID NO:64) 取代;

[0510] c.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基LKSGQF (SEQ ID NO:65) 取代;和/或

[0511] d.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基PTSDMQI (SEQ ID NO:66) 取代。

[0512] 49.实施方式47或48所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

[0513] 50.实施方式47到49的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述H12亚型是流感A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007。

[0514] 51.实施方式30到33的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述甲型流感病毒HA是H13 HA亚型。

[0515] 52.实施方式51所述的嵌合HA多肽,其中

[0516] a.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88中的以下氨基酸残基TIP和NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL (SEQ ID NO:1) 被氨基酸残基NIP和RIELSTHNVINAEVAPGGPYRL (SEQ ID NO:59) 取代;

[0517] b.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的150环中的以下氨基酸残基PNVTSRNG (SEQ ID NO:18) 被氨基酸残基PDKGASS (SEQ ID NO:60) 取代;

[0518] c.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的160环中的以下氨基酸残基RDNKTA (SEQ ID NO:5) 被氨基酸残基KRGNY (SEQ ID NO:61) 取代;和/或

[0519] d.乙型流感病毒B/Yamagata/16/88的190螺旋中的以下氨基酸残基NKNQMKN (SEQ ID NO:7) 被氨基酸残基VSTNMAK (SEQ ID NO:62) 取代。

[0520] 53.实施方式51或52所述的嵌合HA多肽,其中所述嵌合HA包括处在一个、两个、三个或所有以下的之外的一个、两个、或更多个氨基酸取代:120环、150环、160环和190螺旋。

[0521] 54.实施方式51到53的任一项所述的嵌合HA多肽,其中所述H13亚型是流感A/black headed gull/Sweden/1/99。

[0522] 55.一种嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:27中列出的氨基酸序列,或SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:27中列出的没有信号肽的氨基酸序列。

[0523] 56.一种嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:25中列出的氨基酸序列,或SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:25中列出的没有信号肽的氨基酸序列。

[0524] 57.一种嵌合血细胞凝集素 (HA) 多肽,其包含SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:27中列出的流感病毒HA胞外域的氨基酸序列。

- [0525] 58.一种嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:25中列出的流感病毒HA胞外域的氨基酸序列。
- [0526] 59.一种嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48或SEQ ID NO:50中列出的氨基酸序列,或SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48或SEQ ID NO:50中列出的没有信号肽的氨基酸序列。
- [0527] 60.一种嵌合血细胞凝集素(HA)多肽,其包含SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:48或SEQ ID NO:50中列出的流感病毒HA胞外域的氨基酸序列。
- [0528] 61.实施方式1到60的任一项所述的嵌合HA多肽,其是分离的。
- [0529] 62.一种核酸序列,其编码实施方式1到13、15到18、20到29、59或60的任一项所述的嵌合HA多肽。
- [0530] 63.一种核酸序列,其编码实施方式30到55或57的任一项所述的嵌合HA多肽。
- [0531] 64.一种核酸序列,其编码实施方式14、18、56或58的任一项所述的嵌合HA多肽。
- [0532] 65.一种核酸序列,其包含SEQ ID NO:20或SEQ ID NO:26中列出的核苷酸序列,或其互补物。
- [0533] 66.一种核酸序列,其包含SEQ ID NO:22或SEQ ID NO:24中列出的核苷酸序列,或其互补物。
- [0534] 67.一种核酸序列,其包含SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47或SEQ ID NO:49中列出的核苷酸序列,或其互补物。
- [0535] 68.实施方式62或67所述的核酸序列,进一步包含核苷酸序列,所述核苷酸序列包含乙型流感病毒的5'和3'非编码区。
- [0536] 69.实施方式62到68的任一项所述的核酸序列,其中所述核酸序列是cDNA。
- [0537] 70.实施方式62到69的任一项所述的核酸序列,其是分离的。
- [0538] 71.一种表达载体,其包含实施方式62到69的任一项所述的核酸序列。
- [0539] 72.一种病毒载体,其包含实施方式62到69的任一项所述的核酸序列。
- [0540] 73.一种乙型流感病毒,其被工程化以表达实施方式62、67或68所述的核酸序列。
- [0541] 74.一种甲型流感病毒,其被工程化以表达实施方式63或65所述的核酸序列。
- [0542] 75.一种流感病毒,其被工程化以表达实施方式1到13、15到18、20到29、59或60的任一项所述的嵌合HA多肽。
- [0543] 76.实施方式75所述的流感病毒,其中所述流感病毒是乙型流感病毒。
- [0544] 77.实施方式76所述的流感病毒,其中所述嵌合HA多肽由包含乙型流感病毒的5'和3'非编码区的核苷酸序列编码。
- [0545] 78.一种乙型流感病毒,其包含实施方式1到13、15到18、20到29、59或60的任一项所述的嵌合HA多肽。
- [0546] 79.一种甲型流感病毒,其被工程化以表达实施方式1、2、30到55或57的任一项所述的嵌合HA多肽。
- [0547] 80.一种甲型流感病毒,其包含实施方式1、2、30到55或57的任一项所述的嵌合HA多肽。
- [0548] 81.实施方式74或79所述的流感病毒,其中所述嵌合HA多肽由包含甲型流感病毒的5'和3'非编码区的核苷酸序列编码。

- [0549] 82.实施方式73到81的任一项所述的流感病毒,其是减毒的。
- [0550] 83.实施方式78或80所述的流感病毒,其是灭活的。
- [0551] 84.一种病毒样颗粒,其包含实施方式1到60的任一项所述的嵌合HA多肽。
- [0552] 85.一种亚单位疫苗,其包含实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA多肽。
- [0553] 86.一种裂解疫苗,其包含实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA多肽。
- [0554] 87.一种免疫原性组合物,其包含实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA多肽。
- [0555] 88.一种免疫原性组合物,其包含实施方式73到83的任一项所述的流感病毒。
- [0556] 89.一种免疫原性组合物,其包含实施方式84的病毒样颗粒。
- [0557] 90.实施方式87到89的任一项所述的免疫原性组合物,其包含佐剂。
- [0558] 91.实施方式85所述的亚单位疫苗,其包含佐剂。
- [0559] 92.实施方式86所述的裂解疫苗,其包含佐剂。
- [0560] 93.一种在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法,其包括向所述对象施用实施方式87到90的任一项所述的免疫原性组合物。
- [0561] 94.一种在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法,其包括向所述对象施用实施方式85或91所述的亚单位疫苗。
- [0562] 95.一种在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法,其包括向所述对象施用实施方式86或92所述的裂解疫苗。
- [0563] 96.一种在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法,其包括
- [0564] a.向所述对象施用包含第一嵌合HA的第一免疫原性组合物,所述第一嵌合HA是实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA;和
- [0565] b.在所述第一免疫原性组合物的施用之后一定时间段,向所述对象施用包含第二嵌合HA的第二免疫原性组合物,所述第二嵌合HA是实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA,
- [0566] 其中所述第一和第二嵌合HA不是相同的。
- [0567] 97.一种在已经施用第一免疫原性组合物的对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法,包括向所述对象施用包含第二嵌合HA的第二免疫原性组合物,所述第二嵌合HA是实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA,其中所述第一免疫原性组合物包含第一嵌合HA,所述第一嵌合HA是实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA,以及其中所述第一和第二嵌合HA不是相同的。
- [0568] 98.实施方式96或97所述的方法,其中所述第一和第二嵌合HA包含乙型流感病毒的胞外域,所述乙型流感病毒的胞外域包含相同的茎杆结构域,但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和/或(iv)不同的190螺旋。
- [0569] 99.实施方式96到98所述的方法,其中所述方法进一步包括向所述对象施用包含第三嵌合HA的第三免疫原性组合物,所述第三嵌合HA是实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA,其中所述第一、第二和第三嵌合HA不是相同的。
- [0570] 100.实施方式99所述的方法,其中所述第一、第二和第三嵌合HA包含乙型流感病毒的胞外域,所述乙型流感病毒的胞外域包含相同的茎杆结构域,但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和/或(iv)不同的190螺旋。

[0571] 101.实施方式99或100所述的方法,其中所述第三免疫原性组合物在所述第二免疫原性组合物的施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。

[0572] 102.实施方式96到101的任一项所述的方法,其中所述第二免疫原性组合物在所述第一免疫原性组合物的施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。

[0573] 103.一种在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法,其包括:

[0574] a.包含第一嵌合HA多肽的第一免疫原性组合物向所述对象的第一次施用,其中所述第一嵌合HA多肽包含第一乙型流感病毒的第一胞外域,所述第一胞外域包含:

[0575] i.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

[0576] ii.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基;

[0577] iii.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基;和

[0578] iv.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基;和

[0579] b.在所述第一次施用之后第一时间段的包含第二嵌合HA多肽的第二免疫原性组合物向所述对象的第二次施用,其中所述第二嵌合HA多肽包含第二乙型流感病毒的第二胞外域,所述第二胞外域包含:

[0580] i.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

[0581] ii.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、

4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基；

[0582] iii.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基；和

[0583] iv.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基；和

[0584] c.在所述第二次施用之后第二时间段的包含第三嵌合HA多肽的第三免疫原性组合物向所述对象的第三次施用，其中所述第三嵌合HA多肽包含第三乙型流感病毒的第三胞外域，所述第三胞外域包含：

[0585] i.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基；

[0586] ii.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基；

[0587] iii.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基；和

[0588] iv.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。

[0589] 104.实施方式103所述的方法，其中所述第一嵌合HA多肽作为编码所述多肽的核酸施用给所述对象。

[0590] 105.实施方式103所述的方法，其中所述第一嵌合HA多肽作为流感病毒的部分施用给所述对象。

[0591] 106.实施方式103到105的任一项所述的方法，其中所述第一、第二和第三亚型是不同的。

[0592] 107.实施方式106所述的方法，所述亚型选自由H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17和H18构成的组。

[0593] 108.实施方式106所述的方法，其中所述亚型选自由H5、H8、H11、H12和H13构成的组。

[0594] 109.实施方式103到105的任一项所述的方法,其中所述第一时间段是在所述第一次施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。

[0595] 110.实施方式103到105的任一项所述的方法,其中所述第二时间段是在所述第二次施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。

[0596] 111.实施方式93到110的任一项所述的方法,其中所述对象是人类。

[0597] 112.实施方式87到90的任一项所述的免疫原性组合物,用于在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法中,其中所述方法包括向所述对象施用所述免疫原性组合物。

[0598] 113.实施方式85或91所述的亚单位疫苗,用于在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法中,其中所述方法包括向所述对象施用所述亚单位疫苗。

[0599] 114.实施方式86或92所述的裂解疫苗,用于在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法中,其中所述方法包括向所述对象施用所述裂解疫苗。

[0600] 115.一种第一免疫原性组合物,用于在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法中,其中所述方法包括:

[0601] a.向所述对象施用所述第一免疫原性组合物,其中所述第一免疫原性组合物包含第一嵌合HA,所述第一嵌合HA是实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA;和

[0602] b.在所述第一免疫原性组合物的施用之后一定时间段,向所述对象施用包含第二嵌合HA的第二免疫原性组合物,所述第二嵌合HA是实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA,

[0603] 其中所述第一和第二嵌合HA不是相同的。

[0604] 116.一种第二免疫原性组合物,用于在已经施用第一免疫原性组合物的对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法中,其中所述方法包括向所述对象施用所述第二免疫原性组合物,其中所述第二免疫原性组合物包含第二嵌合HA,所述第二嵌合HA是实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA,其中所述第一免疫原性组合物包含第一嵌合HA,所述第一嵌合HA是实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA,以及其中所述第一和第二嵌合HA不是相同的。

[0605] 117.实施方式115的用途的所述第一免疫原性组合物,其中所述第一和第二嵌合HA包含乙型流感病毒的胞外域,所述乙型流感病毒的胞外域包含相同的茎杆结构域,但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和/或(iv)不同的190螺旋。

[0606] 118.实施方式116的用途的所述第二免疫原性组合物,其中所述第一和第二嵌合HA包含乙型流感病毒的胞外域,所述乙型流感病毒的胞外域包含相同的茎杆结构域,但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和/或(iv)不同的190螺旋。

[0607] 119.实施方式115或117的用途的所述第一免疫原性组合物,其中所述方法进一步包括向所述对象施用包含第三嵌合HA的第三免疫原性组合物,所述第三嵌合HA是实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA,其中所述第一、第二和第三嵌合HA不是相同的。

[0608] 120.实施方式116或118所述的第二免疫原性组合物,其中所述方法进一步包括向

所述对象施用包含第三嵌合HA的第三免疫原性组合物,所述第三嵌合HA是实施方式1到61的任一项所述的嵌合HA,其中所述第一、第二和第三嵌合HA不是相同的。

[0609] 121.实施方式119的用途的所述第一免疫原性组合物,其中所述第一、第二和第三嵌合HA包含乙型流感病毒的胞外域,所述乙型流感病毒的胞外域包含相同的茎杆结构域,但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和/或(iv)不同的190螺旋。

[0610] 122.实施方式120的用途的所述第二免疫原性组合物,其中所述第一、第二和第三嵌合HA包含乙型流感病毒的胞外域,所述乙型流感病毒的胞外域包含相同的茎杆结构域,但具有一项、两项、三项或所有以下的:(i)不同的120环,(ii)不同的150环,(iii)不同的160环,和/或(iv)不同的190螺旋。

[0611] 123.实施方式119或121的用途的所述第一免疫原性组合物,其中所述第三免疫原性组合物在所述第二免疫原性组合物的施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。

[0612] 124.实施方式120或122的用途的所述第二免疫原性组合物,其中所述第三免疫原性组合物在所述第二免疫原性组合物的施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。

[0613] 125.实施方式115、117、119或121的用途的所述第一免疫原性组合物,其中所述第二免疫原性组合物在所述第一免疫原性组合物的施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。

[0614] 126.实施方式116、118、120或122的用途的所述第二免疫原性组合物,其中所述第二免疫原性组合物在所述第一免疫原性组合物的施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月施用。

[0615] 127.一种第一免疫原性组合物,用于在对象中诱导针对乙型流感病毒的免疫应答的方法中,其中所述方法包括:

[0616] a.所述第一免疫原性组合物的向所述对象的第一次施用,其中所述第一免疫原性组合物包含第一嵌合HA多肽,以及其中所述第一嵌合HA多肽包含第一乙型流感病毒的第一胞外域,所述第一乙型流感病毒的第一胞外域包含:

[0617] i.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基;

[0618] ii.处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代,其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、

4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基；

[0619] iii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基；和

[0620] iv. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第一亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基；和

[0621] b. 在所述第一次施用之后第一时间段的包含第二嵌合HA多肽的第二免疫原性组合物向所述对象的第二次施用，其中所述第二嵌合HA多肽包含第二乙型流感病毒的第二胞外域，所述第二胞外域包含：

[0622] i. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基；

[0623] ii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基；

[0624] iii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基；和

[0625] iv. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第二亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基；和

[0626] c. 在所述第二次施用之后第二时间段的包含第三嵌合HA多肽的第三免疫原性组合物向所述对象的第三次施用，其中所述第三嵌合HA多肽包含第三乙型流感病毒的第三胞外域，所述第三胞外域包含：

[0627] i. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的120环内的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的120环中的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个氨基酸残基；

[0628] ii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的150环内的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域

的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的150环中的2、3、4、5、6、7、8、9或更多个氨基酸残基；

[0629] iii. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的160环内的2、3、4、5或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的160环中的2、3、4、5或更多个氨基酸残基；和

[0630] iv. 处在所述乙型流感病毒HA的球形头部结构域的190螺旋内的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸取代，其中所述氨基酸取代用所述第三亚型的甲型流感病毒HA的球形结构域的相应区域中存在的氨基酸残基取代了所述乙型流感病毒HA的球形头部的190螺旋中的2、3、4、5、6、7、8或更多个氨基酸残基。

[0631] 128. 实施方式127的用途的所述第一免疫原性组合物，其中所述第一嵌合HA多肽作为编码所述多肽的核酸施用给所述对象。

[0632] 129. 实施方式127的用途的所述第一免疫原性组合物，其中所述第一嵌合HA多肽作为流感病毒的部分施用给所述对象。

[0633] 130. 实施方式127到129的任一项的用途的所述第一免疫原性组合物，其中所述第一、第二和第三亚型是不同的。

[0634] 131. 实施方式130的用途的所述第一免疫原性组合物，其中所述亚型选自由H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15、H16、H17和H18构成的组。

[0635] 132. 实施方式130的用途的所述第一免疫原性组合物，其中所述亚型选自由H5、H8、H11、H12和H13构成的组。

[0636] 133. 实施方式127到133的任一项的用途的所述第一免疫原性组合物，其中所述第一时间段是在所述第一次施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。

[0637] 134. 实施方式127到133的任一项的用途的所述第一免疫原性组合物，其中所述第二时间段是在所述第二次施用之后1周到9个月、3周到8个月、6周到12周、4周到6个月、5周到5个月、6周到4个月、7周到4个月、8周到4个月、8周到3个月、3个月到6个月、3个月到9个月、或6个月到9个月。

[0638] 135. 实施方式112或115到134的任一项的用途的所述免疫原性组合物，或113或114的用途的所述疫苗，其中所述对象是人类。

[0639] 8. 等价物

[0640] 在本说明书中引证的所有公开物、专利和专利申请通过引用合并在本文中，其程度与特定的或单独的指示通过引用来合并每个单独的公开物或专利申请相同。

[0641] 虽然已经通过例示和实例的方式为了清楚理解的目的较详细地描述了本发明，对于本领域普通技术人员容易理解的是，考虑到本发明的教导，可以对其进行某些变化和修改而不背离附随的权利要求的精神和范围。

[0642] 本发明不能被限定于本文描述的具体实施方式的范围中。实际上，除本文描述的之外对本发明的各种修改根据上述的说明书和附图对于本领域技术人员是显而易见的。这种修改也将落入附随的权利要求的范围之内。

序列表

<110> 西奈山伊坎医学院

<120> 流感病毒血细胞凝集素蛋白及其用途

<130> 6923-261-228

<140> TBA

<141> On even date herewith

<150> 62/350,701

<151> 2016-06-15

<150> 62/355,679

<151> 2016-06-28

<160> 95

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> B/Yamagata/16/88 120 环

<400> 1

Asn Ile Arg Leu Ser Thr His Asn Val Ile Asn Ala Glu Arg Ala Pro

1 5 10 15

Gly Gly Pro Tyr Arg Leu

20

<210> 2

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 120 环,被来自A/Vietnam/1203/04的氨基酸取

代

<400> 2

Lys Ile Gln Leu Ser Thr Lys Asn Val Ile Asn Ala Glu His Ala Pro

1 5 10 15

Gly Gly Pro Tyr Arg Leu

20

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> B/Yamagata/16/88 150 环
<400> 3
Asn Val Thr Ser Arg Asn Gly
1 5
<210> 4
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 150 环,被来自A/Vietnam/1203/04 的氨基酸取代
<400> 4
Tyr Gln Gly Lys Ser Ser
1 5
<210> 5
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> B/Yamagata/16/88 160 环
<400> 5
Arg Asp Asn Lys Thr Ala
1 5
<210> 6
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 160 环,被来自A/Vietnam/1203/04 的氨基酸取代
<400> 6
Lys Lys Asn Ser Thr Tyr
1 5
<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> B/Yamagata/16/88 190 螺旋

<400> 7

Asn Lys Asn Gln Met Lys Asn

1 5

<210> 8

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 190 螺旋,被来自A/Vietnam/1203/04的氨基酸取代

<400> 8

Asn Asp Ala Ala Met Gln Thr

1 5

<210> 9

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> B/Hong Kong/8/73 HA 信号肽

<400> 9

Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala

1 5 10 15

<210> 10

<211> 344

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> B/Hong Kong/8/73 HA HA1 多肽(无信号肽)

<400> 10

Asp Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val

1 5 10 15

Lys Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu

20 25 30

Thr Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Gln

35 40 45

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

50 55 60

$\langle 210 \rangle$	11
$\langle 211 \rangle$	223
$\langle 212 \rangle$	PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> B/Hong Kong/8/73 HA HA2 多肽 (无终止密码子)

<400> 11

Gly	Phe	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly	Phe	Leu	Glu	Gly	Gly	Trp	Glu	Gly
1				5					10					15	
Met	Ile	Ala	Gly	Trp	His	Gly	Tyr	Thr	Ser	His	Gly	Ala	His	Gly	Val
			20					25					30		
Ala	Val	Ala	Ala	Asp	Leu	Lys	Ser	Thr	Gln	Glu	Ala	Ile	Asn	Lys	Ile
			35					40					45		
Thr	Lys	Asn	Leu	Asn	Ser	Leu	Ser	Glu	Leu	Glu	Val	Lys	Asn	Leu	Gln
			50				55					60			
Arg	Leu	Ser	Gly	Ala	Met	Asp	Glu	Leu	His	Asn	Glu	Ile	Leu	Glu	Leu
65					70					75					80
Asp	Glu	Lys	Val	Asp	Asp	Leu	Arg	Ala	Asp	Thr	Ile	Ser	Ser	Gln	Ile
				85					90					95	
Glu	Leu	Ala	Val	Leu	Leu	Ser	Asn	Glu	Gly	Ile	Ile	Asn	Ser	Glu	Asp
			100					105					110		
Glu	His	Leu	Leu	Ala	Leu	Glu	Arg	Lys	Leu	Lys	Lys	Met	Leu	Gly	Pro
			115					120					125		
Ser	Ala	Val	Asp	Ile	Gly	Asn	Gly	Cys	Phe	Glu	Thr	Lys	His	Lys	Cys
			130				135					140			
Asn	Gln	Thr	Cys	Leu	Asp	Arg	Ile	Ala	Ala	Gly	Thr	Phe	Asn	Ala	Gly
145					150					155					160
Glu	Phe	Ser	Leu	Pro	Thr	Phe	Asp	Ser	Leu	Asn	Ile	Thr	Ala	Ala	Ser
				165					170				175		
Leu	Asn	Asp	Asp	Gly	Leu	Asp	Asn	His	Thr	Ile	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Ser
				180				185					190		
Thr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Ala	Val	Thr	Leu	Met	Ile	Ala	Ile	Phe	Ile
			195					200				205			
Val	Tyr	Met	Val	Ser	Arg	Asp	Asn	Val	Ser	Cys	Ser	Ile	Cys	Leu	
			210				215					220			

<210> 12

<211> 530

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> B/Hong Kong/8/73 HA 胞外域 (排除信号肽、跨膜结构域、胞质尾部结构域)

<400> 12

Asp	Arg	Ile	Cys	Thr	Gly	Ile	Thr	Ser	Ser	Asn	Ser	Pro	His	Val	Val
1				5				10					15		
Lys	Thr	Ala	Thr	Gln	Gly	Glu	Val	Asn	Val	Thr	Gly	Val	Ile	Pro	Leu
			20					25					30		
Thr	Thr	Thr	Pro	Thr	Lys	Ser	His	Phe	Ala	Asn	Leu	Lys	Gly	Thr	Gln
		35					40						45		
Thr	Arg	Gly	Lys	Leu	Cys	Pro	Asn	Cys	Leu	Asn	Cys	Thr	Asp	Leu	Asp
	50					55					60				
Val	Ala	Leu	Gly	Arg	Pro	Lys	Cys	Met	Gly	Thr	Ile	Pro	Ser	Ala	Lys
65					70					75					80
Ala	Ser	Ile	Leu	His	Glu	Val	Lys	Pro	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Phe	Pro
				85					90					95	
Ile	Met	His	Asp	Arg	Thr	Lys	Ile	Arg	Gln	Leu	Pro	Asn	Leu	Leu	Arg
			100					105					110		
Gly	Tyr	Glu	Asn	Ile	Arg	Leu	Ser	Ala	Arg	Asn	Val	Thr	Asn	Ala	Glu
		115					120						125		
Thr	Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Tyr	Ile	Val	Gly	Thr	Ser	Gly	Ser	Cys	Pro
	130					135					140				
Asn	Val	Thr	Asn	Gly	Asn	Gly	Phe	Phe	Ala	Thr	Met	Ala	Trp	Ala	Val
145					150					155					160
Pro	Lys	Asn	Lys	Thr	Ala	Thr	Asn	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Val	Pro	Tyr
				165					170					175	
Ile	Cys	Thr	Lys	Gly	Glu	Asp	Gln	Ile	Thr	Val	Trp	Gly	Phe	His	Ser
			180					185					190		
Asp	Asp	Glu	Thr	Gln	Met	Val	Lys	Leu	Tyr	Gly	Asp	Ser	Lys	Pro	Gln
		195					200					205			
Lys	Phe	Thr	Ser	Ser	Ala	Asn	Gly	Val	Thr	Thr	His	Tyr	Val	Ser	Gln
	210					215					220				
Ile	Gly	Gly	Phe	Pro	Asn	Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Gly	Leu	Pro	Gln	Ser
225					230					235					240
Gly	Arg	Ile	Val	Val	Asp	Tyr	Met	Val	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Thr	Gly
			245						250					255	
Thr	Ile	Ala	Tyr	Gln	Arg	Gly	Val	Leu	Leu	Pro	Gln	Lys	Val	Trp	Cys
		260						265					270		
Ala	Ser	Gly	Arg	Ser	Lys	Val	Ile	Lys	Gly	Ser	Leu	Pro	Leu	Ile	Gly
		275					280					285			
Glu	Ala	Asp	Cys	Leu	His	Glu	Lys	Tyr	Gly	Gly	Leu	Asn	Lys	Ser	Lys
	290					295					300				
Pro	Tyr	Tyr	Thr	Gly	Glu	His	Ala	Lys	Ala	Ile	Gly	Asn	Cys	Pro	Ile

305	310	315	320
Trp Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr Arg Pro			
	325	330	335
Pro Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala Gly			
	340	345	350
Phe Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His Gly Tyr			
	355	360	365
Thr Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu Lys Ser			
	370	375	380
Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu Ser			
385	390	395	400
Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp Glu			
	405	410	415
Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu Arg			
	420	425	430
Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser Asn			
	435	440	445
Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu Glu Arg			
	450	455	460
Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Asp Ile Gly Asn Gly			
465	470	475	480
Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg Ile			
	485	490	495
Ala Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe Asp			
	500	505	510
Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp Asn			
	515	520	525
His Thr			
530			
<210> 13			
<211> 27			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> B/Hong Kong/8/73 HA 跨膜结构域			
<400> 13			
Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu Ala Val Thr Leu			
1	5	10	15
Met Ile Ala Ile Phe Ile Val Tyr Met Val Ser			

20	25
<210> 14	
<211> 10	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> B/Hong Kong/8/73 HA 胞质结构域 (不包括终止密码子)	
<400> 14	
Arg Asp Asn Val Ser Cys Ser Ile Cys Leu	
1 5 10	
<210> 15	
<211> 42	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> B/Hong Kong/8/73 HA 茎杆结构域 (包含界面处的丙氨酸;不包括信号肽或终止密码子) 片段 1:	
<400> 15	
Asp Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val	
1 5 10 15	
Lys Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu	
20 25 30	
Thr Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala	
35 40	
<210> 16	
<211> 241	
<212> PRT	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> B/Hong Kong/8/73 HA 茎杆结构域 (包含界面处的丙氨酸;不包括信号肽或终止密码子) 片段 2:	
<400> 16	
Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys Ser Lys Pro	
1 5 10 15	
Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys Pro Ile Trp	
20 25 30	
Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr Arg Pro Pro	
35 40 45	
Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe	

50	55	60
Leu Glu Gly Gly Trp	Glu Gly Met Ile Ala Gly	Trp His Gly Tyr Thr
65	70	75
Ser His Gly Ala His	Gly Val Ala Val Ala Ala	Asp Leu Lys Ser Thr
85	90	95
Gln Glu Ala Ile Asn	Lys Ile Thr Lys Asn Leu	Asn Ser Leu Ser Glu
100	105	110
Leu Glu Val Lys Asn	Leu Gln Arg Leu Ser Gly	Ala Met Asp Glu Leu
115	120	125
His Asn Glu Ile Leu	Glu Leu Asp Glu Lys Val	Asp Asp Leu Arg Ala
130	135	140
Asp Thr Ile Ser Ser	Gln Ile Glu Leu Ala Val	Leu Leu Ser Asn Glu
145	150	155
Gly Ile Ile Asn Ser	Glu Asp Glu His Leu Leu	Ala Leu Glu Arg Lys
165	170	175
Leu Lys Lys Met Leu	Gly Pro Ser Ala Val Asp	Ile Gly Asn Gly Cys
180	185	190
Phe Glu Thr Lys His	Lys Cys Asn Gln Thr Cys	Leu Asp Arg Ile Ala
195	200	205
Ala Gly Thr Phe Asn	Ala Gly Glu Phe Ser Leu	Pro Thr Phe Asp Ser
210	215	220
Leu Asn Ile Thr Ala	Ala Ser Leu Asn Asp Asp	Gly Leu Asp Asn His
225	230	235
Thr		240
<210> 17		
<211> 247		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> B/Hong Kong/8/73 HA 球形头部结构域(不包括丙氨酸)		
<400> 17		
Asn Leu Lys Gly Thr	Gln Thr Arg Gly Lys Leu	Cys Pro Asn Cys Leu
1	5	10
Asn Cys Thr Asp Leu	Asp Val Ala Leu Gly Arg	Pro Lys Cys Met Gly
20	25	30
Thr Ile Pro Ser Ala	Lys Ala Ser Ile Leu His	Glu Val Lys Pro Val
35	40	45
Thr Ser Gly Cys Phe	Pro Ile Met His Asp Arg	Thr Lys Ile Arg Gln
50	55	60

<223> 来自流感 A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒球形头部结构域的序列 (包括N末

端P)

<400> 19

Pro Tyr Gln Gly Lys Ser Ser

1

5

<210> 20

<211> 1862

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 在PR8中拯救的编码 H5-4 环嵌合HA的核酸序列

<400> 20

```

ccgaagttgg gggggagcaa aagcagggga aaataaaaac aaccaaagt aaggcaaacc 60
tactggctct gttaagtgca cttgcagctg cagatgcaga tcgaatctgc actgggataa 120
catcttcaaa ctcacctcat gtggtcaaaa cagctactca aggggaagtt aatgtgactg 180
gtgtgatacc actgacaaca acaccaacaa aatctcattt tgcaaattct aaaggaacaa 240
agaccagagg gaaactatgc ccaaactgtc tcaactgcac agatctggat gtggccttgg 300
gcagaccaat gtgtatgggg ttcatacctt cggcaaaagc ttcaatactc cacgaagtca 360
gacctgttac atccgggtgc tttcctataa tgcacgacag acaaaaatc agacagctac 420
ccaatcttct cagaggatat gaaaaaatcc agttatcaac caaaaacgtt atcaacgcag 480
aacatgcacc aggaggaccc tacagacttg gaacctcaga atcttgccca taccagggaa 540
agtcctcctt cttcgcaaca atggcttggg ctgtcccaaa aaagaacagt acatacacga 600
atccactaac agtagaagta ccatacattt gcacaaaagg agaagaccaa attactgttt 660
gggggttcca ttctgataat gatgcggcaa tgcagacact ctatggagac tcaaatcctc 720
aaaagttcac ctcatctgcc aatggagtaa ccacacatta tgtttctcag attggtgact 780
tcccaaatca aacagaagac ggagggtctac cacaaagcgg cagaattgtt gttgattaca 840
tggtgcaaaa acctgggaaa acaggaacaa ttgtctatca aagaggtgtt ttgttgccctc 900
aaaaggtgtg gtgcgcaagt ggcaggagca aggtaataaa aggttccttg cttttaattg 960
gtgaagcaga ttgccttcac gaaaaatacg gtggattaaa caaaagcaag ctttactaca 1020
caggagaaca tgcaaaagcc ataggaaatt gcccaatatg ggtgaaaaca cttttgaagc 1080
ttgccaatgg aaccaaatat agacctctg caaaactatt aaaggaaagg ggtttcttcg 1140
gagctattgc tggtttctta gagggaggat gggaaggaat gattgcaggt tggcacggat 1200
acacatctca tggagcacat ggagtggcag tggcagcaga ctttaagagc acgcaagaag 1260
ccataaacia gataacaaaa aatctcaatt ctttgagtga gctagaagta aagaatcttc 1320
aaagactaag tggtgccatg gatgaactcc acaacgaaat actcgagctg gatgagaaag 1380
tggatgatct cagagctgac acaataagct cgcaaataga gcttgagctc ttgctttcca 1440
acgaaggaat aataaacagt gaagatgagc atctattggc acttgagaga aaactaaaga 1500
aaatgctggg tccctctgct gtagacatag ggaatggatg cttcgaaacc aaacacaagt 1560
gcaaccagac ctgcttagac aggatagctg ctggcacctt taatgcagga gaattttctc 1620
ttcccacttt tgattcactg aatattactg ctgcatcttt aatgatgat ggattggata 1680

```

attatcagat tctggcgatc tactcaactg tcgccagttc actggtgctt ttggtctccc 1740
tgggggcaat cagtttctgg atgtgttcta atggatcttt gcagtgcaga atatgcatct 1800
gagattagaa tttcagaaat atgaggaaaa acacccttgt ttctactaat aaccggcgcg 1860
cc 1862

<210> 21

<211> 584

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 在PR8中拯救的 H5-4 环嵌合HA的氨基酸序列

<400> 21

Met	Lys	Ala	Asn	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Ser	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Asp
1			5						10						15
Ala	Asp	Arg	Ile	Cys	Thr	Gly	Ile	Thr	Ser	Ser	Asn	Ser	Pro	His	Val
			20						25						30
Val	Lys	Thr	Ala	Thr	Gln	Gly	Glu	Val	Asn	Val	Thr	Gly	Val	Ile	Pro
			35						40						45
Leu	Thr	Thr	Thr	Pro	Thr	Lys	Ser	His	Phe	Ala	Asn	Leu	Lys	Gly	Thr
			50						55						60
Lys	Thr	Arg	Gly	Lys	Leu	Cys	Pro	Asn	Cys	Leu	Asn	Cys	Thr	Asp	Leu
65									70						75
Asp	Val	Ala	Leu	Gly	Arg	Pro	Met	Cys	Met	Gly	Phe	Ile	Pro	Ser	Ala
			85						90						95
Lys	Ala	Ser	Ile	Leu	His	Glu	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Phe
			100						105						110
Pro	Ile	Met	His	Asp	Arg	Thr	Lys	Ile	Arg	Gln	Leu	Pro	Asn	Leu	Leu
			115						120						125
Arg	Gly	Tyr	Glu	Lys	Ile	Gln	Leu	Ser	Thr	Lys	Asn	Val	Ile	Asn	Ala
			130						135						140
Glu	His	Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Tyr	Arg	Leu	Gly	Thr	Ser	Glu	Ser	Cys
145									150						155
															160
Pro	Tyr	Gln	Gly	Lys	Ser	Ser	Phe	Phe	Ala	Thr	Met	Ala	Trp	Ala	Val
			165						170						175
Pro	Lys	Lys	Asn	Ser	Thr	Tyr	Thr	Asn	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Val	Pro
			180						185						190
Tyr	Ile	Cys	Thr	Lys	Gly	Glu	Asp	Gln	Ile	Thr	Val	Trp	Gly	Phe	His
			195						200						205
Ser	Asp	Asn	Asp	Ala	Ala	Met	Gln	Thr	Leu	Tyr	Gly	Asp	Ser	Asn	Pro
			210						215						220

Gln	Lys	Phe	Thr	Ser	Ser	Ala	Asn	Gly	Val	Thr	Thr	His	Tyr	Val	Ser
225						230				235					240
Gln	Ile	Gly	Asp	Phe	Pro	Asn	Gln	Thr	Glu	Asp	Gly	Gly	Leu	Pro	Gln
				245					250					255	
Ser	Gly	Arg	Ile	Val	Val	Asp	Tyr	Met	Val	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Thr
			260					265					270		
Gly	Thr	Ile	Val	Tyr	Gln	Arg	Gly	Val	Leu	Leu	Pro	Gln	Lys	Val	Trp
		275					280					285			
Cys	Ala	Ser	Gly	Arg	Ser	Lys	Val	Ile	Lys	Gly	Ser	Leu	Pro	Leu	Ile
290						295					300				
Gly	Glu	Ala	Asp	Cys	Leu	His	Glu	Lys	Tyr	Gly	Gly	Leu	Asn	Lys	Ser
305					310					315					320
Lys	Pro	Tyr	Tyr	Thr	Gly	Glu	His	Ala	Lys	Ala	Ile	Gly	Asn	Cys	Pro
				325					330					335	
Ile	Trp	Val	Lys	Thr	Pro	Leu	Lys	Leu	Ala	Asn	Gly	Thr	Lys	Tyr	Arg
		340						345					350		
Pro	Pro	Ala	Lys	Leu	Leu	Lys	Glu	Arg	Gly	Phe	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala
		355					360					365			
Gly	Phe	Leu	Glu	Gly	Gly	Trp	Glu	Gly	Met	Ile	Ala	Gly	Trp	His	Gly
370						375					380				
Tyr	Thr	Ser	His	Gly	Ala	His	Gly	Val	Ala	Val	Ala	Ala	Asp	Leu	Lys
385					390				395						400
Ser	Thr	Gln	Glu	Ala	Ile	Asn	Lys	Ile	Thr	Lys	Asn	Leu	Asn	Ser	Leu
			405						410					415	
Ser	Glu	Leu	Glu	Val	Lys	Asn	Leu	Gln	Arg	Leu	Ser	Gly	Ala	Met	Asp
		420						425				430			
Glu	Leu	His	Asn	Glu	Ile	Leu	Glu	Leu	Asp	Glu	Lys	Val	Asp	Asp	Leu
		435					440					445			
Arg	Ala	Asp	Thr	Ile	Ser	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Ala	Val	Leu	Leu	Ser
450						455					460				
Asn	Glu	Gly	Ile	Ile	Asn	Ser	Glu	Asp	Glu	His	Leu	Leu	Ala	Leu	Glu
465					470				475						480
Arg	Lys	Leu	Lys	Lys	Met	Leu	Gly	Pro	Ser	Ala	Val	Asp	Ile	Gly	Asn
			485					490					495		
Gly	Cys	Phe	Glu	Thr	Lys	His	Lys	Cys	Asn	Gln	Thr	Cys	Leu	Asp	Arg
		500						505				510			
Ile	Ala	Ala	Gly	Thr	Phe	Asn	Ala	Gly	Glu	Phe	Ser	Leu	Pro	Thr	Phe
		515					520					525			
Asp	Ser	Leu	Asn	Ile	Thr	Ala	Ala	Ser	Leu	Asn	Asp	Asp	Gly	Leu	Asp

530	535	540
Asn Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val		
545	550	555
Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly		
565	570	575
Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile		

580

<210> 22

<211> 1868

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 在PR8中拯救的编码 H8-4 环嵌合HA的核酸序列

<400> 22

```

ccgaagttgg gggggagcaa aagcagggga aaataaaaac aaccaaagt aaggcaaacc 60
tactggtcct gttaagtgca cttgcagctg cagatgcaga tcgaatctgc actgggataa 120
catcttcaaa ctcacctcat gtggtcaaaa cagctactca aggggaagtt aatgtgactg 180
gtgtgatacc actgacaaca acaccaacaa aatctcattt tgcaaatctc aaaggaacaa 240
agaccagagg gaaactatgc ccaaactgtc tcaactgcac agatctggat gtggccttgg 300
gcagaccaat gtgtatgggg cacatacctt cggcaaaagc ttcaatactc cacgaagtca 360
gacctgttac atccgggtgc tttcctataa tgcacgacag aacaaaaatc agacagctac 420
ccaatcttct cagaggatat gaaaggatca gattatcaac ctacaacgtt atcaacgcag 480
aaaccgcacc aggaggaccc tacagacttg gaacctcaaa atcttgcaat gcttcaacag 540
gaggccaatc tttcttcgca acaatggctt gggctgtccc aaaaagaaa cccgacacct 600
atacgaatcc actaacagta gaagtacat acatttgcac aaaaggagaa gaccaaatta 660
ctgtttgggg gttccattct gatccgatg caaaaatgca aacactctat ggagactcaa 720
atcctcaaaa gttcacctca tctgccaatg gagtaaccac acattatgtt tctcagattg 780
gtgacttccc aaatcaaaca gaagacggag ggctaccaca aagcggcaga attgttgttg 840
attacatggt gcaaaaacct gggaaaacag gaacaattgt ctatcaaaga ggtgttttgt 900
tgcctcaaaa ggtgtggtgc gcaagtggca ggagcaaggt aataaaaggg tccttgcctt 960
taattggtga agcagattgc cttcacgaaa aatacggtag attaaacaaa agcaagcctt 1020
actacacagg agaacatgca aaagccatag gaaattgccc aatatgggtg aaaacacctt 1080
tgaagcttgc caatggaacc aaatatagac ctctgcaaa actattaaag gaaaggggtt 1140
tcttcggagc tattgctggt ttcttagagg gaggatggga aggaatgatt gcaggttggc 1200
acggatacac atctcatgga gcacatggag tggcagtggc agcagacctt aagagcacgc 1260
aagaagccat aaacaagata acaaaaaatc tcaattcttt gagttagcta gaagtaaaga 1320
atcttcaaag actaagtgtt gccatggatg aactccacaa cgaaatactc gagctggatg 1380
agaaagtgga tgatctcaga gctgacacaa taagctcgca aatagagctt gcagtcttgc 1440
tttccaacga aggaataata aacagtgaag atgagcatct attggcactt gagagaaaac 1500

```

taaagaaaat gctgggtccc tctgctgtag acatagggaa tggatgcttc gaaaccaaac 1560
 acaagtgcaa ccagacctgc ttagacagga tagctgctgg cacctttaat gcaggagaat 1620
 tttctcttcc cacttttgat tcactgaata ttactgctgc atctttaaat gatgatggat 1680
 tggataatta tcagattctg gcgatctact caactgtcgc cagttcactg gtgcttttgg 1740
 tctccctggg ggcaatcagt ttctggatgt gttctaattg atctttgcag tgcagaatat 1800
 gcatctgaga ttagaatttc agaaatatga ggaaaaacac ccttgtttct actaataacc 1860
 cggcggcc 1868

<210> 23

<211> 586

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 在PR8中拯救的 H8-4 环嵌合HA的氨基酸序列

<400> 23

Met	Lys	Ala	Asn	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Ser	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Asp	1	5	10	15
Ala	Asp	Arg	Ile	Cys	Thr	Gly	Ile	Thr	Ser	Ser	Asn	Ser	Pro	His	Val	20	25	30	
Val	Lys	Thr	Ala	Thr	Gln	Gly	Glu	Val	Asn	Val	Thr	Gly	Val	Ile	Pro	35	40	45	
Leu	Thr	Thr	Thr	Pro	Thr	Lys	Ser	His	Phe	Ala	Asn	Leu	Lys	Gly	Thr	50	55	60	
Lys	Thr	Arg	Gly	Lys	Leu	Cys	Pro	Asn	Cys	Leu	Asn	Cys	Thr	Asp	Leu	65	70	75	80
Asp	Val	Ala	Leu	Gly	Arg	Pro	Met	Cys	Met	Gly	His	Ile	Pro	Ser	Ala	85	90	95	
Lys	Ala	Ser	Ile	Leu	His	Glu	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Phe	100	105	110	
Pro	Ile	Met	His	Asp	Arg	Thr	Lys	Ile	Arg	Gln	Leu	Pro	Asn	Leu	Leu	115	120	125	
Arg	Gly	Tyr	Glu	Arg	Ile	Arg	Leu	Ser	Thr	Tyr	Asn	Val	Ile	Asn	Ala	130	135	140	
Glu	Thr	Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Tyr	Arg	Leu	Gly	Thr	Ser	Lys	Ser	Cys	145	150	155	160
Asn	Ala	Ser	Thr	Gly	Gly	Gln	Ser	Phe	Phe	Ala	Thr	Met	Ala	Trp	Ala	165	170	175	
Val	Pro	Lys	Lys	Lys	Pro	Asp	Thr	Tyr	Thr	Asn	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	180	185	190	
Val	Pro	Tyr	Ile	Cys	Thr	Lys	Gly	Glu	Asp	Gln	Ile	Thr	Val	Trp	Gly				

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

Asp Arg Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro		
515	520	525
Thr Phe Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly		
530	535	540
Leu Asp Asn Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser		
545	550	555
Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser		
565	570	575
Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile		
580	585	

<210> 24

<211> 1862

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 在PR8中拯救的编码 H11-4 环嵌合HA的核酸序列

<400> 24

```

ccgaagttgg gggggagcaa aagcagggga aaataaaaac aaccaaagt aaggcaaacc 60
tactggtcct gttaagtgca cttgcagctg cagatgcaga tcgaatctgc actgggataa 120
catcttcaaa ctcacctcat gtggtcaaaa cagctactca aggggaagtt aatgtgactg 180
gtgtgatacc actgacaaca acaccaacaa aatctcattt tgcaaattctc aaaggaacaa 240
agaccagagg gaaactatgc ccaaactgtc tcaactgcac agatctggat gtggccttgg 300
gcagaccaat gtgtatgggg ctaatacctt cggcaaaagc ttcaatactc cacgaagtca 360
gacctgttac atccgggtgc tttcctataa tgcacgacag aacaaaaatc agacagctac 420
ccaatcttct cagaggatat gaaaagatcg aattatcaac ctcaaactgt atcaacgcag 480
aagtggcacc aggaggaccc tacagacttg gaacctcaaa atcttgcaaa ttcggaagct 540
ccaattcttt cttcgcaaca atggcttggg ctgtcccaca tcaatcagga acatatacga 600
atccactaac agtagaagta ccatacattt gcacaaaagg agaagaccaa attactgttt 660
gggggttcca ttctgatgcc aactgaaaa tgcaccaact ctatggagac tcaaattctc 720
aaaagttcac ctcatctgcc aatggagtaa ccacacatta tgtttctcag attggtgact 780
tcccaaatca aacagaagac ggagggttac cacaaagcgg cagaattgtt gttgattaca 840
tggtgcaaaa acctgggaaa acaggaacaa ttgtctatca aagaggtgtt ttgttgcttc 900
aaaaggtgtg gtgcgcaagt ggaggagca aggtaataaa aggttccttg cctttaattg 960
gtgaagcaga ttgccttcac gaaaaatacg gtggattaaa caaaagcaag ctttactaca 1020
caggagaaca tgcaaaagcc ataggaaatt gcccaatatg ggtgaaaaca ctttgaagc 1080
ttgccaatgg aaccaaatat agacctcttg caaaactatt aaaggaaagg ggtttcttcg 1140
gagctattgc tggtttctta gagggaggat gggaaggaat gattgcaggt tggcacggat 1200
acacatctca tggagcacat ggagtggcag tggcagcaga ccttaagagc acgcaagaag 1260
ccataaacaa gataacaaaa aatctcaatt ctttgagtga gctagaagta aagaatcttc 1320

```

aaagactaag tgggtgcatg gatgaactcc acaacgaaat actcgagctg gatgagaaag 1380
 tggatgatct cagagctgac acaataagct cgcaaataga gcttgagtc ttgctttcca 1440
 acgaaggaat aataaacagt gaagatgagc atctattggc acttgagaga aaactaaaga 1500
 aaatgctggg tccctctgct gtagacatag ggaatggatg cttcgaaacc aaacacaagt 1560
 gcaaccagac ctgcttagac aggatagctg ctggcacctt taatgcagga gaattttctc 1620
 ttcccacttt tgattcactg aatattactg ctgcatcttt aaatgatgat ggattggata 1680
 attatcagat tctggcgatc tactcaactg tcgccagttc actggtgctt ttggtctccc 1740
 tgggggcaat cagtttctgg atgtgttcta atggatcttt gcagtgcaga atatgcatct 1800
 gagattagaa tttcagaaat atgaggaaaa acacccttgt ttctactaat aaccggcgcg 1860
 cc 1862

<210> 25

<211> 584

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 在PR8中拯救的 H11-4 环嵌合HA的氨基酸序列

<400> 25

Met	Lys	Ala	Asn	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Ser	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Asp	1	5	10	15
Ala	Asp	Arg	Ile	Cys	Thr	Gly	Ile	Thr	Ser	Ser	Asn	Ser	Pro	His	Val	20	25	30	
Val	Lys	Thr	Ala	Thr	Gln	Gly	Glu	Val	Asn	Val	Thr	Gly	Val	Ile	Pro	35	40	45	
Leu	Thr	Thr	Thr	Pro	Thr	Lys	Ser	His	Phe	Ala	Asn	Leu	Lys	Gly	Thr	50	55	60	
Lys	Thr	Arg	Gly	Lys	Leu	Cys	Pro	Asn	Cys	Leu	Asn	Cys	Thr	Asp	Leu	65	70	75	80
Asp	Val	Ala	Leu	Gly	Arg	Pro	Met	Cys	Met	Gly	Leu	Ile	Pro	Ser	Ala	85	90	95	
Lys	Ala	Ser	Ile	Leu	His	Glu	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Phe	100	105	110	
Pro	Ile	Met	His	Asp	Arg	Thr	Lys	Ile	Arg	Gln	Leu	Pro	Asn	Leu	Leu	115	120	125	
Arg	Gly	Tyr	Glu	Lys	Ile	Glu	Leu	Ser	Thr	Ser	Asn	Val	Ile	Asn	Ala	130	135	140	
Glu	Val	Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Tyr	Arg	Leu	Gly	Thr	Ser	Lys	Ser	Cys	145	150	155	160
Lys	Phe	Gly	Ser	Ser	Asn	Ser	Phe	Phe	Ala	Thr	Met	Ala	Trp	Ala	Val	165	170	175	

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

	485		490		495
Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg					
	500		505		510
Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe					
	515		520		525
Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp					
	530		535		540
Asn Tyr Gln Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val					
545		550		555	560
Leu Leu Val Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly					
	565		570		575
Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile					
	580				

<210> 26

<211> 1865

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 在PR8中拯救的编码 H12-4 环嵌合HA的核酸序列

<400> 26

```

ccgaagttag gggggagcaa aagcagggga aaataaaaac aaccaaagt aaggcaaacc 60
tactggctct gtttaagtga cttgcagctg cagatgcaga tcgaatctgc actgggataa 120
catcttcaaa ctcacctcat gtggtcaaaa cagctactca aggggaagtt aatgtgactg 180
gtgtgatacc actgacaaca acaccaaca aatctcattt tgcaaatttc aaaggaaca 240
agaccagagg gaaactatgc ccaaactgtc tcaactgcac agatctggat gtggccttgg 300
gcagaccaat gtgtatgggg tatatactt cggaaaaagc ttcaatactc cacgaagtca 360
gacctgttac atccgggtgc tttcctataa tgcacgacag aacaaaaatc agacagctac 420
ccaatcttct cagaggatat gaaagaatca agttatcaac cttcaacgtt atcaacgcag 480
aaacggcacc aggaggacc tacagacttg gaacctcaaa atcttgcaac aatacatcaa 540
accaaggctc attcttcgca acaatggctt gggctgtccc attaaaatca ggacaattca 600
cgaatccact aacagtagaa gtaccataca ttgacacaaa aggagaagac caaattactg 660
tttgggggtt ccattctgat ccaacatctg atatgcagat actctatgga gactcaaata 720
ctcaaaaagt cacctcatct gccaatggag taaccacaca ttatgtttct cagattggtg 780
acttcccaaa tcaaacagaa gacggagggc taccacaaag cggcagaatt gttgttgatt 840
acatggtgca aaaacctggg aaaacaggaa caattgtcta tcaaagaggt gttttgttgc 900
ctcaaaaagt gtggtgcgca agtggcagga gcaagtaat aaaagggtcc ttgcctttta 960
ttggtgaagc agattgcctt cacgaaaaat acggttgatt aaacaaaagc aagccttact 1020
acacaggaga acatgcaaaa gccataggaa attgccaat atgggtgaaa acacctttga 1080
agcttgccaa tggaacaaaa tatagacctc ctgcaaaact attaaaggaa aggggtttct 1140

```


tcggagctat tgctggtttc ttagaggag gatgggaagg aatgattgca ggttggcacg 1200
gatacacatc tcatggagca catggagtgg cagtggcagc agaccttaag agcacgcaag 1260
aagccataaa caagataaca aaaaatctca attctttgag tgagctagaa gtaaagaatc 1320
ttcaaagact aagtggtgcc atggatgaac tccacaacga aatactcgag ctggatgaga 1380
aagtggatga tctcagagct gacacaataa gctcgcaaat agagcttgca gtcttgcttt 1440
ccaacgaagg aataataaac agtgaagatg agcatctatt ggcacttgag agaaaactaa 1500
agaaaatgct ggggtccctct gctgtagaca tagggaatgg atgcttcgaa accaaacaca 1560
agtgaacca gacctgctta gacaggatag ctgctggcac ctttaatgca ggagaatttt 1620
ctcttcccac ttttgattca ctgaatatta ctgctgcac tttaaatgat gatggattgg 1680
ataattatca gattctggcg atctactcaa ctgtcgccag ttcactggtg cttttggtct 1740
ccctgggggc aatcagtttc tggatgtgtt ctaatggatc tttgcagtgc agaatatgca 1800
tctgagatta gaatttcaga aatatgagga aaaacaccct tgtttctact aataaccgg 1860
cggcc 1865

<210> 27

<211> 585

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 在PR8中拯救的 H12-4 环嵌合HA的氨基酸序列

<400> 27

Met	Lys	Ala	Asn	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Ser	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Asp
1			5						10						15
Ala	Asp	Arg	Ile	Cys	Thr	Gly	Ile	Thr	Ser	Ser	Asn	Ser	Pro	His	Val
			20						25					30	
Val	Lys	Thr	Ala	Thr	Gln	Gly	Glu	Val	Asn	Val	Thr	Gly	Val	Ile	Pro
			35						40					45	
Leu	Thr	Thr	Thr	Pro	Thr	Lys	Ser	His	Phe	Ala	Asn	Leu	Lys	Gly	Thr
			50						55					60	
Lys	Thr	Arg	Gly	Lys	Leu	Cys	Pro	Asn	Cys	Leu	Asn	Cys	Thr	Asp	Leu
65					70					75					80
Asp	Val	Ala	Leu	Gly	Arg	Pro	Met	Cys	Met	Gly	Tyr	Ile	Pro	Ser	Ala
					85					90					95
Lys	Ala	Ser	Ile	Leu	His	Glu	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Phe
			100						105					110	
Pro	Ile	Met	His	Asp	Arg	Thr	Lys	Ile	Arg	Gln	Leu	Pro	Asn	Leu	Leu
			115						120					125	
Arg	Gly	Tyr	Glu	Arg	Ile	Lys	Leu	Ser	Thr	Phe	Asn	Val	Ile	Asn	Ala
			130						135					140	
Glu	Thr	Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Tyr	Arg	Leu	Gly	Thr	Ser	Lys	Ser	Cys

145	150	155	160
Asn Asn Thr Ser Asn Gln Gly Ser Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala			
	165	170	175
Val Pro Leu Lys Ser Gly Gln Phe Thr Asn Pro Leu Thr Val Glu Val			
	180	185	190
Pro Tyr Ile Cys Thr Lys Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe			
	195	200	205
His Ser Asp Pro Thr Ser Asp Met Gln Ile Leu Tyr Gly Asp Ser Asn			
	210	215	220
Pro Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val			
225	230	235	240
Ser Gln Ile Gly Asp Phe Pro Asn Gln Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro			
	245	250	255
Gln Ser Gly Arg Ile Val Val Asp Tyr Met Val Gln Lys Pro Gly Lys			
	260	265	270
Thr Gly Thr Ile Val Tyr Gln Arg Gly Val Leu Leu Pro Gln Lys Val			
	275	280	285
Trp Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu			
	290	295	300
Ile Gly Glu Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys			
305	310	315	320
Ser Lys Pro Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys			
	325	330	335
Pro Ile Trp Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr			
	340	345	350
Arg Pro Pro Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile			
	355	360	365
Ala Gly Phe Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His			
	370	375	380
Gly Tyr Thr Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu			
385	390	395	400
Lys Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser			
	405	410	415
Leu Ser Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met			
	420	425	430
Asp Glu Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp			
	435	440	445
Leu Arg Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu			
450	455	460	

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

<210> 28

<211> 582

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 流感 B/Hong Kong/8/73 病毒 HA

<400> 28

Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala Asp			
1	5	10	15
Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val Lys			
	20	25	30
Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu Thr			
	35	40	45
Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Gln Thr			
	50	55	60
Arg Gly Lys Leu Cys Pro Asn Cys Leu Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val			
65	70	75	80
Ala Leu Gly Arg Pro Lys Cys Met Gly Thr Ile Pro Ser Ala Lys Ala			
	85	90	95
Ser Ile Leu His Glu Val Lys Pro Val Thr Ser Gly Cys Phe Pro Ile			
	100	105	110
Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln Leu Pro Asn Leu Leu Arg Gly			
	115	120	125

Tyr	Glu	Asn	Ile	Arg	Leu	Ser	Ala	Arg	Asn	Val	Thr	Asn	Ala	Glu	Thr
130						135					140				
Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Tyr	Ile	Val	Gly	Thr	Ser	Gly	Ser	Cys	Pro	Asn
145					150					155				160	
Val	Thr	Asn	Gly	Asn	Gly	Phe	Phe	Ala	Thr	Met	Ala	Trp	Ala	Val	Pro
				165					170					175	
Lys	Asn	Lys	Thr	Ala	Thr	Asn	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Val	Pro	Tyr	Ile
			180					185					190		
Cys	Thr	Lys	Gly	Glu	Asp	Gln	Ile	Thr	Val	Trp	Gly	Phe	His	Ser	Asp
	195					200					205				
Asp	Glu	Thr	Gln	Met	Val	Lys	Leu	Tyr	Gly	Asp	Ser	Lys	Pro	Gln	Lys
	210					215				220					
Phe	Thr	Ser	Ser	Ala	Asn	Gly	Val	Thr	Thr	His	Tyr	Val	Ser	Gln	Ile
225				230						235				240	
Gly	Gly	Phe	Pro	Asn	Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Gly	Leu	Pro	Gln	Ser	Gly
				245					250					255	
Arg	Ile	Val	Val	Asp	Tyr	Met	Val	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Thr	Gly	Thr
			260					265					270		
Ile	Ala	Tyr	Gln	Arg	Gly	Val	Leu	Leu	Pro	Gln	Lys	Val	Trp	Cys	Ala
	275					280						285			
Ser	Gly	Arg	Ser	Lys	Val	Ile	Lys	Gly	Ser	Leu	Pro	Leu	Ile	Gly	Glu
	290					295				300					
Ala	Asp	Cys	Leu	His	Glu	Lys	Tyr	Gly	Gly	Leu	Asn	Lys	Ser	Lys	Pro
305				310						315				320	
Tyr	Tyr	Thr	Gly	Glu	His	Ala	Lys	Ala	Ile	Gly	Asn	Cys	Pro	Ile	Trp
			325					330					335		
Val	Lys	Thr	Pro	Leu	Lys	Leu	Ala	Asn	Gly	Thr	Lys	Tyr	Arg	Pro	Pro
			340					345					350		
Ala	Lys	Leu	Leu	Lys	Glu	Arg	Gly	Phe	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly	Phe
	355					360				365					
Leu	Glu	Gly	Gly	Trp	Glu	Gly	Met	Ile	Ala	Gly	Trp	His	Gly	Tyr	Thr
	370					375				380					
Ser	His	Gly	Ala	His	Gly	Val	Ala	Val	Ala	Ala	Asp	Leu	Lys	Ser	Thr
385				390						395				400	
Gln	Glu	Ala	Ile	Asn	Lys	Ile	Thr	Lys	Asn	Leu	Asn	Ser	Leu	Ser	Glu
			405					410					415		
Leu	Glu	Val	Lys	Asn	Leu	Gln	Arg	Leu	Ser	Gly	Ala	Met	Asp	Glu	Leu
			420					425				430			
His	Asn	Glu	Ile	Leu	Glu	Leu	Asp	Glu	Lys	Val	Asp	Asp	Leu	Arg	Ala

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

<210> 29

<211> 565

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 流感 A/Puerto Rico/8/34 病毒 HA

<400> 29

Met Lys Ala Asn Leu Leu Val Leu Leu Ser Ala Leu Ala Ala Ala Asp		
1	5	10
Ala Asp Thr Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Asp Thr		
20	25	30
Val Asp Thr Val Leu Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ser Val Asn		
35	40	45
Leu Leu Glu Asp Ser His Asn Gly Lys Leu Cys Arg Leu Lys Gly Ile		
50	55	60
Ala Pro Leu Gln Leu Gly Lys Cys Asn Ile Ala Gly Trp Leu Leu Gly		
65	70	75
Asn Pro Glu Cys Asp Pro Leu Leu Pro Val Arg Ser Trp Ser Tyr Ile		
85	90	95
Val Glu Thr Pro Asn Ser Glu Asn Gly Ile Cys Tyr Pro Gly Asp Phe		

			100				105				110				
Ile	Asp	Tyr	Glu	Glu	Leu	Arg	Glu	Gln	Leu	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Phe
			115				120				125				
Glu	Arg	Phe	Glu	Ile	Phe	Pro	Lys	Glu	Ser	Ser	Trp	Pro	Asn	His	Asn
			130				135				140				
Thr	Asn	Gly	Val	Thr	Ala	Ala	Cys	Ser	His	Glu	Gly	Lys	Ser	Ser	Phe
145			150				155				160				
Tyr	Arg	Asn	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr	Glu	Lys	Glu	Gly	Ser	Tyr	Pro	Lys
			165				170				175				
Leu	Lys	Asn	Ser	Tyr	Val	Asn	Lys	Lys	Gly	Lys	Glu	Val	Leu	Val	Leu
			180				185				190				
Trp	Gly	Ile	His	His	Pro	Pro	Asn	Ser	Lys	Glu	Gln	Gln	Asn	Ile	Tyr
			195				200				205				
Gln	Asn	Glu	Asn	Ala	Tyr	Val	Ser	Val	Val	Thr	Ser	Asn	Tyr	Asn	Arg
210			215				220								
Arg	Phe	Thr	Pro	Glu	Ile	Ala	Glu	Arg	Pro	Lys	Val	Arg	Asp	Gln	Ala
225			230				235				240				
Gly	Arg	Met	Asn	Tyr	Tyr	Trp	Thr	Leu	Leu	Lys	Pro	Gly	Asp	Thr	Ile
			245				250				255				
Ile	Phe	Glu	Ala	Asn	Gly	Asn	Leu	Ile	Ala	Pro	Met	Tyr	Ala	Phe	Ala
			260				265				270				
Leu	Ser	Arg	Gly	Phe	Gly	Ser	Gly	Ile	Ile	Thr	Ser	Asn	Ala	Ser	Met
275			280				285								
His	Glu	Cys	Asn	Thr	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Leu	Gly	Ala	Ile	Asn	Ser
290			295				300								
Ser	Leu	Pro	Tyr	Gln	Asn	Ile	His	Pro	Val	Thr	Ile	Gly	Glu	Cys	Pro
305			310				315				320				
Lys	Tyr	Val	Arg	Ser	Ala	Lys	Leu	Arg	Met	Val	Thr	Gly	Leu	Arg	Asn
			325				330				335				
Thr	Pro	Ser	Ile	Gln	Ser	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly	Phe
340			345				350								
Ile	Glu	Gly	Gly	Trp	Thr	Gly	Met	Ile	Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly	Tyr	His
355			360				365								
His	Gln	Asn	Glu	Gln	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ala	Ala	Asp	Gln	Lys	Ser	Thr
370			375				380								
Gln	Asn	Ala	Ile	Asn	Gly	Ile	Thr	Asn	Lys	Val	Asn	Thr	Val	Ile	Glu
385			390				395				400				
Lys	Met	Asn	Ile	Gln	Phe	Thr	Ala	Val	Gly	Lys	Glu	Phe	Asn	Lys	Leu
			405				410				415				

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

<210> 30

<211> 583

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 流感 B/Yamagata/16/88 病毒 HA

<400> 30

Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala Asp
 1 5 10 15
 Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val Lys
 20 25 30
 Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu Thr
 35 40 45
 Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Lys Thr
 50 55 60
 Arg Gly Lys Leu Cys Pro Asn Cys Leu Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val
 65 70 75 80
 Ala Leu Gly Arg Pro Met Cys Met Gly Thr Ile Pro Ser Ala Lys Ala
 85 90 95

Ser	Ile	Leu	His	Glu	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Phe	Pro	Ile		
100						105					110						
Met	His	Asp	Arg	Thr	Lys	Ile	Arg	Gln	Leu	Pro	Asn	Leu	Leu	Arg	Gly		
115						120					125						
Tyr	Glu	Asn	Ile	Arg	Leu	Ser	Thr	His	Asn	Val	Ile	Asn	Ala	Glu	Arg		
130						135					140						
Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Tyr	Arg	Leu	Gly	Thr	Ser	Glu	Ser	Cys	Pro	Asn		
145						150					155					160	
Val	Thr	Ser	Arg	Asn	Gly	Phe	Phe	Ala	Thr	Met	Ala	Trp	Ala	Val	Pro		
165						170					175						
Arg	Asp	Asn	Lys	Thr	Ala	Thr	Asn	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Val	Pro	Tyr		
180						185					190						
Ile	Cys	Thr	Lys	Gly	Glu	Asp	Gln	Ile	Thr	Val	Trp	Gly	Phe	His	Ser		
195						200					205						
Asp	Asn	Lys	Asn	Gln	Met	Lys	Asn	Leu	Tyr	Gly	Asp	Ser	Asn	Pro	Gln		
210						215					220						
Lys	Phe	Thr	Ser	Ser	Ala	Asn	Gly	Val	Thr	Thr	His	Tyr	Val	Ser	Gln		
225						230					235					240	
Ile	Gly	Asp	Phe	Pro	Asn	Gln	Thr	Glu	Asp	Gly	Gly	Leu	Pro	Gln	Ser		
245						250					255						
Gly	Arg	Ile	Val	Val	Asp	Tyr	Met	Val	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Thr	Gly		
260						265					270						
Thr	Ile	Val	Tyr	Gln	Arg	Gly	Val	Leu	Leu	Pro	Gln	Lys	Val	Trp	Cys		
275						280					285						
Ala	Ser	Gly	Arg	Ser	Lys	Val	Ile	Lys	Gly	Ser	Leu	Pro	Leu	Ile	Gly		
290						295					300						
Glu	Ala	Asp	Cys	Leu	His	Glu	Lys	Tyr	Gly	Gly	Leu	Asn	Lys	Ser	Lys		
305						310					315					320	
Pro	Tyr	Tyr	Thr	Gly	Glu	His	Ala	Lys	Ala	Ile	Gly	Asn	Cys	Pro	Ile		
325						330					335						
Trp	Val	Lys	Thr	Pro	Leu	Lys	Leu	Ala	Asn	Gly	Thr	Lys	Tyr	Arg	Pro		
340						345					350						
Pro	Ala	Lys	Leu	Leu	Lys	Glu	Arg	Gly	Phe	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly		
355						360					365						
Phe	Leu	Glu	Gly	Gly	Trp	Glu	Gly	Met	Ile	Ala	Gly	Trp	His	Gly	Tyr		
370						375					380						
Thr	Ser	His	Gly	Ala	His	Gly	Val	Ala	Val	Ala	Ala	Asp	Leu	Lys	Ser		
385						390					395					400	
Thr	Gln	Glu	Ala	Ile	Asn	Lys	Ile	Thr	Lys	Asn	Leu	Asn	Ser	Leu	Ser		

405	410	415
Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp Glu		
420	425	430
Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu Arg		
435	440	445
Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser Asn		
450	455	460
Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu Glu Arg		
465	470	475
Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Asp Ile Gly Asn Gly		
485	490	495
Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg Ile		
500	505	510
Ala Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe Asp		
515	520	525
Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp Asn		
530	535	540
His Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu Ala Val		
545	550	555
Thr Leu Met Ile Ala Ile Phe Ile Val Tyr Met Val Ser Arg Asp Asn		
565	570	575
Val Ser Cys Ser Ile Cys Leu		
580		

<210> 31

<211> 1742

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 编码流感 A/mallard/Sweden/24/2002 病毒 HA的核酸序列

<400> 31

```

gcaaaagcag gggtcacaat ggagaagttc atcataatgg caatgctctt ggtgagcaca 60
aatgcatatg ataggatatg cattggatac caatcaaaca actccactga cacagtaaac 120
acactcatag agcaaaatgt gccagtcacc cagacaatgg aactagtgga aaccgagaaa 180
catcctgcct attgcaatac tgatttgggt gtcctactag agttgcgtga ttgcaagatt 240
gaggcgggtga tctatgggaa cccaaaatgt gacatccact tgaaagacca aggttggtca 300
tacatagtgg agagaccag tgcaccagag gggatgtgct accctggatc agtgagaat 360
ctcgaagagt tgaggtttgt tttctccagt gctgcttctt aaaaaggat aagattgttt 420
gattactcca gatggaatgt taccagatct gggacaagca aggcattgcaa tgcttcaaca 480
ggaggccaat ctttctatcg gagcatcaat tggctaacta aaaagaaacc cgacacctat 540

```

gacttcaatg aggggactta tatcaataat gaagatgggg acataatttt cttatggggg 600
 attcatcacc caccgatgc aaaagagcaa acaacactgt acaagaatgc aaatactttg 660
 agtagtgta ctaccaacac tataaacagg agcttccaac ccaatatcgg gccaggcca 720
 ctggtgagag ggcaacaagg gcggatggac tattattggg gcattttgaa gaggggagaa 780
 acttttaaaaa ttagaaccaa tgggaacctg atcgcgctg aattcgggta tctgctcaaa 840
 ggggagagcc atggcagaat aattcaaaat gaggacatac caattgggag ttgtcacacg 900
 aaatgtcaga catacgcagg agcaattaat agcagcaaac cttttcagaa trcaagcagg 960
 cactacatgg gagaatgtcc caagtatgtg aagaaggaaa gcttacggct ggcagttgga 1020
 cttagaaaca ctcttctat tgaaccaga ggcttgtttg gagccattgc tggttttatt 1080
 gaagggggat ggtctgggat gattgatgga tggatgggt ttcaccatag taattcagaa 1140
 ggaacaggaa tggcggccga tcagaaatcg acacaagaag caattgacaa aatcaccaat 1200
 aaggtcaata atatagttga taaaatgaac aggaatttg aagtagtgaa ccatgagttt 1260
 tccgaagtcg aaaaaagaat aaacatgata atgacaaaa ttgatgacca gattgaagat 1320
 ctttgggcct acaatgcaga gcttctggtc ctctagaga accagaaaac actggatgaa 1380
 cagcactcca atgtcaaaaa tctctttgat gaagtaagaa ggagactttc agccaatgca 1440
 atagatactg ggaatggctg cttcgacata ctccacaaat gtgacaacga gtgcatggag 1500
 accataaaga atgggactta taaccataaa gagtatgagg aagaggccaa gctggaaagg 1560
 agcaagatta acggagtaaa gctagaggaa aataccacct ataaaattct cagcatttac 1620
 agtacggtgg cggccagtct ttgcttgga atcctgattg ctggaggtct aatcctgggc 1680
 atgcaaaatg gatctttag atgcatgttc tgtatttaag aaaaaacacc cttgtttcta 1740
 ct 1742

<210> 32

<211> 566

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 流感 A/mallard/Sweden/24/2002 病毒HA的氨基酸序列

<220>

<221> misc_feature

<222> (312) .. (312)

<223> Xaa 可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 32

Met Glu Lys Phe Ile Ile Met Ala Met Leu Leu Val Ser Thr Asn Ala

1 5 10 15

Tyr Asp Arg Ile Cys Ile Gly Tyr Gln Ser Asn Asn Ser Thr Asp Thr

20 25 30

Val Asn Thr Leu Ile Glu Gln Asn Val Pro Val Thr Gln Thr Met Glu

35 40 45

Leu Val Glu Thr Glu Lys His Pro Ala Tyr Cys Asn Thr Asp Leu Gly

50	55	60
Ala Pro Leu Glu Leu Arg Asp Cys Lys Ile Glu Ala Val Ile Tyr Gly		
65	70	75
Asn Pro Lys Cys Asp Ile His Leu Lys Asp Gln Gly Trp Ser Tyr Ile		80
85	90	95
Val Glu Arg Pro Ser Ala Pro Glu Gly Met Cys Tyr Pro Gly Ser Val		
100	105	110
Glu Asn Leu Glu Glu Leu Arg Phe Val Phe Ser Ser Ala Ala Ser Tyr		
115	120	125
Lys Arg Ile Arg Leu Phe Asp Tyr Ser Arg Trp Asn Val Thr Arg Ser		
130	135	140
Gly Thr Ser Lys Ala Cys Asn Ala Ser Thr Gly Gly Gln Ser Phe Tyr		
145	150	155
Arg Ser Ile Asn Trp Leu Thr Lys Lys Lys Pro Asp Thr Tyr Asp Phe		
165	170	175
Asn Glu Gly Thr Tyr Ile Asn Asn Glu Asp Gly Asp Ile Ile Phe Leu		
180	185	190
Trp Gly Ile His His Pro Pro Asp Ala Lys Glu Gln Thr Thr Leu Tyr		
195	200	205
Lys Asn Ala Asn Thr Leu Ser Ser Val Thr Thr Asn Thr Ile Asn Arg		
210	215	220
Ser Phe Gln Pro Asn Ile Gly Pro Arg Pro Leu Val Arg Gly Gln Gln		
225	230	235
Gly Arg Met Asp Tyr Tyr Trp Gly Ile Leu Lys Arg Gly Glu Thr Leu		
245	250	255
Lys Ile Arg Thr Asn Gly Asn Leu Ile Ala Pro Glu Phe Gly Tyr Leu		
260	265	270
Leu Lys Gly Glu Ser His Gly Arg Ile Ile Gln Asn Glu Asp Ile Pro		
275	280	285
Ile Gly Ser Cys His Thr Lys Cys Gln Thr Tyr Ala Gly Ala Ile Asn		
290	295	300
Ser Ser Lys Pro Phe Gln Asn Xaa Ser Arg His Tyr Met Gly Glu Cys		
305	310	315
Pro Lys Tyr Val Lys Lys Glu Ser Leu Arg Leu Ala Val Gly Leu Arg		
325	330	335
Asn Thr Pro Ser Ile Glu Pro Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly		
340	345	350
Phe Ile Glu Gly Gly Trp Ser Gly Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly Phe		
355	360	365

His	His	Ser	Asn	Ser	Glu	Gly	Thr	Gly	Met	Ala	Ala	Asp	Gln	Lys	Ser
370						375					380				
Thr	Gln	Glu	Ala	Ile	Asp	Lys	Ile	Thr	Asn	Lys	Val	Asn	Asn	Ile	Val
385					390					395					400
Asp	Lys	Met	Asn	Arg	Glu	Phe	Glu	Val	Val	Asn	His	Glu	Phe	Ser	Glu
			405						410					415	
Val	Glu	Lys	Arg	Ile	Asn	Met	Ile	Asn	Asp	Lys	Ile	Asp	Asp	Gln	Ile
			420					425					430		
Glu	Asp	Leu	Trp	Ala	Tyr	Asn	Ala	Glu	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Glu	Asn
		435					440					445			
Gln	Lys	Thr	Leu	Asp	Glu	His	Asp	Ser	Asn	Val	Lys	Asn	Leu	Phe	Asp
	450					455					460				
Glu	Val	Arg	Arg	Arg	Leu	Ser	Ala	Asn	Ala	Ile	Asp	Thr	Gly	Asn	Gly
465					470					475					480
Cys	Phe	Asp	Ile	Leu	His	Lys	Cys	Asp	Asn	Glu	Cys	Met	Glu	Thr	Ile
			485						490					495	
Lys	Asn	Gly	Thr	Tyr	Asn	His	Lys	Glu	Tyr	Glu	Glu	Glu	Ala	Lys	Leu
		500						505					510		
Glu	Arg	Ser	Lys	Ile	Asn	Gly	Val	Lys	Leu	Glu	Glu	Asn	Thr	Thr	Tyr
		515					520					525			
Lys	Ile	Leu	Ser	Ile	Tyr	Ser	Thr	Val	Ala	Ala	Ser	Leu	Cys	Leu	Ala
	530					535					540				
Ile	Leu	Ile	Ala	Gly	Gly	Leu	Ile	Leu	Gly	Met	Gln	Asn	Gly	Ser	Cys
545				550					555						560
Arg	Cys	Met	Phe	Cys	Ile										
				565											

<210> 33

<211> 1840

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 编码流感 A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒HA的DNA序列

<400> 33

```

cggatgttgc ccagccggcg ccagcgagga ggctgggacc atgccggcca gcaaaagcag 60
gggttcaatc tgtcaaaatg gagaaaatag tgcttctttt tgcaatagtc agtcttgtta 120
aaagtgatca gatttgcatt ggttaccatg caaacaactc gacagagcag gttgacacaa 180
taatggaaaa gaacgttact gttacacatg cccaagacat actggaaaag aaacacaacg 240
ggaagctctg cgatctagat ggagtgaagc ctctaatttt gagagattgt agcgtagctg 300
gatggctcct cggaaaccca atgtgtgacg aattcatcaa tgtgccgga tggtcttaca 360

```

tagtggagaa ggccaatcca gtcaatgacc tctgttacc agggtattc aatgactatg 420
 aagaattgaa acacctattg agcagaataa accattttga gaaaattcag atcatcccca 480
 aaagttcttg gtccagtcag gaagcctcat taggggtgag ctcagcatgt ccataccagg 540
 gaaagtcctc ctttttcaga aatgtggtat ggcttatcaa aaagaacagt acatacccaa 600
 caataaagag gagctacaat aataccaacc aagaagatct tttggtactg tgggggattc 660
 accatcctaa tgatgcggca gagcagacaa agctctatca aaaccaacc acctatattt 720
 ccgttgggac atcaacacta aaccagagat tggtagcaag aatagctact agatccaaag 780
 taaacgggca aagtggaagg atggagttct tctggacaat tttaaagccg aatgatgcaa 840
 tcaacttcga gagtaatgga aatttcattg ctccagaata tgcatacaaa attgtcaaga 900
 aaggggactc aacaattatg aaaagtgaat tggaatatgg taactgcaac accaagtgtc 960
 aaactccaat gggggcgata aactctagca tgccattcca caatatacac cctctacca 1020
 ttggggaatg ccccaaatat gtgaaatcaa acagattagt ccttgcgact gggctcagaa 1080
 atagccctca gcgggagacg cggggattat ttggagctat agcaggtttt atagaggagg 1140
 gatggcaggg aatggtagat ggttggtagt ggtaccacca tagcaatgag caggggagtg 1200
 ggtacgtgc agacaaagaa tccactcaaa aggcaataga tggagtcacc aataaggtca 1260
 actcgatcat tgacaaaatg aacactcagt ttgaggccgt tggaaggga tttacaact 1320
 tagaaaggag aatagagaat ttaaacaaga agatggaaga cgggttccta gatgtctgga 1380
 cttataatgc tgaacttctg gttctcatgg aaaatgagag aactctagac tttcatgact 1440
 caaatgtcaa gaacctttac gacaaggtcc gactacagct tagggataat gcaaaggagc 1500
 tgggtaacgg ttgtttcgag ttctatcata aatgtgataa tgaatgtatg gaaagtgtaa 1560
 gaaatggaac gtatgactac ccgcagtatt cagaagaagc gagactaaaa agagaggaaa 1620
 taagtggagt aaaattggaa tcaataggaa ttaccaaat actgtcaatt tattctacag 1680
 tggcgagttc cctagcactg gcaatcatgg tagctggtct atccttatgg atgtgctcca 1740
 atgggtcggt acaatgcaga atttgcatth aaatttgtga gttcagattg tagttaaaaa 1800
 cacccttggt tctactaata acccggcggc ccaaatgcc 1840

<210> 34

<211> 585

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 流感 A/Vietnam/1203/04 (HALo) 病毒HA的氨基酸序列

<400> 34

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

50	55	60
Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn		
65	70	75
Pro Met Cys Asp Glu Phe Ile Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val		
85	90	95
Glu Lys Ala Asn Pro Val Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asp Phe Asn		
100	105	110
Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu		
115	120	125
Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Ser Ser His Glu Ala Ser		
130	135	140
Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Lys Ser Ser Phe Phe		
145	150	155
Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Ser Thr Tyr Pro Thr Ile		
165	170	175
Lys Arg Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp		
180	185	190
Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Lys Leu Tyr Gln		
195	200	205
Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg		
210	215	220
Leu Val Pro Arg Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly		
225	230	235
Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn		
245	250	255
Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile		
260	265	270
Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly		
275	280	285
Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Met Gly Ala Ile Asn Ser Ser		
290	295	300
Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys		
305	310	315
Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser		
325	330	335
Pro Gln Arg Glu Thr Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile		
340	345	350
Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His		
355	360	365

Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln		
370	375	380
Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys		
385	390	395 400
Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu		
405	410	415
Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp		
420	425	430
Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg		
435	440	445
Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val		
450	455	460
Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe		
465	470	475 480
Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn		
485	490	495
Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg		
500	505	510
Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Ile Tyr Gln Ile		
515	520	525
Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile Met		
530	535	540
Val Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys		
545	550	555 560
Arg Ile Cys Ile Ile Cys Glu Phe Arg Leu Leu Lys Thr Pro Leu Phe		
565	570	575
Leu Leu Ile Thr Arg Arg Pro Lys Met		
580	585	

<210> 35

<211> 1745

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 编码流感 A/northern shoveler/Netherlands/18/99 病毒HA的序列

<400> 35

```

aaagcagggg ttctattaag aaatcaaaat gaagaaagca ctgctatttg cagctathtt 60
cctttatgca aaggcagatg aaatctgtat cggctactta agcaacaact caacagacaa 120
agttgacaca ataatcgaga acaatgtcac agtgactagc tcagtggaac tagtcgaaac 180
agaacacact ggggtcattct gctcaatcaa tggaaaacaa ccgataagtc ttggagactg 240

```

ctcttttgct ggggtggatat taggtaatcc catgtgtgat gatctaattg gtaagacttc 300
 atggctctac attgtggaga agcccaaccc aacaaatgga atttgttacc ctggaacttt 360
 ggaggatgaa gaagaactga gactgaaatt cagtggagtc ctggaattca gcaagttcga 420
 agcattcaca tcaaattggat ggggtgctgt gaattcggga gcaggagtga ctgctgcatg 480
 caaattcggga agctccaatt ctttcttccg aaacatggta tggcttatac atcaatcagg 540
 aacatatcct gtaataaaga ggacttttaa caataccaaa ggaagagatg tgttgatcgt 600
 ttggggaatt catcaccctg ccacactgaa agagcaccaa gacctataca agaaagacag 660
 ttcctatgta gcagtgggtt cagaaactta caacagaaga ttcaccccag aaatcagcac 720
 taggccccaaa gtcaatggac aggctggacg gatgacattt tattggacaa tgggtcaaacc 780
 aggagagtca ataacatttg agtctaattg tgcattcttg gctcctagat atgcttttga 840
 gattgtctct gttggaaatg ggaaattatt cagaagcgaa ctgagtattg aatcatgctc 900
 taccaaatgc caaacagaag taggagggat taatacaaac aaaagtttcc acagtgttca 960
 taggaacact attggagact gtcccaaata tgtgaatgtc aaatccctaa agcttgccac 1020
 aggacttaga aatgttccag caatagcatc aagaggattg tttggagcaa tagccggatt 1080
 tatagaaggt ggggtggccag ggcttatcaa tggatggtac ggttttcaac acagaaatga 1140
 ggaaggaaca ggcatagcag cagacaggga gtcaactcaa aaggcagtag accagataac 1200
 atccaaagta aacaacatcg tcgacagaat gaatacaaat ttcgagtctg tgcaacacga 1260
 attcagtga atagaggaga ggataaacca attgtcgaaa cacgtagatg attctgttgt 1320
 tgacatctgg tcatataacg cacaactcct cgtttggtt gaaaatgaga aaactctgga 1380
 tctccacgat tccaatgtta ggaatcttca tgagaaagtc agaaggatgc taaaggacaa 1440
 tgccaaagat gagggaaatg gatgcttcac cttttaccac aagtgtgaca acgaatgcat 1500
 cgaaaagggt agaaacggaa catatgatca caaagaattc gaagaagaat caagaatcaa 1560
 tcgccaggag attgaggag tgagattaga ttctagtggg aatgtgtata aaatactgtc 1620
 aatttacagc tgcatcgcaa gcagtcttgt attagcagca ctcatcatgg gtttcatcct 1680
 atgggcgtgc agcaatggat catgtagatg taccatttgc atttagaatt gtggcaaaaa 1740
 ccccc 1745

<210> 36

<211> 565

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 流感 A/northern shoveler/Netherlands/18/99 病毒 HA的序列

<400> 36

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

Val	Glu	Thr	Glu	His	Thr	Gly	Ser	Phe	Cys	Ser	Ile	Asn	Gly	Lys	Gln
50						55					60				
Pro	Ile	Ser	Leu	Gly	Asp	Cys	Ser	Phe	Ala	Gly	Trp	Ile	Leu	Gly	Asn
65				70					75					80	
Pro	Met	Cys	Asp	Asp	Leu	Ile	Gly	Lys	Thr	Ser	Trp	Ser	Tyr	Ile	Val
			85					90					95		
Glu	Lys	Pro	Asn	Pro	Thr	Asn	Gly	Ile	Cys	Tyr	Pro	Gly	Thr	Leu	Glu
			100					105					110		
Asp	Glu	Glu	Glu	Leu	Arg	Leu	Lys	Phe	Ser	Gly	Val	Leu	Glu	Phe	Ser
			115					120				125			
Lys	Phe	Glu	Ala	Phe	Thr	Ser	Asn	Gly	Trp	Gly	Ala	Val	Asn	Ser	Gly
			130					135				140			
Ala	Gly	Val	Thr	Ala	Ala	Cys	Lys	Phe	Gly	Ser	Ser	Asn	Ser	Phe	Phe
145						150				155					160
Arg	Asn	Met	Val	Trp	Leu	Ile	His	Gln	Ser	Gly	Thr	Tyr	Pro	Val	Ile
				165					170					175	
Lys	Arg	Thr	Phe	Asn	Asn	Thr	Lys	Gly	Arg	Asp	Val	Leu	Ile	Val	Trp
			180					185					190		
Gly	Ile	His	His	Pro	Ala	Thr	Leu	Lys	Glu	His	Gln	Asp	Leu	Tyr	Lys
			195					200				205			
Lys	Asp	Ser	Ser	Tyr	Val	Ala	Val	Gly	Ser	Glu	Thr	Tyr	Asn	Arg	Arg
			210					215				220			
Phe	Thr	Pro	Glu	Ile	Ser	Thr	Arg	Pro	Lys	Val	Asn	Gly	Gln	Ala	Gly
225						230				235					240
Arg	Met	Thr	Phe	Tyr	Trp	Thr	Met	Val	Lys	Pro	Gly	Glu	Ser	Ile	Thr
				245					250					255	
Phe	Glu	Ser	Asn	Gly	Ala	Phe	Leu	Ala	Pro	Arg	Tyr	Ala	Phe	Glu	Ile
			260					265					270		
Val	Ser	Val	Gly	Asn	Gly	Lys	Leu	Phe	Arg	Ser	Glu	Leu	Ser	Ile	Glu
			275					280					285		
Ser	Cys	Ser	Thr	Lys	Cys	Gln	Thr	Glu	Val	Gly	Gly	Ile	Asn	Thr	Asn
			290					295				300			
Lys	Ser	Phe	His	Ser	Val	His	Arg	Asn	Thr	Ile	Gly	Asp	Cys	Pro	Lys
305					310					315					320
Tyr	Val	Asn	Val	Lys	Ser	Leu	Lys	Leu	Ala	Thr	Gly	Leu	Arg	Asn	Val
				325					330					335	
Pro	Ala	Ile	Ala	Ser	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly	Phe	Ile
			340						345					350	
Glu	Gly	Gly	Trp	Pro	Gly	Leu	Ile	Asn	Gly	Trp	Tyr	Gly	Phe	Gln	His

355	360	365
Arg Asn Glu Glu Gly Thr Gly Ile Ala Ala Asp Arg Glu Ser Thr Gln		
370	375	380
Lys Ala Val Asp Gln Ile Thr Ser Lys Val Asn Asn Ile Val Asp Arg		
385	390	395
Met Asn Thr Asn Phe Glu Ser Val Gln His Glu Phe Ser Glu Ile Glu		400
	405	410
Glu Arg Ile Asn Gln Leu Ser Lys His Val Asp Asp Ser Val Val Asp		415
	420	425
Ile Trp Ser Tyr Asn Ala Gln Leu Leu Val Trp Leu Glu Asn Glu Lys		430
	435	440
Thr Leu Asp Leu His Asp Ser Asn Val Arg Asn Leu His Glu Lys Val		445
	450	455
Arg Arg Met Leu Lys Asp Asn Ala Lys Asp Glu Gly Asn Gly Cys Phe		460
465	470	475
Thr Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Ile Glu Lys Val Arg Asn		480
	485	490
Gly Thr Tyr Asp His Lys Glu Phe Glu Glu Glu Ser Arg Ile Asn Arg		495
	500	505
Gln Glu Ile Glu Gly Val Arg Leu Asp Ser Ser Gly Asn Val Tyr Lys		510
	515	520
Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Cys Ile Ala Ser Ser Leu Val Leu Ala Ala		525
	530	535
Leu Ile Met Gly Phe Ile Leu Trp Ala Cys Ser Asn Gly Ser Cys Arg		540
545	550	555
Cys Thr Ile Cys Ile		560
	565	

<210> 37

<211> 1712

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 编码 A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007 病毒 HA的序列

<400> 37

```

ggtcacaatg gaaaaattca tcattttgag cactgtcctg gcagtaagct ttgcatatga 60
caaaatttgc attggatata aaacaaacaa ctcgactgag acagtaaaca cactaatcga 120
gcaaaacgtt ccggtgacac aggtggaaga actcgtgcat ggtgggatcg atccggtcct 180
atgtggaacg gagctagggt caccattagt gcttgatgac tggtcactcg aaggtctcat 240
tctaggcaat cccaaatgtg atctttatct gaatggcagg gaatggtcat acatagtaga 300

```

gagggccaaa gaaatggaag gagtttgcta cccaggatca attgaaaatc aagaggagtt 360
 gagatctctg ttttcttcca tcaagaagta tgaagagtg aagatgtttg atttcaccaa 420
 atggaatgtc acgtacactg gaaccagcaa ggcctgcaac aatacatcaa accaaggctc 480
 attctatagg agcatgagat ggtaacctt aaaatcagga caattcccag tccagacaga 540
 tgagtacaag aacaccagag attcggacat tgtcttcacc tgggccatcc atcaccacc 600
 aacatctgat gaacagataa agttatacaa aaatccggat accctctcct cagtcaccac 660
 tgatgaaatc aataggagtt tcaagcctaa cataggacca aggccattag tgagaggaca 720
 acaggggaga atggattact actgggctgt cctcaaacct ggacaaactg tcaaaatata 780
 gaccaatggg aatcttattg cacctgaata tggctactta attacaggga aatcacatgg 840
 caggatactc aagaataact tgcccatagg acagtgtgtg actgagtgcc agttgaatga 900
 aggggtgatg aatacaagta aacctttcca gaacactagt aagcactata ttgggaaatg 960
 tcccaaatac ataccatcag gaagcctgaa attggcgata gggctcagaa atgttccaca 1020
 agttcagaac agaggactat ttggagcaaa agcaggtttc atagaggcg gatggccagg 1080
 actagtggct ggttggtatg gatttcagca tcaaaatgca gaggggacag gcatagccgc 1140
 agacagagac agcactcaga aggcaataga caatatgcaa aacaaactca acaatgtcat 1200
 tgacaaaatg aacaaacaat ttgaagtggg gaatcatgag ttttcagaag tggaaagcag 1260
 aataaacatg attaatccc aaattgatga tcaataaact gacatatggg catacaatgc 1320
 tgaactgctt gtcctattgg aaaatcagaa gacattagat gagcatgatg ctaatgtaag 1380
 aaacttacac gatagagtca gaagagtcct aagagaaaat gcaattgata caggagatgg 1440
 ttgctttgaa attctgcata aatgtgacaa caattgcatg gacacaatca gaaatgggac 1500
 atacaatcac aaggagtatg aggaagaaag caaaatcgaa cgacagaaaa ttaatggtgt 1560
 caaacttgag gagaattcta catataaaat tctgagcatc tacagcagtg ttgcctcaag 1620
 cttagttcta ctgctcatga ttattggggg tttcattttc ggggtgtcaaa atggaaatgt 1680
 tcgttgtact ttctgtattt aattaaaaac ac 1712

<210> 38

<211> 564

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> A_mallard_interior Alaska_7MP0167_2007 病毒 HA的序列

<400> 38

Met Glu Lys Phe Ile Ile Leu Ser Thr Val Leu Ala Val Ser Phe Ala

1 5 10 15

Tyr Asp Lys Ile Cys Ile Gly Tyr Gln Thr Asn Asn Ser Thr Glu Thr

20 25 30

Val Asn Thr Leu Ile Glu Gln Asn Val Pro Val Thr Gln Val Glu Glu

35 40 45

Leu Val His Gly Gly Ile Asp Pro Val Leu Cys Gly Thr Glu Leu Gly

50 55 60

Ser	Pro	Leu	Val	Leu	Asp	Asp	Cys	Ser	Leu	Glu	Gly	Leu	Ile	Leu	Gly
65					70					75					80
Asn	Pro	Lys	Cys	Asp	Leu	Tyr	Leu	Asn	Gly	Arg	Glu	Trp	Ser	Tyr	Ile
			85						90					95	
Val	Glu	Arg	Pro	Lys	Glu	Met	Glu	Gly	Val	Cys	Tyr	Pro	Gly	Ser	Ile
			100					105					110		
Glu	Asn	Gln	Glu	Glu	Leu	Arg	Ser	Leu	Phe	Ser	Ser	Ile	Lys	Lys	Tyr
		115					120					125			
Glu	Arg	Val	Lys	Met	Phe	Asp	Phe	Thr	Lys	Trp	Asn	Val	Thr	Tyr	Thr
	130					135					140				
Gly	Thr	Ser	Lys	Ala	Cys	Asn	Asn	Thr	Ser	Asn	Gln	Gly	Ser	Phe	Tyr
145					150					155					160
Arg	Ser	Met	Arg	Trp	Leu	Thr	Leu	Lys	Ser	Gly	Gln	Phe	Pro	Val	Gln
				165					170					175	
Thr	Asp	Glu	Tyr	Lys	Asn	Thr	Arg	Asp	Ser	Asp	Ile	Val	Phe	Thr	Trp
		180						185					190		
Ala	Ile	His	His	Pro	Pro	Thr	Ser	Asp	Glu	Gln	Ile	Lys	Leu	Tyr	Lys
		195					200					205			
Asn	Pro	Asp	Thr	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Thr	Asp	Glu	Ile	Asn	Arg	Ser
	210						215				220				
Phe	Lys	Pro	Asn	Ile	Gly	Pro	Arg	Pro	Leu	Val	Arg	Gly	Gln	Gln	Gly
225					230					235					240
Arg	Met	Asp	Tyr	Tyr	Trp	Ala	Val	Leu	Lys	Pro	Gly	Gln	Thr	Val	Lys
				245					250					255	
Ile	Gln	Thr	Asn	Gly	Asn	Leu	Ile	Ala	Pro	Glu	Tyr	Gly	His	Leu	Ile
		260						265					270		
Thr	Gly	Lys	Ser	His	Gly	Arg	Ile	Leu	Lys	Asn	Asn	Leu	Pro	Ile	Gly
		275					280					285			
Gln	Cys	Val	Thr	Glu	Cys	Gln	Leu	Asn	Glu	Gly	Val	Met	Asn	Thr	Ser
	290					295				300					
Lys	Pro	Phe	Gln	Asn	Thr	Ser	Lys	His	Tyr	Ile	Gly	Lys	Cys	Pro	Lys
305					310					315					320
Tyr	Ile	Pro	Ser	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ala	Ile	Gly	Leu	Arg	Asn	Val
				325					330				335		
Pro	Gln	Val	Gln	Asn	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Lys	Ala	Gly	Phe	Ile
		340						345					350		
Glu	Gly	Gly	Trp	Pro	Gly	Leu	Val	Ala	Gly	Trp	Tyr	Gly	Phe	Gln	His
		355						360				365			
Gln	Asn	Ala	Glu	Gly	Thr	Gly	Ile	Ala	Ala	Asp	Arg	Asp	Ser	Thr	Gln

370	375	380
Lys Ala Ile Asp Asn Met Gln Asn Lys Leu Asn Asn Val Ile Asp Lys		
385	390	395
Met Asn Lys Gln Phe Glu Val Val Asn His Glu Phe Ser Glu Val Glu		
405	410	415
Ser Arg Ile Asn Met Ile Asn Ser Gln Ile Asp Asp Gln Ile Thr Asp		
420	425	430
Ile Trp Ala Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Gln Lys		
435	440	445
Thr Leu Asp Glu His Asp Ala Asn Val Arg Asn Leu His Asp Arg Val		
450	455	460
Arg Arg Val Leu Arg Glu Asn Ala Ile Asp Thr Gly Asp Gly Cys Phe		
465	470	475
Glu Ile Leu His Lys Cys Asp Asn Asn Cys Met Asp Thr Ile Arg Asn		
485	490	495
Gly Thr Tyr Asn His Lys Glu Tyr Glu Glu Glu Ser Lys Ile Glu Arg		
500	505	510
Gln Lys Ile Asn Gly Val Lys Leu Glu Glu Asn Ser Thr Tyr Lys Ile		
515	520	525
Leu Ser Ile Tyr Ser Ser Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Leu Met		
530	535	540
Ile Ile Gly Gly Phe Ile Phe Gly Cys Gln Asn Gly Asn Val Arg Cys		
545	550	555
Thr Phe Cys Ile		

<210> 39

<211> 1775

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 编码流感 A/Puerto Rico/8/34 病毒HA的序列

<400> 39

```

agcaaaagca ggggaaaata aaaacaacca aatgaaggc aaacctactg gtcctgttaa 60
gtgcacttgc agctgcagat gcagacacaa tatgtatagg ctaccatgcg aacaattcaa 120
ccgacactgt tgacacagta ctcgagaaga atgtgacagt gacacactct gttaacctgc 180
tcgaagacag ccacaacgga aaactatgta gattaaaagg aatagcccca ctacaattgg 240
ggaaatgtaa catcgccgga tggtctcttg gaaaccaga atgcgacca ctgttccag 300
tgagatcatg gtcctacatt gtagaaacac caaactctga gaatggaata tgttatccag 360
gagatttcat cgactatgag gagctgaggg agcaattgag ctcagtgtca tcattcgaaa 420
gattcgaaat atttcccaaa gaaagctcat ggcccaacca caacacaaac ggagtaacgg 480

```

cagcatgctc ccatgagggg aaaagcagtt tttacagaaa tttgctatgg ctgacggaga 540
 aggagggctc atacccaaag ctgaaaaatt cttatgtgaa caaaaaagg aaagaagtcc 600
 ttgtactgtg gggatttcat caccgccta acagtaagga acaacagaat atctatcaga 660
 atgaaaatgc ttatgtctct gtagtgactt caaattataa caggagattt accccgaaa 720
 tagcagaaaag acccaaagta agagatcaag ctgggaggat gaactattac tggaccttgc 780
 taaaacccgg agacacaata atatttgagg caaatggaaa tctaatagca ccaatgtatg 840
 ctttcgcact gagtagaggc tttgggtccg gcatcatcac ctcaaacgca tcaatgcatg 900
 agtgtaacac gaagtgtcaa acacccctgg gagctataaa cagcagtctc cttaccaga 960
 atatacacc agtcacaata ggagagtgcc caaatacgt caggagtgcc aaattgagga 1020
 tggttacagg actaaggaac actccgtcca ttcaatccag aggtctattt ggagccattg 1080
 ccggttttat tgaaggggga tggactggaa tgatagatgg atggtatggt tatcatcatc 1140
 agaatgaaca gggatcaggc tatgcagcgg atcaaaaaag cacacaaaat gccattaacg 1200
 ggattacaaa caaggtgaac actgttatcg agaaaatgaa cattcaattc acagctgtgg 1260
 gtaaagaatt caacaaatta gaaaaaagga tggaaaattt aaataaaaaa gttgatgatg 1320
 gatttctgga catttggaac tataatgcag aattgttagt tctactggaa aatgaaagga 1380
 ctctggattt ccatgactca aatgtgaaga atctgtatga gaaagtaaaa agccaattaa 1440
 agaataatgc caaagaaaac ggaaatggat gttttgagtt ctaccacaag tgtgacaatg 1500
 aatgcatgga aagtgtgaaga aatgggactt atgattatcc caaatattca gaagagtcaa 1560
 agttgaacag ggaaaaggta gatggagtga aattggaatc aatggggatc tatcagattc 1620
 tggcgatcta ctcaactgtc gccagttcac tggtgctttt ggtctccctg ggggcaatca 1680
 gtttctggat gtgttctaata ggatcttgc agtgcagaat atgcatctga gattagaatt 1740
 tcagaaatat gaggaaaaac acccttgttt ctact 1775

<210> 40

<211> 560

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 流感 A/Puerto Rico/8/34 病毒HA的序列

<400> 40

Met	Lys	Ala	Asn	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Ser	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Asp
1				5					10					15	
Ala	Asp	Thr	Ile	Cys	Ile	Gly	Tyr	His	Ala	Asn	Asn	Ser	Thr	Asp	Thr
				20					25					30	
Val	Asp	Thr	Val	Leu	Glu	Lys	Asn	Val	Thr	Val	Thr	His	Ser	Val	Asn
				35					40					45	
Leu	Leu	Glu	Asp	Ser	His	Asn	Gly	Lys	Leu	Cys	Arg	Leu	Lys	Gly	Ile
				50					55					60	
Ala	Pro	Leu	Gln	Leu	Gly	Lys	Cys	Asn	Ile	Ala	Gly	Trp	Leu	Leu	Gly
65									70						80

Asn	Pro	Glu	Cys	Asp	Pro	Leu	Leu	Pro	Val	Arg	Ser	Trp	Ser	Tyr	Ile	
				85					90					95		
Val	Glu	Thr	Pro	Asn	Ser	Glu	Asn	Gly	Ile	Cys	Tyr	Pro	Gly	Asp	Phe	
				100					105					110		
Ile	Asp	Tyr	Glu	Glu	Leu	Arg	Glu	Gln	Leu	Ser	Ser	Val	Ser	Ser	Phe	
				115					120					125		
Glu	Arg	Phe	Glu	Ile	Phe	Pro	Lys	Glu	Ser	Ser	Trp	Pro	Asn	His	Asn	
				130					135					140		
Thr	Asn	Gly	Val	Thr	Ala	Ala	Cys	Ser	His	Glu	Gly	Lys	Ser	Ser	Phe	
				145					150					155		
Tyr	Arg	Asn	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr	Glu	Lys	Glu	Gly	Ser	Tyr	Pro	Lys	
				165					170					175		
Leu	Lys	Asn	Ser	Tyr	Val	Asn	Lys	Lys	Gly	Lys	Glu	Val	Leu	Val	Leu	
				180					185					190		
Trp	Gly	Ile	His	His	Pro	Pro	Asn	Ser	Lys	Glu	Gln	Gln	Asn	Ile	Tyr	
				195					200					205		
Gln	Asn	Glu	Asn	Ala	Tyr	Val	Ser	Val	Val	Thr	Ser	Asn	Tyr	Asn	Arg	
				210					215					220		
Arg	Phe	Thr	Pro	Glu	Ile	Ala	Glu	Arg	Pro	Lys	Val	Arg	Asp	Gln	Ala	
				225					230					235		
Gly	Arg	Met	Asn	Tyr	Tyr	Trp	Thr	Leu	Leu	Lys	Pro	Gly	Asp	Thr	Ile	
				245					250					255		
Ile	Phe	Glu	Ala	Asn	Gly	Asn	Leu	Ile	Ala	Pro	Met	Tyr	Ala	Phe	Ala	
				260					265					270		
Leu	Ser	Arg	Gly	Phe	Gly	Ser	Gly	Ile	Ile	Thr	Ser	Asn	Ala	Ser	Met	
				275					280					285		
His	Glu	Cys	Asn	Thr	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro	Leu	Gly	Ala	Ile	Asn	Ser	
				290					295					300		
Ser	Leu	Pro	Tyr	Gln	Asn	Ile	His	Pro	Val	Thr	Ile	Gly	Glu	Cys	Pro	
				305					310					315		
Lys	Tyr	Val	Arg	Ser	Ala	Lys	Leu	Arg	Met	Val	Thr	Gly	Leu	Arg	Asn	
				325					330					335		
Thr	Pro	Ser	Ile	Gln	Ser	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly	Phe	
				340					345					350		
Ile	Glu	Gly	Gly	Trp	Thr	Gly	Met	Ile	Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly	Tyr	His	
				355					360					365		
His	Gln	Asn	Glu	Gln	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ala	Ala	Asp	Gln	Lys	Ser	Thr	
				370					375					380		
Gln	Asn	Ala	Ile	Asn	Gly	Ile	Thr	Asn	Lys	Val	Asn	Thr	Val	Ile	Glu	

385	390	395	400
Lys Met Asn Ile Gln Phe Thr Ala Val Gly Lys Glu Phe Asn Lys Leu			
	405	410	415
Glu Lys Arg Met Glu Asn Leu Asn Lys Lys Val Asp Asp Gly Phe Leu			
	420	425	430
Asp Ile Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Glu			
	435	440	445
Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Glu Lys			
	450	455	460
Val Lys Ser Gln Leu Lys Asn Asn Ala Lys Glu Ile Gly Asn Gly Cys			
465	470	475	480
Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg			
	485	490	495
Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Lys Tyr Ser Glu Glu Ser Lys Leu Asn			
	500	505	510
Arg Glu Lys Val Asp Gly Val Lys Leu Glu Ser Met Gly Ile Tyr Gln			
	515	520	525
Ile Leu Ala Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Val Leu Leu Val			
	530	535	540
Ser Leu Gly Ala Ile Ser Phe Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln			
545	550	555	560

<210> 41

<211> 1879

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 编码流感 B/Yamagata/16/88 病毒 HA的序列

<400> 41

```

agcagaagca gagcattttc taatatccac aaaatgaagg caataattgt actactcatg 60
gtagtaacat ccaacgcaga tcgaatctgc actgggataa catcttcaaa ctcacctcat 120
gtgggtcaaaa cagctactca aggggaagtt aatgtgactg gtgtgatacc actgacaaca 180
acaccaacaa aatctcattt tgcaaatctc aaaggaacaa agaccagagg gaaactatgc 240
ccaaactgtc tcaactgcac agatctggat gtggccttgg gcagaccaat gtgtatgggg 300
accatacctt cggaacaaagc ttcaatactc cacgaagtca gacctgttac atccgggtgc 360
tttcctataa tgcacgacag aacaaaaatc agacagctac ccaatcttct cagaggatat 420
gaaaatatca gattatcaac ccataacgtt atcaacgcag aaagggcacc aggaggaccc 480
tacagacttg gaacctcaga atcttgcctt aacgttacca gtagaaacgg attcttcgca 540
acaatggctt gggctgtccc aagggaacaa aaaacagcaa cgaatccact aacagtagaa 600
gtaccataca ttgcacaaa aggagaagac caaattactg tttgggggtt ccattctgat 660

```


aacaaaaacc aaatgaaaaa cctctatgga gactcaaate ctcaaaagtt cacctcatct 720
 gccaatggag taaccacaca ttatgtttct cagattggtg acttcccaaa tcaaacagaa 780
 gacggagggc taccacaaag cggcagaatt gttgttgatt acatggtgca aaaacctggg 840
 aaaacaggaa caattgtcta tcaaagaggt gttttgttgc ctcaaaaggt gtggtgcgca 900
 agtggcagga gcaaggtaat aaaagggtcc ttgcctttaa ttggtgaagc agattgcctt 960
 cacgaaaaat acggtggatt aaacaaaagc aagccttact acacaggaga acatgcaaaa 1020
 gccataggaa attgcccatt atgggtgaaa acaccttga agcttgccaa tggaacaaaa 1080
 tatagacctc ctgcaaaaact attaaaggaa aggggtttct tcggagctat tgctggtttc 1140
 ttagagggag gatgggaagg aatgattgca ggttggcacg gatacacatc tcatggagca 1200
 catggagtgg cagtggcagc agaccttaag agcacgcaag aagccataaa caagataaca 1260
 aaaaatctca attctttgag tgagctagaa gtaaagaatc ttcaaagact aagtgggtgcc 1320
 atggatgaac tccacaacga aatactcgag ctggatgaga aagtggatga tctcagagct 1380
 gacacaataa gctcgcaaat agagcttgca gtcttgcctt ccaacgaagg aataataaac 1440
 agtgaagatg agcatctatt ggcacttgag agaaaactaa agaaaatgct gggtcctctt 1500
 gctgtagaca tagggaatgg atgcttcgaa accaaacaca agtgcaacca gacctgctta 1560
 gacaggatag ctgctggcac ctttaatgca ggagaatttt ctcttccac ttttgattca 1620
 ctgaatatata ctgctgcatc tttaaatgat gatggattgg ataatacaca tatactgctc 1680
 tactactcaa ctgctgcttc tagtttggcc gtaacattga tgatagctat ttttattggt 1740
 tatatggtct ccagagacaa tgtttcttgc tccatctgtc tataaggaaa attaagccct 1800
 gtattttcct ttattgtagt gcttggttgc ttgttaccat tacaagaaa cgttattgaa 1860
 aaatgctctt gttactact 1879

<210> 42

<211> 583

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 流感 B/Yamagata/16/88 病毒 HA的序列

<400> 42

Met	Lys	Ala	Ile	Ile	Val	Leu	Leu	Met	Val	Val	Thr	Ser	Asn	Ala	Asp
1				5					10					15	
Arg	Ile	Cys	Thr	Gly	Ile	Thr	Ser	Ser	Asn	Ser	Pro	His	Val	Val	Lys
				20					25					30	
Thr	Ala	Thr	Gln	Gly	Glu	Val	Asn	Val	Thr	Gly	Val	Ile	Pro	Leu	Thr
				35					40					45	
Thr	Thr	Pro	Thr	Lys	Ser	His	Phe	Ala	Asn	Leu	Lys	Gly	Thr	Lys	Thr
				50					55					60	
Arg	Gly	Lys	Leu	Cys	Pro	Asn	Cys	Leu	Asn	Cys	Thr	Asp	Leu	Asp	Val
65						70					75			80	
Ala	Leu	Gly	Arg	Pro	Met	Cys	Met	Gly	Thr	Ile	Pro	Ser	Ala	Lys	Ala

				85					90					95			
Ser	Ile	Leu	His	Glu	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Phe	Pro	Ile		
				100					105					110			
Met	His	Asp	Arg	Thr	Lys	Ile	Arg	Gln	Leu	Pro	Asn	Leu	Leu	Arg	Gly		
				115					120					125			
Tyr	Glu	Asn	Ile	Arg	Leu	Ser	Thr	His	Asn	Val	Ile	Asn	Ala	Glu	Arg		
				130					135					140			
Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Tyr	Arg	Leu	Gly	Thr	Ser	Glu	Ser	Cys	Pro	Asn		
145							150				155				160		
Val	Thr	Ser	Arg	Asn	Gly	Phe	Phe	Ala	Thr	Met	Ala	Trp	Ala	Val	Pro		
				165						170				175			
Arg	Asp	Asn	Lys	Thr	Ala	Thr	Asn	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Val	Pro	Tyr		
				180						185				190			
Ile	Cys	Thr	Lys	Gly	Glu	Asp	Gln	Ile	Thr	Val	Trp	Gly	Phe	His	Ser		
				195						200				205			
Asp	Asn	Lys	Asn	Gln	Met	Lys	Asn	Leu	Tyr	Gly	Asp	Ser	Asn	Pro	Gln		
				210						215				220			
Lys	Phe	Thr	Ser	Ser	Ala	Asn	Gly	Val	Thr	Thr	His	Tyr	Val	Ser	Gln		
225							230				235				240		
Ile	Gly	Asp	Phe	Pro	Asn	Gln	Thr	Glu	Asp	Gly	Gly	Leu	Pro	Gln	Ser		
				245						250				255			
Gly	Arg	Ile	Val	Val	Asp	Tyr	Met	Val	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Thr	Gly		
				260						265				270			
Thr	Ile	Val	Tyr	Gln	Arg	Gly	Val	Leu	Leu	Pro	Gln	Lys	Val	Trp	Cys		
				275						280				285			
Ala	Ser	Gly	Arg	Ser	Lys	Val	Ile	Lys	Gly	Ser	Leu	Pro	Leu	Ile	Gly		
				290						295				300			
Glu	Ala	Asp	Cys	Leu	His	Glu	Lys	Tyr	Gly	Gly	Leu	Asn	Lys	Ser	Lys		
305							310				315				320		
Pro	Tyr	Tyr	Thr	Gly	Glu	His	Ala	Lys	Ala	Ile	Gly	Asn	Cys	Pro	Ile		
				325						330				335			
Trp	Val	Lys	Thr	Pro	Leu	Lys	Leu	Ala	Asn	Gly	Thr	Lys	Tyr	Arg	Pro		
				340						345				350			
Pro	Ala	Lys	Leu	Leu	Lys	Glu	Arg	Gly	Phe	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly		
				355						360				365			
Phe	Leu	Glu	Gly	Gly	Trp	Glu	Gly	Met	Ile	Ala	Gly	Trp	His	Gly	Tyr		
				370						375				380			
Thr	Ser	His	Gly	Ala	His	Gly	Val	Ala	Val	Ala	Ala	Asp	Leu	Lys	Ser		
385							390				395				400		

Thr	Gln	Glu	Ala	Ile	Asn	Lys	Ile	Thr	Lys	Asn	Leu	Asn	Ser	Leu	Ser			
					405					410					415			
Glu	Leu	Glu	Val	Lys	Asn	Leu	Gln	Arg	Leu	Ser	Gly	Ala	Met	Asp	Glu			
					420					425					430			
Leu	His	Asn	Glu	Ile	Leu	Glu	Leu	Asp	Glu	Lys	Val	Asp	Asp	Leu	Arg			
					435					440					445			
Ala	Asp	Thr	Ile	Ser	Ser	Gln	Ile	Glu	Leu	Ala	Val	Leu	Leu	Ser	Asn			
					450					455					460			
Glu	Gly	Ile	Ile	Asn	Ser	Glu	Asp	Glu	His	Leu	Leu	Ala	Leu	Glu	Arg			
465					470					475					480			
Lys	Leu	Lys	Lys	Met	Leu	Gly	Pro	Ser	Ala	Val	Asp	Ile	Gly	Asn	Gly			
					485					490					495			
Cys	Phe	Glu	Thr	Lys	His	Lys	Cys	Asn	Gln	Thr	Cys	Leu	Asp	Arg	Ile			
					500					505					510			
Ala	Ala	Gly	Thr	Phe	Asn	Ala	Gly	Glu	Phe	Ser	Leu	Pro	Thr	Phe	Asp			
					515					520					525			
Ser	Leu	Asn	Ile	Thr	Ala	Ala	Ser	Leu	Asn	Asp	Asp	Gly	Leu	Asp	Asn			
					530					535					540			
His	Thr	Ile	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Ser	Thr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Ala	Val			
545					550					555					560			
Thr	Leu	Met	Ile	Ala	Ile	Phe	Ile	Val	Tyr	Met	Val	Ser	Arg	Asp	Asn			
					565					570					575			
Val	Ser	Cys	Ser	Ile	Cys	Leu												
					580													

<210> 43

<211> 1876

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 在B/Yamagata/16/88中拯救的编码 mH5/B 嵌合HA的序列

<400> 43

```

agcagaagca gagcattttc taatatccac aaaatgaagg caataattgt actactcatg 60
gtagtaacat ccaacgcaga tcgaatctgc actgggataa catcttcaaa ctcacctcat 120
gtggtcaaaa cagctactca aggggaagtt aatgtgactg gtgtgatacc actgacaaca 180
acaccaacaa aatctcattt tgcaaatctc aaaggaacaa agaccagagg gaaactatgc 240
ccaaactgtc tcaactgcac agatctggat gtggccttgg gcagaccaat gtgtatgggg 300
ttcatacctt cggcaaaaagc ttcaatactc cacgaagtca gacctgttac atccgggtgc 360
tttctataaa tgcacgacag aacaaaaatc agacagctac ccaatcttct cagaggatat 420
gaaaaaatcc agttatcaac caaaaacgtt atcaacgcag aacatgcacc aggaggaccc 480

```

tacagacttg gaacctcaaa atcttgccca taccaggga agtcctcctt cttcgcaaca 540
 atggcttggg ctgtcccaaa aaagaacagt acatacagc atccactaac agtagaagta 600
 ccatacatTT gcacaaaagg agaagaccaa attactgttt gggggttcca ttctgataat 660
 gatgcggcaa tgcagacact ctatggagac tcaaatcctc aaaagttcac ctcatctgcc 720
 aatggagtaa ccacacatta tgtttctcag attggtgact tcccaaatac aacagaagac 780
 ggagggctac cacaaagcgg cagaattgtt gttgattaca tggtgcaaaa acctgggaaa 840
 acaggaacaa ttgtctatca aagagggtgtt ttgttgccctc aaaagggtgtg gtgcgcaagt 900
 ggcaggagca aggtaataaaa agggctccttg cttttaattg gtgaagcaga ttgccttcac 960
 gaaaaatacg gtggattaaa caaaagcaag cttactaca caggagaaca tgcaaaagcc 1020
 ataggaaatt gcccaatatg ggtgaaaaca ctttgaagc ttgccaatgg aaccaaatat 1080
 agacctcctg caaaactatt aaaggaaagg ggtttcttcg gagctattgc tggtttctta 1140
 gagggaggat gggaaggaat gattgcaggt tggcacggat acacatctca tggagcacat 1200
 ggagtggcag tggcagcaga ccttaagagc acgcaagaag ccataaacia gataacaaaa 1260
 aatctcaatt ctttgagtga gctagaagta aagaatcttc aaagactaag tggtgccatg 1320
 gatgaactcc acaacgaaat actcgagctg gatgagaaag tggatgatct cagagctgac 1380
 acaataagct cgcaaataga gcttgagtc ttgctttcca acgaaggaat aataaacagt 1440
 gaagatgagc atctattggc acttgagaga aaactaaaga aaatgctggg tccctctgct 1500
 gtagacatag ggaatggatg cttcgaaacc aaacacaagt gcaaccagac ctgcttagac 1560
 aggatagctg ctggcacctt taatgcagga gaattttctc ttcccacttt tgattcactg 1620
 aatattactg ctgcatcttt aaatgatgat ggattggata atcactat actgctctac 1680
 tactcaactg ctgcttctag tttggccgta acattgatga tagctatTTT tattgtttat 1740
 atgggtctcca gagacaatgt ttcttgctcc atctgtctat aaggaaaatt aagccctgta 1800
 ttttccttta ttgtagtgct tgtttgcttg ttaccattac aaagaaacgt tattgaaaaa 1860
 tgctcttggt actact 1876

<210> 44

<211> 582

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 在B/Yamagata/16/88中拯救的 mH5/B 嵌合HA的序列

<400> 44

Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala Asp

1 5 10 15

Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val Lys

20 25 30

Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu Thr

35 40 45

Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Lys Thr

50 55 60

Arg Gly Lys Leu Cys Pro Asn Cys Leu Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val			
65	70	75	80
Ala Leu Gly Arg Pro Met Cys Met Gly Phe Ile Pro Ser Ala Lys Ala			
	85	90	95
Ser Ile Leu His Glu Val Arg Pro Val Thr Ser Gly Cys Phe Pro Ile			
	100	105	110
Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln Leu Pro Asn Leu Leu Arg Gly			
	115	120	125
Tyr Glu Lys Ile Gln Leu Ser Thr Lys Asn Val Ile Asn Ala Glu His			
	130	135	140
Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Arg Leu Gly Thr Ser Lys Ser Cys Pro Tyr			
145	150	155	160
Gln Gly Lys Ser Ser Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala Val Pro Lys			
	165	170	175
Lys Asn Ser Thr Tyr Thr Asn Pro Leu Thr Val Glu Val Pro Tyr Ile			
	180	185	190
Cys Thr Lys Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe His Ser Asp			
	195	200	205
Asn Asp Ala Ala Met Gln Thr Leu Tyr Gly Asp Ser Asn Pro Gln Lys			
	210	215	220
Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val Ser Gln Ile			
225	230	235	240
Gly Asp Phe Pro Asn Gln Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro Gln Ser Gly			
	245	250	255
Arg Ile Val Val Asp Tyr Met Val Gln Lys Pro Gly Lys Thr Gly Thr			
	260	265	270
Ile Val Tyr Gln Arg Gly Val Leu Leu Pro Gln Lys Val Trp Cys Ala			
	275	280	285
Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu Ile Gly Glu			
	290	295	300
Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys Ser Lys Pro			
305	310	315	320
Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys Pro Ile Trp			
	325	330	335
Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr Arg Pro Pro			
	340	345	350
Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe			
	355	360	365
Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His Gly Tyr Thr			

370	375	380
Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr		
385	390	395
Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu Ser Glu		400
	405	410
Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp Glu Leu		415
	420	425
His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu Arg Ala		430
	435	440
Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser Asn Glu		445
450	455	460
Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu Glu Arg Lys		
465	470	475
Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Asp Ile Gly Asn Gly Cys		
	485	490
Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg Ile Ala		495
	500	505
Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe Asp Ser		510
515	520	525
Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp Asn His		
530	535	540
Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu Ala Val Thr		
545	550	555
Leu Met Ile Ala Ile Phe Ile Val Tyr Met Val Ser Arg Asp Asn Val		560
	565	570
Ser Cys Ser Ile Cys Leu		575
580		

<210> 45

<211> 1882

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 在B/Yamagata/16/88中拯救的编码 mH8/B 嵌合HA的序列

<400> 45

```

agcagaagca gagcattttc taatatccac aaaatgaagg caataattgt actactcatg 60
gtagtaacat ccaacgcaga tcgaatctgc actgggataa catcttcaaa ctcacctcat 120
gtgggtcaaaa cagctactca aggggaagtt aatgtgactg gtgtgatacc actgacaaca 180
acaccaacaa aatctcattt tgcaaatctc aaaggaacaa agaccagagg gaaactatgc 240
ccaaactgtc tcaactgcac agatctggat gtggccttgg gcagaccaat gtgtatgggg 300

```

cacatacctt cggcaaaagc ttcaatactc cacgaagtca gacctgttac atccgggtgc 360
 tttcctataa tgcacgacag aacaaaaatc agacagctac ccaatcttct cagaggatat 420
 gaaaggatca gattatcaac ctacaacgtt atcaacgcag aaaccgcacc aggaggaccc 480
 tacagacttg gaacctcaaa atcttgcaat gcttcaacag gaggccaatc tttcttcgca 540
 acaatggctt gggctgtccc aaaaaagaaa gcagacacct atacgaatcc actaacagta 600
 gaagtaccat acatttgcac aaaaggagaa gaccaaatta ctgtttgggg gttccattct 660
 gatgcagatg caaaaaatgca aacactctat ggagactcaa atcctcaaaa gttcacctca 720
 tctgccaatg gagtaaccac acattatggt tctcagattg gtgacttccc aaatcaaaca 780
 gaagacggag ggctaccaca aagcggcaga attgttggtg attacatggt gcaaaaacct 840
 gggaaaacag gaacaattgt ctatcaaaga ggtgttttgt tgcctcaaaa ggtgtggtgc 900
 gcaagtggca ggagcaaggt aataaaaaggg tccttgctt taattggtga agcagattgc 960
 cttcacgaaa aatacgggtg attaaacaaa agcaagcctt actacacagg agaacatgca 1020
 aaagccatag gaaattgccc aatatgggtg aaaacacctt tgaagcttgc caatggaacc 1080
 aaatatagac ctctgcaaa actattaaag gaaaggggtt tcttcggagc tattgctggt 1140
 ttcttagagg gaggatggga aggaatgatt gcaggttggc acggatacac atctcatgga 1200
 gcacatggag tggcagtggc agcagacctt aagagcacgc aagaagccat aaacaagata 1260
 acaaaaaatc tcaattcttt gagtgagcta gaagtaaaga atcttcaaag actaagtgtt 1320
 gccatggatg aactccacaa cgaaatactc gagctggatg agaaagtga tgatctcaga 1380
 gctgacacaa taagctcgca aatagagctt gcagtcttgc tttccaacga aggaataata 1440
 aacagtgaag atgagcatct attggcactt gagagaaaac taaagaaaat gctgggtccc 1500
 tctgctgtag acatagggaa tggatgcttc gaaaccaaac acaagtgcaa ccagacctgc 1560
 ttagacagga tagctgctgg cacctttaat gcaggagaat tttctcttcc cacttttgat 1620
 tcaactgaata ttactgctgc atctttaaat gatgatggat tggataatca tactatactg 1680
 ctctactact caactgctgc ttctagtttg gccgtaacat tgatgatagc tatttttatt 1740
 gtttatatgg tctccagaga caatgtttct tgctccatct gtctataagg aaaattaagc 1800
 cctgtatttt cctttattgt agtgcttgtt tgcttggtac cattacaaag aaacgttatt 1860
 gaaaaatgct cttgttacta ct 1882

<210> 46

<211> 584

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 在B/Yamagata/16/88中拯救的 mH8/B 嵌合HA的序列

<400> 46

Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala Asp

1 5 10 15

Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val Lys

20 25 30

Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu Thr

35	40	45
Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Lys Thr		
50	55	60
Arg Gly Lys Leu Cys Pro Asn Cys Leu Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val		
65	70	75
Ala Leu Gly Arg Pro Met Cys Met Gly His Ile Pro Ser Ala Lys Ala		
85	90	95
Ser Ile Leu His Glu Val Arg Pro Val Thr Ser Gly Cys Phe Pro Ile		
100	105	110
Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln Leu Pro Asn Leu Leu Arg Gly		
115	120	125
Tyr Glu Arg Ile Arg Leu Ser Thr Tyr Asn Val Ile Asn Ala Glu Thr		
130	135	140
Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Arg Leu Gly Thr Ser Lys Ser Cys Asn Ala		
145	150	155
Ser Thr Gly Gly Gln Ser Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala Val Pro		
165	170	175
Lys Lys Lys Ala Asp Thr Tyr Thr Asn Pro Leu Thr Val Glu Val Pro		
180	185	190
Tyr Ile Cys Thr Lys Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe His		
195	200	205
Ser Asp Ala Asp Ala Lys Met Gln Thr Leu Tyr Gly Asp Ser Asn Pro		
210	215	220
Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val Ser		
225	230	235
Gln Ile Gly Asp Phe Pro Asn Gln Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro Gln		
245	250	255
Ser Gly Arg Ile Val Val Asp Tyr Met Val Gln Lys Pro Gly Lys Thr		
260	265	270
Gly Thr Ile Val Tyr Gln Arg Gly Val Leu Leu Pro Gln Lys Val Trp		
275	280	285
Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu Ile		
290	295	300
Gly Glu Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys Ser		
305	310	315
Lys Pro Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys Pro		
325	330	335
Ile Trp Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr Arg		
340	345	350

Pro Pro Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala
 355 360 365
 Gly Phe Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His Gly
 370 375 380
 Tyr Thr Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Asp Leu Lys
 385 390 395 400
 Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu
 405 410 415
 Ser Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp
 420 425 430
 Glu Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu
 435 440 445
 Arg Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser
 450 455 460
 Asn Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu Glu
 465 470 475 480
 Arg Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Asp Ile Gly Asn
 485 490 495
 Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg
 500 505 510
 Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe
 515 520 525
 Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp
 530 535 540
 Asn His Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu Ala
 545 550 555 560
 Val Thr Leu Met Ile Ala Ile Phe Ile Val Tyr Met Val Ser Arg Asp
 565 570 575
 Asn Val Ser Cys Ser Ile Cys Leu
 580

<210> 47

<211> 1972

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 在B/Yamagata/16/88中拯救的编码 mH11/B 嵌合HA的序列

<400> 47

agcagaagca gagcattttc taatatccac aaaatgaagg caataattgt actactcatg 60
 gtagtaacat ccaacgcaga tcgaatctgc actgggataa catcttcaaa ctcacctcat 120

gtggtcaaaa cagctactca aggggaagtt aatgtgactg gtgtgatacc actgacaaca 180
 acaccaacaa aatctcattt tgcaaatctc aaaggaacaa agaccagagg gaaactatgc 240
 ccaaactgtc tcaactgcac agatctggat gtggccttgg gcagaccaat gtgtatgggg 300
 ctaatacctt cggcaaaaagc ttcaatactc cacgaagtca gacctgttac atccgggtgc 360
 tttcctataa tgcacgacag aacaaaaatc agacagctac ccaatcttct cagaggatat 420
 gaaaagatcg aattatcaac ctcaaacgtt atcaacgcag aagtggcacc aggaggaccc 480
 tacagacttg gaacctcaga atcttgcctt ttcggaagct ccaattcttt cttcgcaaca 540
 atggcttggg ctgtcccaca tcaatcagga acatatacga atccactaac agtagaagta 600
 ccatacattt gcacaaaagg agaagaccaa attactgttt gggggttcca ttctgatacc 660
 aactgaaaa tgcaccaact ctatggagac tcaaatctc aaaagttcac ctcatctgcc 720
 aatggagtaa ccacacatta tgtttctcag attggtgact tcccaaatca aacagaagac 780
 gaagggtac cacaaagcgg cagaattgtt gttgattaca tggtgcaaaa acctgggaaa 840
 acaggaacaa ttgtctatca aagaggtgtt ttgttgctc aaaaggtgtg gtgcgcaagt 900
 ggcaggagca aggtaataaa agggtccttg cctttaattg gtgaagcaga ttgccttcac 960
 gaaaaatacg gtggattaaa caaaagcaag cttactaca caggagaaca tgcaaaagcc 1020
 ataggaaatt gcccaatatg ggtgaaaaca ctttgaagc ttgccaatgg aaccaaatat 1080
 agacctcctg caaaactatt aaaggaaagg ggtttcttcg gagctattgc tggtttctta 1140
 gagggaggat gggaaggaat gattgcaggt tggcacggat acacatctca tggagcacat 1200
 ggagtggcag tggcagcaga ccttaagagc acgcaagaag ccataaacia gataacaaaa 1260
 aatctcaatt ctttgagtga gctagaagta aagaatcttc aaagactaag tggtgccatg 1320
 gatgaactcc acaacgaaat actcgagctg gatgagaaag tggatgatct cagagctgac 1380
 acaataagct cgcaaataga gcttgagtc ttgctttcca acgaaggaat aataaacagt 1440
 gaagatgagc atctattggc acttgagaga aaactaaaga aaatgctggg tccctctgct 1500
 gtagacatag ggaatggatg cttcgaaacc aaacacaagt gcaaccagac ctgcttagac 1560
 aggatagctg ctggcacctt taatgcagga gaattttctc ttcccacttt tgattcactg 1620
 aatattactg ctgcatcttt aaatgatgat ggattggata atcatactat actgctctac 1680
 tactcaactg ctgcttctag tttggccgta acattgatga tagctatttt tattgtttat 1740
 atgggtctcca gagacaatgt ttcttgcctc atctgtctat aaggaaaatt aagccctgta 1800
 ttttccttta ttgtagtgct tgtttgctt ttaccattac aaagaaacgt tattgaaaaa 1860
 tgctcttggt tactactagg aaaattaagc cctgtatttt cttttattgt agtgcttggt 1920
 tgcttggttac cattacaaag aaacgttatt gaaaaatgct cttgttacta ct 1972

<210> 48

<211> 582

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 在B/Yamagata/16/88中拯救的 mH11/B 嵌合HA的序列

<400> 48

Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala Asp

1	5	10	15
Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val Lys			
20	25	30	
Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu Thr			
35	40	45	
Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala Asn Leu Lys Gly Thr Lys Thr			
50	55	60	
Arg Gly Lys Leu Cys Pro Asn Cys Leu Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val			
65	70	75	80
Ala Leu Gly Arg Pro Met Cys Met Gly Leu Ile Pro Ser Ala Lys Ala			
85	90	95	
Ser Ile Leu His Glu Val Arg Pro Val Thr Ser Gly Cys Phe Pro Ile			
100	105	110	
Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln Leu Pro Asn Leu Leu Arg Gly			
115	120	125	
Tyr Glu Lys Ile Glu Leu Ser Thr Ser Asn Val Ile Asn Ala Glu Val			
130	135	140	
Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Arg Leu Gly Thr Ser Glu Ser Cys Pro Phe			
145	150	155	160
Gly Ser Ser Asn Ser Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala Val Pro His			
165	170	175	
Gln Ser Gly Thr Tyr Thr Asn Pro Leu Thr Val Glu Val Pro Tyr Ile			
180	185	190	
Cys Thr Lys Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe His Ser Asp			
195	200	205	
Thr Thr Leu Lys Met His Gln Leu Tyr Gly Asp Ser Asn Pro Gln Lys			
210	215	220	
Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val Ser Gln Ile			
225	230	235	240
Gly Asp Phe Pro Asn Gln Thr Glu Asp Glu Gly Leu Pro Gln Ser Gly			
245	250	255	
Arg Ile Val Val Asp Tyr Met Val Gln Lys Pro Gly Lys Thr Gly Thr			
260	265	270	
Ile Val Tyr Gln Arg Gly Val Leu Leu Pro Gln Lys Val Trp Cys Ala			
275	280	285	
Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu Ile Gly Glu			
290	295	300	
Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys Ser Lys Pro			
305	310	315	320

Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys Pro Ile Trp		
325	330	335
Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr Arg Pro Pro		
340	345	350
Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe		
355	360	365
Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His Gly Tyr Thr		
370	375	380
Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr		
385	390	395
Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu Ser Glu		
405	410	415
Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp Glu Leu		
420	425	430
His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu Arg Ala		
435	440	445
Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser Asn Glu		
450	455	460
Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu Glu Arg Lys		
465	470	475
Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Asp Ile Gly Asn Gly Cys		
485	490	495
Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg Ile Ala		
500	505	510
Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe Asp Ser		
515	520	525
Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp Asn His		
530	535	540
Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu Ala Val Thr		
545	550	555
Leu Met Ile Ala Ile Phe Ile Val Tyr Met Val Ser Arg Asp Asn Val		
565	570	575
Ser Cys Ser Ile Cys Leu		
580		

<210> 49

<211> 1870

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 在B/Yamagata/16/88中拯救的编码 mH13/B 嵌合HA的序列

<400> 49

```
agcagaagca gagcattttc taatatccac aaaatgaagg caataattgt actactcatg 60
gtagtaacat ccaacgcaga tcgaatctgc actgggataa catcttcaaa ctcacctcat 120
gtgggtcaaaa cagctactca aggggaagtt aatgtgactg gtgtgatacc actgacaaca 180
acaccaacaa aatctcatTT tgcaaTctc aaaggaacaa agaccagagg gaaactatgc 240
ccaaactgtc tcaactgcac agatctggat gtggccttgg gcagaccaat gtgtatgggg 300
aacatacctt cggcaaaaagc ttcaatactc cacgaagtca gacctgttac atccgggtgc 360
tttctataaa tgcacgacag aacaaaaatc agacagctac ccaatcttct cagaggatat 420
gaaagaatcg agttatcaac ccataacgtt atcaacgcag aagtggcacc aggaggaccc 480
tacagacttg gaacctcaaa atcttgccca gataaaggag ccagcagctt cttcgcaaca 540
atggcttggg ctgtcccaaa gagaggaaat cagtatacga atccactaac agtagaagta 600
ccatacatTT gcacaaaagg agaagaccaa attactgttt gggggttcca ttctgatgtt 660
tccacaaaca tggcgaaact ctatggagac tcaaatectc aaaagttcac ctcatctgcc 720
aatggagtaa ccacacatta tgtttctcag attggtgact tcccaaatca aacagaagac 780
ggagggctac cacaaagcgg cagaattgtt gttgattaca tggtgcaaaa acctgggaaa 840
acaggaacaa ttgtctatca aagaggtgtt ttgttgctcTc aaaaggtgtg gtgcgcaagt 900
ggcaggagca aggtaataaa agggtccttg cctttaattg gtgaagcaga ttgccttcac 960
gaaaaatacg gtggattaaa caaaagcaag cttactaca caggagaaca tgcaaaagcc 1020
ataggaaatt gcccaatatg ggtgaaaaca ctttgaagc ttgccaatgg aaccaaatat 1080
agacctctg caaaactatt aaaggaaagg ggtttcttcg gagctattgc tggtttctta 1140
gagggaggat gggaaggaat gattgcaggt tggcacggat acacatctca tggagcacat 1200
ggagtggcag tggcagcaga ccttaagagc acgcaagaag ccataaacia gataacaaaa 1260
aatctcaatt ctttgagtga gctagaagta aagaatcttc aaagactaag tggtgccatg 1320
gatgaactcc acaacgaaat actcgagctg gatgagaaag tggatgatct cagagctgac 1380
acaataagct cgcaaataga gcttgagtc ttgctttcca acgaaggaat aataaacagt 1440
gaagatgagc atctattggc acttgagaga aaactaaaga aaatgctggg tccctctgct 1500
gtagacatag ggaatggatg cttcgaaacc aaacacaagt gcaaccagac ctgcttagac 1560
aggatagctg ctggcacctt taatgcagga gaattttctc ttcccacttt tgattcactg 1620
aatattactg ctgcatcttt aaatgatgat ggattggata atcatactat actgctctac 1680
tactcaactg ctgcttctag tttggccgta acattgatga tagctatTTT tattgtttat 1740
atggctctcca gagacaatgt ttcttgctcc atctgtctat aaggaaaatt aagccctgta 1800
ttttccttta ttgtagtgct tgtttgcttg ttaccattac aaagaaacgt tattgaaaaa 1860
tgctcttggt 1870
```

<210> 50

<211> 582

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 在B/Yamagata/16/88中拯救的 mH13/B 嵌合HA的氨基酸序列

<400> 50

Met	Lys	Ala	Ile	Ile	Val	Leu	Leu	Met	Val	Val	Thr	Ser	Asn	Ala	Asp
1				5					10					15	
Arg	Ile	Cys	Thr	Gly	Ile	Thr	Ser	Ser	Asn	Ser	Pro	His	Val	Val	Lys
			20					25					30		
Thr	Ala	Thr	Gln	Gly	Glu	Val	Asn	Val	Thr	Gly	Val	Ile	Pro	Leu	Thr
		35					40					45			
Thr	Thr	Pro	Thr	Lys	Ser	His	Phe	Ala	Asn	Leu	Lys	Gly	Thr	Lys	Thr
	50					55				60					
Arg	Gly	Lys	Leu	Cys	Pro	Asn	Cys	Leu	Asn	Cys	Thr	Asp	Leu	Asp	Val
65				70					75					80	
Ala	Leu	Gly	Arg	Pro	Met	Cys	Met	Gly	Asn	Ile	Pro	Ser	Ala	Lys	Ala
				85					90					95	
Ser	Ile	Leu	His	Glu	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Phe	Pro	Ile
		100						105					110		
Met	His	Asp	Arg	Thr	Lys	Ile	Arg	Gln	Leu	Pro	Asn	Leu	Leu	Arg	Gly
	115						120					125			
Tyr	Glu	Arg	Ile	Glu	Leu	Ser	Thr	His	Asn	Val	Ile	Asn	Ala	Glu	Val
	130						135					140			
Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Tyr	Arg	Leu	Gly	Thr	Ser	Lys	Ser	Cys	Pro	Asp
145				150					155					160	
Lys	Gly	Ala	Ser	Ser	Phe	Phe	Ala	Thr	Met	Ala	Trp	Ala	Val	Pro	Lys
				165					170					175	
Arg	Gly	Asn	Gln	Tyr	Thr	Asn	Pro	Leu	Thr	Val	Glu	Val	Pro	Tyr	Ile
		180						185					190		
Cys	Thr	Lys	Gly	Glu	Asp	Gln	Ile	Thr	Val	Trp	Gly	Phe	His	Ser	Asp
	195						200					205			
Val	Ser	Thr	Asn	Met	Ala	Lys	Leu	Tyr	Gly	Asp	Ser	Asn	Pro	Gln	Lys
	210					215					220				
Phe	Thr	Ser	Ser	Ala	Asn	Gly	Val	Thr	Thr	His	Tyr	Val	Ser	Gln	Ile
225				230					235					240	
Gly	Asp	Phe	Pro	Asn	Gln	Thr	Glu	Asp	Gly	Gly	Leu	Pro	Gln	Ser	Gly
				245					250					255	
Arg	Ile	Val	Val	Asp	Tyr	Met	Val	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Thr	Gly	Thr
		260						265					270		
Ile	Val	Tyr	Gln	Arg	Gly	Val	Leu	Leu	Pro	Gln	Lys	Val	Trp	Cys	Ala
	275					280							285		
Ser	Gly	Arg	Ser	Lys	Val	Ile	Lys	Gly	Ser	Leu	Pro	Leu	Ile	Gly	Glu

290	295	300
Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys Ser Lys Pro		
305	310	315
Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys Pro Ile Trp		
325	330	335
Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr Arg Pro Pro		
340	345	350
Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe		
355	360	365
Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His Gly Tyr Thr		
370	375	380
Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr		
385	390	395
Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu Ser Glu		
405	410	415
Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp Glu Leu		
420	425	430
His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu Arg Ala		
435	440	445
Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser Asn Glu		
450	455	460
Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu Glu Arg Lys		
465	470	475
Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Asp Ile Gly Asn Gly Cys		
485	490	495
Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg Ile Ala		
500	505	510
Ala Gly Thr Phe Asn Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe Asp Ser		
515	520	525
Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp Asn His		
530	535	540
Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser Thr Ala Ala Ser Ser Leu Ala Val Thr		
545	550	555
Leu Met Ile Ala Ile Phe Ile Val Tyr Met Val Ser Arg Asp Asn Val		
565	570	575
Ser Cys Ser Ile Cys Leu		
580		

<210> 51

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 120 环,被来自 A/Mallard/Sweden/24/2002 病毒 (H8) 的氨基酸取代

<400> 51

Arg Ile Arg Leu Ser Thr Tyr Asn Val Ile Asn Ala Glu Thr Ala Pro

1

5

10

15

Gly Gly Pro Tyr Arg Leu

20

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 150 环,被来自 A/Mallard/Sweden/24/2002 病毒 (H8) 的氨基酸取代

<400> 52

Asn Ala Ser Thr Gly Gly Gln Ser

1

5

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 160 环,被来自 A/Mallard/Sweden/24/2002 病毒 (H8) 的氨基酸取代

<400> 53

Lys Lys Lys Ala Asp Thr Tyr

1

5

<210> 54

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 190 螺旋,被来自 A/Mallard/Sweden/24/2002 病毒 (H8) 的氨基酸取代

<400> 54

Ala Asp Ala Lys Met Gln Thr

1 5
<210> 55
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 120 环,被来自 A/northern shoveler/
Netherlands/18/99 的氨基酸取代
<400> 55
Lys Ile Glu Leu Ser Thr Ser Asn Val Ile Asn Ala Glu Val Ala Pro
1 5 10 15
Gly Gly Pro Tyr Arg Leu
20
<210> 56
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 150 环,被来自 A/northern shoveler/
Netherlands/18/99 的氨基酸取代
<400> 56
Pro Phe Gly Ser Ser Asn Ser
1 5
<210> 57
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 160 环,被来自 A/northern shoveler/
Netherlands/18/99 的氨基酸取代
<400> 57
His Gln Ser Gly Thr Tyr
1 5
<210> 58
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 190 螺旋,被来自 A/northern shoveler/

Netherlands/18/99 的氨基酸取代

<400> 58

Thr Thr Leu Lys Met His Gln

1 5

<210> 59

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 120 环,被来自 A/black headed gull/Sweden/

1/99 的氨基酸取代

<400> 59

Arg Ile Glu Leu Ser Thr His Asn Val Ile Asn Ala Glu Val Ala Pro

1 5 10 15

Gly Gly Pro Tyr Arg Leu

20

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 150 环,被来自 A/black headed gull/Sweden/

1/99 的氨基酸取代

<400> 60

Pro Asp Lys Gly Ala Ser Ser

1 5

<210> 61

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 160 环,被来自 A/black headed gull/Sweden/

1/99 的氨基酸取代

<400> 61

Lys Arg Gly Asn Gln Tyr

1 5

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 190 螺旋,被来自 A/black headed gull/
Sweden/1/99 的氨基酸取代

<400> 62

Val Ser Thr Asn Met Ala Lys

1 5

<210> 63

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 120 环,被来自 A/mallard/interior Alaska/
7MP0167/2007 的氨基酸取代

<400> 63

Arg Ile Lys Leu Ser Thr Phe Asn Val Ile Asn Ala Glu Thr Ala Pro

1 5 10 15

Gly Gly Pro Tyr Arg Leu

20

<210> 64

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 150 环,被来自 A/mallard/interior Alaska/
7MP0167/2007 的氨基酸取代

<400> 64

Asn Asn Thr Ser Asn Gln Gly Ser

1 5

<210> 65

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 160 环,被来自 A/mallard/interior Alaska/
7MP0167/2007 的氨基酸取代

<400> 65

Leu Lys Ser Gly Gln Phe

1 5

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 190 螺旋,被来自 A/mallard/interior Alaska/7MP0167/2007 的氨基酸取代

<400> 66

Pro Thr Ser Asp Met Gln Ile

1 5

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 150 环,被来自 A/northern shoveler/Netherlands/18/99 的氨基酸取代

<400> 67

Lys Phe Gly Ser Ser Asn Ser

1 5

<210> 68

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 160 环,被来自 A/mallard/Sweden/24/2002 的氨基酸取代

<400> 68

Lys Lys Lys Pro Asp Thr Tyr

1 5

<210> 69

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 190 螺旋,被来自 A/mallard/Sweden/24/2002 的氨基酸取代

<400> 69

Pro Asp Ala Lys Met Gln Thr

1 5

<210> 70

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 示例性的 B/Yamagata/16/88 190 螺旋,被来自 A/northern shoveler/
Netherlands/18/99 的氨基酸取代

<400> 70

Ala Thr Leu Lys Met His Gln

1 5

<210> 71

<211> 1765

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 编码流感 A/black headed gull/Sweden/1/99 病毒 HA 的核酸序列

<400> 71

```

agcaaaagca ggggaaaatt tcaacaaact gatacaagag aaatggacat cccagtagtc 60
gcattcttga tattaaccag tacatgcgta caggctgata ggatatgtgt tgggtactta 120
agcaccaact catcagaaaa ggttgacaca ctgttagaaa acgatgttcc ggttacaagc 180
tctgttgatc tgggtgagac taaccacaca ggaacatatt gttctttggg tggaatcagt 240
ccggtgcacc tgggagactg tagcttcgag ggctggattg tagggaaccc tgcctgtgcc 300
agcaacctgg ggatcagaga atggtcatac ttgattgaag atccttctgc tcctcatgga 360
ttgtgctacc caggggagtt agacaacaat ggagaattga ggcacttggt cagtggaatc 420
agatctttca gtagaacaga gttgattgca cctacttctt ggggggcagt gaatgatgga 480
gtatcgtcgg cctgtccaga taaaggagcc agcagctttt accggaactt ggtatggttt 540
gtgaagagag gaaatcagta tcctgtaatc cgcgggacct acaacaacac tactggcaga 600
gatgttttgg ttatatgggg tatacatcac cctgtttcca cagacgaagc gaaacaacta 660
tatgtcaata acaaccata cacgttggtg tctaccagtt catggagtag gaaatacaac 720
ttagagactg gaacccggcc tggatacaat ggccaaaaga gttggatgaa gatttactgg 780
tatttgatgc acccagggga gtcaatcagt ttcgaaagca atggaggatt attggcacc 840
agatatggtt atattattga ggaatatgga aaagggcgaa ttttccaaag ccgcattcga 900
attgctaaat gcaataactaa gtgccaaaca tctgtcgggt ggataaatac caacaaaaca 960
tttcaaaaaca tagagagaaa tgcacttggg gattgcccga aatacataaa atctggacag 1020
ctcaagttag ccaccggact taggaatgta cctgccatat caaacagagg gttgttcggg 1080
gctattgcag gcttcataga aggtggttgg ccaggattaa taaatggttg gtatggattc 1140
caacatcaga acgaacaagg agtgggcatg gctgcagaca aagagtcaac acaaaaggct 1200
attgatcaaa taacaaccaa gataaacaat atcattgaaa aaatgaatgg gaattatgac 1260

```

tccatacgag gtgaattcaa tcaggtggaa caaagaataa atatgcttgc agacagaata 1320
 gatgatgctg taactgatgt atggtcatac aatgcaaagc ttcttgtgtt actagagaac 1380
 gataaaactc tagacatgca tgatgctaata gttagaaacc tgcatgatca agtccgtaga 1440
 gcactaaaga ccaatgcaat tgatgaggga aatggatgtt tcgaactcct ccataaatgc 1500
 aatgactcctt gcatggagac aataagaaat ggaacgtaca atcatacaga atatgaggaa 1560
 gaatccaaat taaagagaca ggaaatagaa ggaataaagc tgaagtcaga cgatagtgtt 1620
 tataaagcac tatcgattta cagctgcatt gcaagcagta ttgtattggt aggactcata 1680
 cttacattca tcatgtgggc atgcagcagt ggcaattgcc ggttcaatat ttgtatataa 1740
 gtagaaaaaaa cacccttgtt ctact 1765

<210> 72

<211> 565

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 流感 A/black headed gull/Sweden/1/99 病毒 HA 的序列

<400> 72

Met	Asp	Ile	Pro	Val	Val	Ala	Phe	Leu	Ile	Leu	Thr	Ser	Thr	Cys	Val
1				5				10						15	
Gln	Ala	Asp	Arg	Ile	Cys	Val	Gly	Tyr	Leu	Ser	Thr	Asn	Ser	Ser	Glu
				20				25						30	
Lys	Val	Asp	Thr	Leu	Leu	Glu	Asn	Asp	Val	Pro	Val	Thr	Ser	Ser	Val
				35				40						45	
Asp	Leu	Val	Glu	Thr	Asn	His	Thr	Gly	Thr	Tyr	Cys	Ser	Leu	Gly	Gly
				50				55						60	
Ile	Ser	Pro	Val	His	Leu	Gly	Asp	Cys	Ser	Phe	Glu	Gly	Trp	Ile	Val
65				70				75						80	
Gly	Asn	Pro	Ala	Cys	Ala	Ser	Asn	Leu	Gly	Ile	Arg	Glu	Trp	Ser	Tyr
				85				90						95	
Leu	Ile	Glu	Asp	Pro	Ser	Ala	Pro	His	Gly	Leu	Cys	Tyr	Pro	Gly	Glu
				100				105						110	
Leu	Asp	Asn	Asn	Gly	Glu	Leu	Arg	His	Leu	Phe	Ser	Gly	Ile	Arg	Ser
				115				120						125	
Phe	Ser	Arg	Thr	Glu	Leu	Ile	Ala	Pro	Thr	Ser	Trp	Gly	Ala	Val	Asn
				130				135						140	
Asp	Gly	Val	Ser	Ser	Ala	Cys	Pro	Asp	Lys	Gly	Ala	Ser	Ser	Phe	Tyr
145				150				155						160	
Arg	Asn	Leu	Val	Trp	Phe	Val	Lys	Arg	Gly	Asn	Gln	Tyr	Pro	Val	Ile
				165				170						175	
Arg	Gly	Thr	Tyr	Asn	Asn	Thr	Thr	Gly	Arg	Asp	Val	Leu	Val	Ile	Trp

	180		185		190
Gly Ile His His Pro Val Ser Thr Asp Glu Ala Lys Gln Leu Tyr Val					
195		200		205	
Asn Asn Asn Pro Tyr Thr Leu Val Ser Thr Ser Ser Trp Ser Arg Lys					
210		215		220	
Tyr Asn Leu Glu Thr Gly Thr Arg Pro Gly Tyr Asn Gly Gln Lys Ser					
225		230		235	240
Trp Met Lys Ile Tyr Trp Tyr Leu Met His Pro Gly Glu Ser Ile Ser					
245		250		255	
Phe Glu Ser Asn Gly Gly Leu Leu Ala Pro Arg Tyr Gly Tyr Ile Ile					
260		265		270	
Glu Glu Tyr Gly Lys Gly Arg Ile Phe Gln Ser Arg Ile Arg Ile Ala					
275		280		285	
Lys Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Ser Val Gly Gly Ile Asn Thr Asn					
290		295		300	
Lys Thr Phe Gln Asn Ile Glu Arg Asn Ala Leu Gly Asp Cys Pro Lys					
305		310		315	320
Tyr Ile Lys Ser Gly Gln Leu Lys Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Val					
325		330		335	
Pro Ala Ile Ser Asn Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile					
340		345		350	
Glu Gly Gly Trp Pro Gly Leu Ile Asn Gly Trp Tyr Gly Phe Gln His					
355		360		365	
Gln Asn Glu Gln Gly Val Gly Met Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln					
370		375		380	
Lys Ala Ile Asp Gln Ile Thr Thr Lys Ile Asn Asn Ile Ile Glu Lys					
385		390		395	400
Met Asn Gly Asn Tyr Asp Ser Ile Arg Gly Glu Phe Asn Gln Val Glu					
405		410		415	
Gln Arg Ile Asn Met Leu Ala Asp Arg Ile Asp Asp Ala Val Thr Asp					
420		425		430	
Val Trp Ser Tyr Asn Ala Lys Leu Leu Val Leu Leu Glu Asn Asp Lys					
435		440		445	
Thr Leu Asp Met His Asp Ala Asn Val Arg Asn Leu His Asp Gln Val					
450		455		460	
Arg Arg Ala Leu Lys Thr Asn Ala Ile Asp Glu Gly Asn Gly Cys Phe					
465		470		475	480
Glu Leu Leu His Lys Cys Asn Asp Ser Cys Met Glu Thr Ile Arg Asn					
485		490		495	

Gly Thr Tyr Asn His Thr Glu Tyr Glu Glu Glu Ser Lys Leu Lys Arg
 500 505 510
 Gln Glu Ile Glu Gly Ile Lys Leu Lys Ser Asp Asp Ser Val Tyr Lys
 515 520 525
 Ala Leu Ser Ile Tyr Ser Cys Ile Ala Ser Ser Ile Val Leu Val Gly
 530 535 540
 Leu Ile Leu Thr Phe Ile Met Trp Ala Cys Ser Ser Gly Asn Cys Arg
 545 550 555 560
 Phe Asn Ile Cys Ile
 565

<210> 73

<211> 585

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠适应的流感 B/Malaysia/2506/2004 病毒 HA 的氨基酸序列

<220>

<221> misc_feature

<222> (212) .. (212)

<223> Xaa = Asn 或 Ser

<220>

<221> misc_feature

<222> (214) .. (214)

<223> Xaa = Asn, Ile, Thr 或 Ser

<400> 73

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

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

$\langle 222 \rangle \quad (197) \dots (197)$

<223> Xaa = Asn 或 Ser

<220>

<221> misc_feature

<222> (199)..(199)

<223> Xaa = Asn, Ile, Thr 或 Ser

<400> 75

Asp	Arg	Ile	Cys	Thr	Gly	Ile	Thr	Ser	Ser	Asn	Ser	Pro	His	Val	Val
1				5				10					15		
Lys	Thr	Ala	Thr	Gln	Gly	Glu	Val	Asn	Val	Thr	Gly	Val	Ile	Pro	Leu
			20					25					30		
Thr	Thr	Thr	Pro	Thr	Lys	Ser	His	Phe	Ala	Asn	Leu	Lys	Gly	Thr	Glu
			35				40					45			
Thr	Arg	Gly	Lys	Leu	Cys	Pro	Lys	Cys	Leu	Asn	Cys	Thr	Asp	Leu	Asp
			50			55				60					
Val	Ala	Leu	Gly	Arg	Pro	Lys	Cys	Thr	Gly	Asn	Ile	Pro	Ser	Ala	Arg
65					70				75					80	
Val	Ser	Ile	Leu	His	Glu	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Phe	Pro
				85					90					95	
Ile	Met	His	Asp	Arg	Thr	Lys	Ile	Arg	Gln	Leu	Pro	Asn	Leu	Leu	Arg
				100					105				110		
Gly	Tyr	Glu	His	Ile	Arg	Leu	Ser	Thr	His	Asn	Val	Ile	Asn	Ala	Glu
			115					120					125		
Asn	Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Tyr	Lys	Ile	Gly	Thr	Ser	Gly	Ser	Cys	Pro
			130				135					140			
Asn	Val	Thr	Asn	Gly	Asn	Gly	Phe	Phe	Ala	Thr	Met	Ala	Trp	Ala	Val
145					150					155				160	
Pro	Lys	Asn	Asp	Asn	Asn	Lys	Thr	Ala	Thr	Asn	Ser	Leu	Thr	Ile	Glu
				165					170					175	
Val	Pro	Tyr	Ile	Cys	Thr	Glu	Gly	Glu	Asp	Gln	Ile	Thr	Val	Trp	Gly
			180					185					190		
Phe	His	Ser	Asp	Xaa	Glu	Xaa	Gln	Met	Ala	Lys	Leu	Tyr	Gly	Asp	Ser
			195				200					205			
Lys	Pro	Gln	Lys	Phe	Thr	Ser	Ser	Ala	Asn	Gly	Val	Thr	Thr	His	Tyr
			210				215					220			
Val	Ser	Gln	Ile	Gly	Gly	Phe	Pro	Asn	Gln	Thr	Glu	Asp	Gly	Gly	Leu
225					230					235				240	
Pro	Gln	Ser	Gly	Arg	Ile	Val	Val	Asp	Tyr	Met	Val	Gln	Lys	Ser	Gly
				245					250					255	
Lys	Thr	Gly	Thr	Ile	Thr	Tyr	Gln	Arg	Gly	Ile	Leu	Leu	Pro	Gln	Lys

260	265	270
Val Trp Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro		
275	280	285
Leu Ile Gly Glu Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn		
290	295	300
Lys Ser Lys Pro Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn		
305	310	315
Cys Pro Ile Trp Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys		
325	330	335
Tyr Arg Pro Pro Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg		
340	345	
<210> 76		
<211> 223		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 小鼠适应的流感 B/Malaysia/2506/2004 病毒HA的HA2		
<400> 76		
Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly		
1	5	10
Met Ile Ala Gly Trp His Gly Tyr Thr Ser His Gly Ala His Gly Val		
20	25	30
Ala Val Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile		
35	40	45
Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu Ser Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln		
50	55	60
Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp Glu Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu		
65	70	75
Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu Arg Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile		
85	90	95
Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser Asn Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp		
100	105	110
Glu His Leu Leu Ala Leu Glu Arg Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro		
115	120	125
Ser Ala Val Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys		
130	135	140
Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asp Ala Gly		
145	150	155
Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser		

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

<210> 77
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 小鼠适应的流感 B/Malaysia/2506/2004 病毒HA的头部序列
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (155) .. (155)
 <223> Xaa = Asn 或 Ser
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (157) .. (157)
 <223> Xaa = Asn, Ile, Thr 或 Ser
 <400> 77

Asn Leu Lys Gly Thr Glu Thr Arg Gly Lys Leu Cys Pro Lys Cys Leu
1 5 10 15
Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val Ala Leu Gly Arg Pro Lys Cys Thr Gly
20 25 30
Asn Ile Pro Ser Ala Arg Val Ser Ile Leu His Glu Val Arg Pro Val
35 40 45
Thr Ser Gly Cys Phe Pro Ile Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln
50 55 60
Leu Pro Asn Leu Leu Arg Gly Tyr Glu His Ile Arg Leu Ser Thr His
65 70 75 80
Asn Val Ile Asn Ala Glu Asn Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Lys Ile Gly
85 90 95
Thr Ser Gly Ser Cys Pro Asn Val Thr Asn Gly Asn Gly Phe Phe Ala
100 105 110
Thr Met Ala Trp Ala Val Pro Lys Asn Asp Asn Asn Lys Thr Ala Thr
115 120 125
Asn Ser Leu Thr Ile Glu Val Pro Tyr Ile Cys Thr Glu Gly Glu Asp

130	135	140
Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe His Ser Asp Xaa Glu Xaa Gln Met Ala		
145	150	155
Lys Leu Tyr Gly Asp Ser Lys Pro Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn		
165	170	175
Gly Val Thr Thr His Tyr Val Ser Gln Ile Gly Gly Phe Pro Asn Gln		
180	185	190
Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro Gln Ser Gly Arg Ile Val Val Asp Tyr		
195	200	205
Met Val Gln Lys Ser Gly Lys Thr Gly Thr Ile Thr Tyr Gln Arg Gly		
210	215	220
Ile Leu Leu Pro Gln Lys Val Trp Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val		
225	230	235
Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu Ile Gly Glu		
245	250	
<210> 78		
<211> 42		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 小鼠适应的流感 B/Malaysia/2506/2004 病毒HA的柄部的N-末端片段		
<400> 78		
Asp Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val		
1	5	10
Lys Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu		
20	25	30
Thr Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala		
35	40	
<210> 79		
<211> 241		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 小鼠适应的流感 B/Malaysia/2506/2004 病毒HA的柄部的C-末端片段		
<400> 79		
Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys Ser Lys Pro		
1	5	10
Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys Pro Ile Trp		
20	25	30

Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr Arg Pro Pro
 35 40 45
 Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 50 55 60
 Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His Gly Tyr Thr
 65 70 75 80
 Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr
 85 90 95
 Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu Ser Glu
 100 105 110
 Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp Glu Leu
 115 120 125
 His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu Arg Ala
 130 135 140
 Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser Asn Glu
 145 150 155 160
 Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu Glu Arg Lys
 165 170 175
 Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Glu Ile Gly Asn Gly Cys
 180 185 190
 Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg Ile Ala
 195 200 205
 Ala Gly Thr Phe Asp Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe Asp Ser
 210 215 220
 Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp Asn His
 225 230 235 240
 Thr

<210> 80

<211> 2312

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠适应的流感 B/Malaysia/2506/2004 病毒 PB1的核苷酸序列

<400> 80

aatataaatc cttatttcct cttcatagat gtgcccatac aggcagcaat ttcaacaaca 60
 ttcccataca ctggtgttcc cccttattcc catggaacgg gaacaggcta cacaatagac 120
 accgtgatca gaacacatga gtactcaarc aaggggaaac agtacatttc tgatgttaca 180
 ggatgcacaa tggtagatcc aacaaatggc ccattaccgg aagataatga gccgagtgcc 240
 tatgcgcaat tagattgcgt ttttagaggct ttggatagaa tggatgaaga acaccaggt 300

ctgtttcaag cagcctcaca gaatgctatg gaggcctaa tggtcacaac tgtagacaaa 360
ttaacccagg ggagacagac ttttgattgg acagtatgca gaaaccaacc tgctgcaacg 420
gcactgaaca caacaataac ctcttttagg ttgaatgatt taaatggagc cgacaaaggt 480
ggattagtag ctttttgcca ggatatcatt gattcattag acagacctga aatgactttc 540
ttctcagtaa agaataataa gaaaaaattg cctgccaaaa acagaaaggg tttcctcata 600
aagaggatag caatgaaggt aaaggacaaa ataaccaaag tggaatacat caaaagagca 660
ttatcattaa acacaatgac aaaagacgct gaaagaggca aactaaaaag aagagcgatt 720
gccaccgctg gaatacaaat cagagggttt gtattagtag ttgaaaactt ggctaaaaat 780
atatgtgaaa atctagaaca aagtggttta ccagtaggtg gaaacgagaa gaaagccaaa 840
ctgtcaaacg cagtggcaaa aatgctcagt aactgcccac ctggagggat cagcatgaca 900
gtaacaggag acaataactaa atggaatgaa tgtttaaacc caagaatctt tttggctatg 960
actgaaagaa taaccagaga cagcccaatt tggttcaggg atttttgtag tatagcaccg 1020
gtcctgttct ccaataagat agccagattg gggaaagggt ttatgataac aagcaaaaca 1080
aagagactga aggctcaaat accttgtcct gatctgttta gtatatcatt agaaagatat 1140
aatgaagaaa caagggcaaa attgaaaaag ctaaaacat tcttcaatga agaaggaact 1200
gcatctttgt cacctgggat gatgatggga atgtttaata tgctatctac cgtgttgggg 1260
gtagctgcac taggtatcaa gaacattgga aacaaagaat acttatggga tggactgcaa 1320
tcttctgatg attttgctct atttgtaaat gcaaaggatg aagaaacatg tatggaagga 1380
ataaacgact tttaccgaac atgtaaatta ttgggaataa acatgagcaa aaagaaaagt 1440
tactgtaatg agactggaat gtttgaattt acaagcatgt tctacagaga tggatttgta 1500
tctaattttg caatggaact cccttcattt ggggttgctg gagtaaata atcagcagat 1560
atggcaatag ggatgacaat aataaagaac aacatgatca acaatggaat ggggccggca 1620
acagcacaaa cagccataca gttattcata gctgattata gatacaccta caaatgccac 1680
aggggagatt ccaaagtaga gggaaagaga atgaaaatca taaaggagtt atgggaaaac 1740
actaaaggaa gagatgggtct attagtagca gatggtgggc ccaacattta caatttgaga 1800
aacttgcata ttccagaaat agtattaaag tataacttaa tggaccctga atacaaaggg 1860
cggttacttc atcctcaaaa tccctttgtg ggacatttgt ctattgaggg catcaaagag 1920
gcagatataa ccccagcaca tgggtccagta aagaaaatgg actacgatgc ggtgtctgga 1980
actcatagtt ggagaaccaa aagaaacaga tctatactaa aactgatca gaggaacatg 2040
attcttgagg aacaatgcta cgctaagtgt tgcaacctat ttgaggcctg ttttaacagt 2100
gcatcataca ggaagccagt gggccaacat agcatgcttg aggctatggc ccacagatta 2160
agaatggatg cacgattaga ttatgaatca ggaagaatgt caaaggatga ttttgagaaa 2220
gcaatggctc accttggtga gattgggtac atataagctt cgaagatgtc tatggggtta 2280
ttggtcatca ttgaatacat gcgatacaca aa 2312

<210> 81

<211> 2358

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠适应的流感 B/Malaysia/2506/2004 病毒 PB2的核苷酸序列

<400> 81

```

ttcaagatga cattggccaa aattgaattg ttaaaacaac tgctaaggga caatgaagcc 60
aaaacagttt tgaagcaaac aacggtagac caatataaca taataagaaa attcaataca 120
tcaaggattg aaaagaatcc ttcactaagg atgaaatggg ccatgtgttc taattttccc 180
ttggctctaa ccaagggcga catggcaaat agaatcccct tggaatacaa aggaatacaa 240
cttaaaaaca atgctgaaga cataggaacc aaaggccaaa tgtgctcaat agcagcagtt 300
acttggtgga atacatatgg accaatagga gatactgaag gtttcgaaag ggtctacgaa 360
agcttttttc tcagaaaaat gagacttgac aatgccactt ggggccgaat aacttttggc 420
ccagttgaaa gagtgagaaa aagggtactg ctaaaccctc tcaccaagga aatgcctcca 480
gatgaggcga gcaatgtgat aatggaaata ttgttcctta aagaagcagg aataccaaga 540
gaatccactt ggatacatag rgaactgata aaagaaaaaa gagaaaaatt gaaaggaaca 600
atgataactc caatcgtact ggcatatag cttgaaagag aactggttgc tcgaagaaga 660
ttcttgccag tggcaggagc aacatcagct gagttcatag aaatgctaca ctgcttaca 720
ggtgaaaatt ggagacaaat atatcaccca ggagggaata aattaactga gtctaggtct 780
caatcaatga tagtagcttg tagaaaaata atcagaagat caatagtcgc ttcaaaccga 840
ctggagctag ctgtagaaat tgcaaacaag actgtgatag atactgaacc tttaaagtca 900
tgtctggcag ccatagacgg aggtgatgta gcttgtgaca taataagagc tgcattagga 960
ctaaagatca gacaaagaca aagatttgga cggcttgagt taaaaagaat atcaggaaga 1020
ggattcaaaa atgatgaaga aatattaata gggaacggaa caatacagaa gattggaata 1080
tgggacgggg aagaggagtt ccatgtaaga tgtggtgaat gcagggaat attaaaaaag 1140
agtaaaatga aactggaaaa actactaata aattcagcca aaaaggagga catgagagat 1200
ttaataatct tatgcatggt attttctcaa gacactagga tggtccaagg ggtgagagga 1260
gaaataaatt ttcttaatcg agcaggccaa cttttatctc caatgtacca actccaacga 1320
tattttttga atagaagcaa cgacctttt gatcaatggg ggtatgagga atcacccaaa 1380
gcaagtgaac tatatgggat aaatgaatca atgaatgcat ctgactatac attgaaaggg 1440
gttgtagtga caagaaatgt aattgacgac tttagctcta ctgaaacaga aaaagtatcc 1500
ataacaaaaa atcttagttt aataaaaagg actggggaag tcataatggg agctaattgac 1560
gtgagtgaat tagaatcaca agcacagctg atgataacat atgatacacc taagatgtgg 1620
gaaatgggaa caaccaaaga actggtgcaa aacacttata aatgggtgct aaaaaacttg 1680
gtaacactga aggctcagtt tcttctagga aaagaggaca tggtccaatg ggatgcattt 1740
gaagcatttg agagcataat tcctcagaag atggctggtc agtacagtgg atttgcaaga 1800
gcagtgtcga aacaaatgag agaccaggag gttatgaaaa ctgaccagtt cataaagttg 1860
ttgccttttt gtttctcacc accaaaatta aggagcaatg gggagcctta tcaattctta 1920
aaacttgatg tgaaaggagg aggggaaaaa ttcacgaag taaggaaagg gtccccctta 1980
ttttcctata atccacaaac agaagtccta accatatgag gcagaatgat gtcattaaaa 2040
gggaaaattg aagatgaaga aaggaataga tcaatgggga atgcagtatt agcaggcttt 2100
ctcgttagtg gcaagtatga cccagatctt ggagatttca aaactattga agaacttgaa 2160
aggctgaaac cgggggaaaa ggcaaatatc ttactttatc aaggaaagcc agttaaagta 2220

```

gttaaaagga aaaggatatag tgctttgtcc aatgacattt cacaaggaat taagagacaa 2280
 agaatgacag ttgagtccat ggggtgggcc ttgagctaata ataaatttat ccattaattc 2340
 aatgaacgca attgagtg 2358

<210> 82

<211> 2248

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠适应的流感 B/Malaysia/2506/2004 病毒 PA 的核苷酸序列

<400> 82

atacttttat tacaagaaac ttccaaacta caataatata aaaggccaga aacacaatgg 60
 cagaatttag tgaagatcct gaattacaac cagcaatgct attcaatata tgcgtccatc 120
 tagaggtttg ctatgtaata agtgacatga attttcttga cgaagaagga aaagcatata 180
 cagcattaga aggacaaggg aaagaacaaa atttgagacc acaatatgaa gtaattgagg 240
 gaatgccaaag aaccatagca tggatggtcc aaagatcctt agctcaagag catggaatag 300
 agactcccaa gtatctggct gatttggttg attataaaac caagagattt atagaagttg 360
 gaataacaaa aggattggct gatgattact tttggaaaaa gaaagaaaag ttgggaaata 420
 gcatggaact gatgatattc agctacaatc aagactactc gttaagtaat gaatcctcat 480
 tggatgagga agggaaaggg agagtgctaa gcagactcac agaacttcag gctgaattaa 540
 gtctgaaaaa cctatggcaa gttctcatag gagaagaaga tggtgaaaag ggaattgact 600
 ttaaaacttg acaaacaata tctagactaa gggatatatc tggtcccgct gggttctcca 660
 attttgaagg aatgaggagc tacatagaca atatagacc aaaaggagca atagagagaa 720
 atctagcaag gatgtctccc ttagtatcag tcacacctaa aaagttgaca tgggaggacc 780
 taagaccaat agggcctcac atttacaacc atgagctacc agaagttcca tataatgcct 840
 ttcttctaata gtctgatgaa ctggggctgg ccaatatgac tgagggaaag tccaaaaaac 900
 cgaagacatt agccaaagaa tgtctagaaa agtactcaac actacgggat caaactracc 960
 caatattaat aatgaaaagc gaaaaagcta atgaaaattt cctatggaag ctttgagag 1020
 actgtgtaaa tacaataagt aatgaggaaa tgagtaacga gttacagaaa accaattatg 1080
 ccaagtgggc cacaggggat ggattaacat accagaaaat aatgaaagaa gtagcaatag 1140
 atgacgaaac aatgtgccaa gaagagccta aaatccctaa taaatgtaga gtggctgctt 1200
 gggttcaaac agagatgaat ctattgagca ctctgacaag taaaagagct ctggacctac 1260
 cagaaatagg gccagacgta gcacccgtgg agcatgtagg gagtgaagaa aggaaatact 1320
 ttgttaatga aatcaactac tgtaaggcct ctacagttat gatgaagtat gtgctttttc 1380
 acacttcatt gttgaatgaa agcaatgcca gcatgggaaa atacaaagta ataccaataa 1440
 ccaatagagt agtaaatgaa acaggagaaa gtttcgacat gctttatggc ctggcggtta 1500
 aaggacaatc tcatctgagg ggagatactg atgttgtaac agttgtaact ttcgaattta 1560
 gtagtacaga cccaagagtg gactcaggaa agtggccaaa atatactgtg tttaggattg 1620
 gctccctatt tgtgagtggg agggaaaaat ctgtgtacct gtattgccga gtgaatggca 1680
 caaataagat ccaaatgaaa tggggaatgg aagctagaag atgtctgctt caatcaatgc 1740

aacaaatgga agcaattgtt gaacaggaat catcgataca gggatatgac atgaccaagg 1800
cttgttttcaa gggagacaga gtaaatagcc caaaacttt cagtattgga actcaagaag 1860
ggaaactagt aaaaggatcc tttggaaaag cactaagagt aatatttact aaatgtttga 1920
tgcactatgt atttggaat gcccaattgg aggggtttag tgccgagtct aggagacttc 1980
tactgttgat ccaagcatta aaggacagaa agggcccttg ggtgttcgac ttagaggga 2040
tgtattctgg aatagaagaa tgtattagca acaacccttg ggtaatacag agtgcatact 2100
ggtttaatga atggttgggc tttgaaaagg aggggagtaa agtgtagaa tcagtggatg 2160
aaataatgga tgaataaaaag gacatggtac tcaatttggg actattttgt tcattatgta 2220
tctaaacatc caataaaaag aaccaaga 2248

<210> 83

<211> 1824

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠适应的流感 B/Malaysia/2506/2004 病毒 HA 的核苷酸序列

<220>

<221> misc_feature

<222> (641) .. (641)

<223> n is a, c, g, 或 t

<400> 83

atgaaggcaa taattgtact actcatggta gtaacatcca atgcagatcg aatctgcact 60
gggataacat cgtcaaactc accacatgtt gtcaaaactg ctactcaagg ggaggtcaat 120
gtgactgggtg taataccact gacaacaaca cccacaaat ctcatTTTgc aaatctcaaa 180
ggaacagaaa ccagaggga actatgccca aaatgcctca actgcacaga tctggacgtg 240
gccttgggca gaccaaagt cacggggaac atacctcgg caagagtttc aatactccat 300
gaagtcagac ctgttacatc tgggtgcttt cctataatgc acgacagaac aaaaattaga 360
cagctgccta accttctcag aggatacga catatcaggt tatcaactca taacgttatc 420
aatgcagaaa atgcaccagg aggaccctac aaaattggaa cctcagggtc ttgccctaac 480
gttaccaatg gaaacggatt tttcgcaaca atggttggg cegtcccaa aaacgacaac 540
aacaaaacag caacaaattc attaacaata gaagtacat acatttgtac agaaggagaa 600
gaccaaatta cgttttggg gttccactct gatarcga aa nccaaatggc aaagctctat 660
ggggactcaa agccccagaa gttcacctca tctgccaac gagtgaccac acattacgtt 720
tcacagattg gtggcttccc aaatcaaaca gaagacggag gactaccaca aagtggtaga 780
attgttgttg attacatggt gcaaaaatct gggaaaacag gaacaattac ctatcaaaga 840
ggtatTTTat tgcctcaaaa agtgtggtgc gcaagtggca ggagcaaggt aataaaagga 900
tccttgctt taattggaga agcagattgc ctccacgaaa aatacgggtg attaaacaaa 960
agcaagcctt actacacagg ggaacatgca aaggccatag gaaattgccc aatatgggtg 1020
aaaacaccct tgaagctggc caatggaacc aaatatagac ctctgcaaa actattaaag 1080
gaaaggggtt tcttcggagc tattgctggt ttcttagaag gaggatggga aggaatgatt 1140

gcaggttggc acggatacac atcccatggg gcacatggag tagcggtggc agcagacctt 1200
aagagcactc aagaggccat aaacaagata acaaaaaatc tcaactcttt gagttagctg 1260
gaagtaaaga atcttcaaag actaagcggg gccatggatg aactccacaa cgaaatacta 1320
gaactagacg agaaagtgga tgatctcaga gctgatacaa taagctcaca aatagaactc 1380
gcagtcctgc tttccaatga aggaataata aacagtgaag atgagcatct cttggcgctt 1440
gaaagaaaagc tgaagaaaat gctgggcccc tctgctgtag agataggga tggatgcttt 1500
gaaaccaaac acaagtgcaa ccagacctgt ctcgacagaa tagctgctgg tacctttgat 1560
gcaggagaat tttctctccc cacttttgat tcaactgaata ttactgctgc atctttaaat 1620
gacgatggat tggataatca tactatactg ctttactact caactgctgc ctccagtttg 1680
gctgtaacat tgatgatagc tatctttgtt gtttatatgg tctccagaga caatgtttct 1740
tgctccatct gtctataagg aaagttaaac cctgtatctt cttttattgt agtgcttggt 1800
tgcttggtac cattacaaaa aacg 1824

<210> 84

<211> 1772

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠适应的流感 B/Malaysia/2506/2004 病毒 NP 的核苷酸序列

<400> 84

caacaaaaga actgaaaatc aaaatgtcca acatggatat tgacggtatc aacactggga 60
caattgacaa agcaccggaa gaaataactt ctggaaccag tgggacaacc agaccaatca 120
tcagaccagc aacccttgcc ccaccaagca acaaacgaac ccggaacca tccccgaaa 180
gagcaaccac aatcagtga gctgatgtcg gaaggaaaac ccaaagaaa cagacccga 240
cagagataaa gaagagcgtc tacaatatgg tagtgaaact gggatgaattc tataaccaga 300
tgatgggtcaa agctggactt aacgatgaca tggagagaaa cctaattcaa aatgcgcatg 360
ctgtggaaaag aattctattg gctgccactg atgacaagaa aactgaattc cagaagaaaa 420
agaatgccag agatgtcaaa gaagggaag aagaaataga tcacaacaaa acagggggca 480
ccttttaca gatggttaaga gatgataaaa ccatctactt cagccctata agagtcacct 540
ttttaaaaga agaagtaaaa acaatgtaca aaaccacat ggggagtgat ggcttcagcg 600
gactaaatca cataatgatt gggcattcac agatgaatga tgtctgtttc caaagatcaa 660
aggcactaaa aagagttgga cttgaccctt cattaatcag tacctttgca ggaagcacac 720
tccccagaag atcaggtgca actggtgttg cgatcaaagg aggtggaact ctagtggctg 780
aagccattcg atttatagga agagcaatgg cagacagagg gctattgaga gacatcaaag 840
ccaagactgc gtatgaaaag attcttctga acctaaaaa caaatgctct gcgccccaac 900
agaaggctct agttgatcaa gtgatcgga gtagaaatcc agggattgca gacattgaag 960
acctaacct acttgctcgt agtatggctg ttgttaggcc ctctgtggcg agcaaagtag 1020
tgcttcccat aagcatttac gccaaaatac ctcaactagg gttcaacgtt gaagagtact 1080
ctatggttgg gtatgaagcc atggctcttt acaatatggc aacacctgtt tccatattaa 1140
gagtgggaga tgatgcaaag gacaaatcac aattattctt catgtcttgc ttcggagctg 1200

cctatgaaga cctgagagtt ttgtctgcat taacaggcac agaattcaag cctagatcag 1260
 cattaataatg caaggggttc catgttccag caaaggaaca ggtggaagga atgggggcag 1320
 ctctgatgtc catcaagctc cagttttggg ctccaatgac cagatctggg ggaaacgaag 1380
 taggtggaga cggggggtct ggccaaataa gttgcagccc agtgtttgca gtagaaagac 1440
 ctattgctct aagcaagcaa gctgtaagaa gaatgctgtc aatgaatatt gagggacgtg 1500
 atgcagatgt caaaggaaat ctactcaaga tgatgaatga ctcaatggct aagaaaacca 1560
 atggaaatgc tttcattggg aagaaaatgt ttcaaatac agacaaaaac aaaaccaatc 1620
 ccgttgaaat tccaattaag caaacatcc ccaatttctt ctttgggagg gacacagcag 1680
 aggattatga tgacctgat tattaaagca acaaataga cactatgact gtgattgttt 1740
 caatacgttt ggaatgtggg tgtttactct ta 1772

<210> 85

<211> 1483

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠适应的流感 B/Malaysia/2506/2004 病毒 NA 的核苷酸序列

<400> 85

aaatgaacaa tgctaccttc aactatacaa acgttaaccc tatttctcac atcaggggga 60
 gtattattat cactatatgt gtcagcttca ttgtcatact tactatatc ggatatattg 120
 ctaaaattcc catcaacaga aattactgca ccaacaatgc cattggattg tgcaaacgca 180
 tcaaatgttc aggctgtgaa ccgttctgca acaaaagggg tgacacttct tctcccagaa 240
 ccggagtgga catacccgcg tttatcttgc ccgggctcaa cctttcagaa agcactccta 300
 attagccctc atagattcgg agaaaccaa ggaaactcag ctcccttgat aataaggga 360
 ccttttattg cttgtggacc aaaggaatgc aaacactttg ctctaacca ctatgcagcc 420
 caaccagggg gatactacaa tggaacaaga ggagacagaa acaagctgag gcatctaatt 480
 tcagtcaaat tgggcaaaat cccaacagta gaaaactcca tttccacat ggcagcatgg 540
 agcgggtccg catgccatga tggttaaggaa tggacatata tcggagtga tggccctgac 600
 aataatgcat tgctcaaaat aaaatatgga gaagcatata ctgacacata ccattcctat 660
 gcaacaaca tcctaagaac acaagaaagt gcctgcaatt gcatcggggg aaattgttat 720
 cttatgataa ctgatggctc agcttcaggt gttagtgaat gcagatttct taagattcga 780
 gagggccgaa taataaaaaga aatattttcca acaggaagaa taaaacatac tgaagaatgc 840
 acatgcggat ttgctagcaa taaaaccata gaatgtgcct gtagagataa cagttacaca 900
 gcaaaaagac cctttgtcaa attaaacgtg gagactgata cagcagaaat aagattgatg 960
 tgcacagaga cttatttga cacccccaga ccagatgatg gaagcataac agggccttgt 1020
 gaatctaatt gggacaaagg gagtggaggc atcaaggag gatttgtcca tcaagaatg 1080
 gcatccaaga ttggaagggt gtactctcga acgatgtcta aaactaaaag gatggggatg 1140
 gggctgtatg tcaartatga tggagacca tgggctgaca gtgatgccct tgcttttagt 1200
 ggagtaattg tttcaatgga agaacctggt tggtactcct ttggcttcga aataaaagac 1260
 aagaaatgtg atgtcccctg tattgggata gagatgttac atgatggtg aaaagagact 1320

tggcactcag cagctacagc catttactgt ttaatgggct caggacagct gctgtgggac 1380
 actgtcacag gtgttaatat ggctctgtaa tggaggaatg gttgagtctg ttctaaaccc 1440
 tttgttccta ttttgtttga acaattgtcc ttactgaact taa 1483

<210> 86

<211> 1140

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠适应的流感 B/Malaysia/2506/2004 病毒 M 的核苷酸序列

<400> 86

cgctgttttg agacacaatt gcctacctgc tttcattgac agaagatgga gaaggcaaag 60
 cagaactagc agaaaaatta cactgttggg ttgggtgggaa agaatttgac ctagactctg 120
 ccttggaatg gataaaaaac aaaagatgct taactgatat acaaaaagca ctaattgggtg 180
 cctctatatg ctttttaaaa cccaaagacc aggaaagaaa aagaagattc atcacagaac 240
 ccttatcagg aatgggaaca acagcaacaa aaaagaaagg cctgattctg gctgagagaa 300
 aaatgagaag atgtgtgagc tttcatgaag catttgaaat agcagaaggc catgaaagct 360
 cagcgctact atactgtctc atggtcatgt acctgaatcc tggaaattat tcaatgcaag 420
 taaaactagg aacgctctgt gctttatgcg agaaacaagc atcacattca cacagggctc 480
 atagcagagc agcgagatct tcagtgcctg gagtgaagac agaaatgcag atggtctcag 540
 ctatgaacac agcgaaaaca atgaatggaa tgggaaaagg agaagacgtc caaaagctgg 600
 cagaagagct gcaaagcaac attggagtgc tgagatctct tggggcaagt caaaagaatg 660
 gggaaggaat tgcaaargat gtaatggaag tgctaaagca gagctctatg ggaaattcag 720
 ctcttgtgaa gaaatatcta taatgctcga accatttcag attctttcaa tttgttcttt 780
 tatcttatca gctctccatt tcatggcttg gacaataggg catttgaatc aaataaaaag 840
 aggaataaac atgaaaatac gaataaaagg tccaaacaaa gagacaataa acagagaggt 900
 atcaattttg agacacagtt accaaaaaga aatccaggcc aaagaaacaa tgaaggaagt 960
 actctctgac aacatggagg tattgagtga ccacataata attgaggggc tttctgccga 1020
 agagataata aaaatgggtg aaacagtttt ggagatagaa gaattgcatt aaattcaatt 1080
 ttactgtat ttcttactat gcatttaagc aaattgtaat caatgtcagc aaataaactg 1140

<210> 87

<211> 1033

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠适应的流感 B/Malaysia/2506/2004 病毒NS的核苷酸序列

<400> 87

cgaacaacat gaccacaaca caaattgagg tgggtccggg agcaaccaat gccaccataa 60
 actttgaagc aggaattctg gagtgtctatg aaaggctttc atggcaaaga gcccttgact 120
 accctgggtca agaccgccta aacagactaa agagaaaatt agagtcaaga ataaagactc 180

acaacaaaag tgagcctgaa agtaaaagga tgtcccttga agagagaaaa gcaattggag 240
 taaaaatgat gaaagtactc ctatttatgg atccgtctgc tggaattgaa gggtttgagc 300
 catactgtat gaaaagttcc tcaaatagca actgtacgaa atacaattgg accgattacc 360
 cttcaacacc agggaggtgc cttgatgaca tagaagaaga accagaggat gttgatggcc 420
 caactgaaat agtattaagg gacatgaaca acaaagatgc aaggcaaaag ataaaggagg 480
 aagtaaacac tcagaaaagaa gggaagttcc gtttgacaat aaaaagggat atgcgtaatg 540
 tattgtcctt gagagtgttg gtaaacggaa cattcctcaa acatcccaat ggatacaagt 600
 ccttatcaac tctgcataga ttgaatgcat atgaccagag tggaaggctt gttgctaaac 660
 ttgttgctac tgatgatcctt acagtggagg atgaagaaga tggccatcgg atcctcaact 720
 cactcttcga gcgtcttaat gaaggacatt caaagccaat tcgagcagct gaaactgcgg 780
 tgggagtctt atcccaattt ggtcaagagc accgattatc accagaagag ggagacaatt 840
 agactggtca cggaagaact ttatctttta agtaaaagaa ttgatgataa catattgttc 900
 cacaaaacag taatagctaa cagctccata atagctgaca tggttgtatc attatcatta 960
 ttagaaacat tgtatgaaat gaaggatgta gttgaagtgt acagcaggca gtgcttgtga 1020
 atttaaaata aaa 1033

<210> 88

<211> 585

<212> PRT

<213> 流感 B/Malaysia/2506/20/03

<220>

<223> 流感 B/Malaysia/2506/20/03 HA 的全长氨基酸序列

<220>

<221> misc_feature

<222> (214) .. (214)

<223> Xaa = Ile 或 Thr

<400> 88

Met	Lys	Ala	Ile	Ile	Val	Leu	Leu	Met	Val	Val	Thr	Ser	Asn	Ala	Asp
1			5					10						15	
Arg	Ile	Cys	Thr	Gly	Ile	Thr	Ser	Ser	Asn	Ser	Pro	His	Val	Val	Lys
			20					25					30		
Thr	Ala	Thr	Gln	Gly	Glu	Val	Asn	Val	Thr	Gly	Val	Ile	Pro	Leu	Thr
			35				40					45			
Thr	Thr	Pro	Thr	Lys	Ser	His	Phe	Ala	Asn	Leu	Lys	Gly	Thr	Glu	Thr
			50			55				60					
Arg	Gly	Lys	Leu	Cys	Pro	Lys	Cys	Leu	Asn	Cys	Thr	Asp	Leu	Asp	Val
65				70					75					80	
Ala	Leu	Gly	Arg	Pro	Lys	Cys	Thr	Gly	Asn	Ile	Pro	Ser	Ala	Arg	Val
			85					90					95		
Ser	Ile	Leu	His	Glu	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Phe	Pro	Ile

100	105	110
Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln Leu Pro Asn Leu Leu Arg Gly		
115	120	125
Tyr Glu His Ile Arg Leu Ser Thr His Asn Val Ile Asn Ala Glu Asn		
130	135	140
Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Lys Ile Gly Thr Ser Gly Ser Cys Pro Asn		
145	150	155
Val Thr Asn Gly Asn Gly Phe Phe Ala Thr Met Ala Trp Ala Val Pro		
165	170	175
Lys Asn Asp Asn Asn Lys Thr Ala Thr Asn Ser Leu Thr Ile Glu Val		
180	185	190
Pro Tyr Ile Cys Thr Glu Gly Glu Asp Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe		
195	200	205
His Ser Asp Asn Glu Xaa Gln Met Ala Lys Leu Tyr Gly Asp Ser Lys		
210	215	220
Pro Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn Gly Val Thr Thr His Tyr Val		
225	230	235
Ser Gln Ile Gly Gly Phe Pro Asn Gln Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro		
245	250	255
Gln Ser Gly Arg Ile Val Val Asp Tyr Met Val Gln Lys Ser Gly Lys		
260	265	270
Thr Gly Thr Ile Thr Tyr Gln Arg Gly Ile Leu Leu Pro Gln Lys Val		
275	280	285
Trp Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu		
290	295	300
Ile Gly Glu Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys		
305	310	315
Ser Lys Pro Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys		
325	330	335
Pro Ile Trp Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr		
340	345	350
Arg Pro Pro Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile		
355	360	365
Ala Gly Phe Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His		
370	375	380
Gly Tyr Thr Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu		
385	390	395
Lys Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser		
405	410	415

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

<210> 89

<211> 15

<212> PRT

<213> 流感 B/Malaysia/2506/20/03

<220>

<223> 信号肽

<400> 89

Met Lys Ala Ile Ile Val Leu Leu Met Val Val Thr Ser Asn Ala
 1 5 10 15

<210> 90

<211> 347

<212> PRT

<213> 流感 B/Malaysia/2506/20/03

<220>

<223> HA1 结构域

<220>

<221> misc_feature

<222> (199) .. (199)

<223> Xaa = Ile 或 Thr

<400> 90

Asp	Arg	Ile	Cys	Thr	Gly	Ile	Thr	Ser	Ser	Asn	Ser	Pro	His	Val	Val
1				5				10					15		
Lys	Thr	Ala	Thr	Gln	Gly	Glu	Val	Asn	Val	Thr	Gly	Val	Ile	Pro	Leu
			20					25					30		
Thr	Thr	Thr	Pro	Thr	Lys	Ser	His	Phe	Ala	Asn	Leu	Lys	Gly	Thr	Glu
			35				40						45		
Thr	Arg	Gly	Lys	Leu	Cys	Pro	Lys	Cys	Leu	Asn	Cys	Thr	Asp	Leu	Asp
			50				55						60		
Val	Ala	Leu	Gly	Arg	Pro	Lys	Cys	Thr	Gly	Asn	Ile	Pro	Ser	Ala	Arg
65						70				75					80
Val	Ser	Ile	Leu	His	Glu	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Phe	Pro
				85						90					95
Ile	Met	His	Asp	Arg	Thr	Lys	Ile	Arg	Gln	Leu	Pro	Asn	Leu	Leu	Arg
				100						105					110
Gly	Tyr	Glu	His	Ile	Arg	Leu	Ser	Thr	His	Asn	Val	Ile	Asn	Ala	Glu
			115							120					125
Asn	Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Tyr	Lys	Ile	Gly	Thr	Ser	Gly	Ser	Cys	Pro
			130							135					140
Asn	Val	Thr	Asn	Gly	Asn	Gly	Phe	Phe	Ala	Thr	Met	Ala	Trp	Ala	Val
145						150					155				160
Pro	Lys	Asn	Asp	Asn	Asn	Lys	Thr	Ala	Thr	Asn	Ser	Leu	Thr	Ile	Glu
				165						170					175
Val	Pro	Tyr	Ile	Cys	Thr	Glu	Gly	Glu	Asp	Gln	Ile	Thr	Val	Trp	Gly
			180							185					190
Phe	His	Ser	Asp	Asn	Glu	Xaa	Gln	Met	Ala	Lys	Leu	Tyr	Gly	Asp	Ser
			195							200					205
Lys	Pro	Gln	Lys	Phe	Thr	Ser	Ser	Ala	Asn	Gly	Val	Thr	Thr	His	Tyr
			210							215					220
Val	Ser	Gln	Ile	Gly	Gly	Phe	Pro	Asn	Gln	Thr	Glu	Asp	Gly	Gly	Leu
225						230					235				240
Pro	Gln	Ser	Gly	Arg	Ile	Val	Val	Asp	Tyr	Met	Val	Gln	Lys	Ser	Gly
				245						250					255
Lys	Thr	Gly	Thr	Ile	Thr	Tyr	Gln	Arg	Gly	Ile	Leu	Leu	Pro	Gln	Lys
			260							265					270
Val	Trp	Cys	Ala	Ser	Gly	Arg	Ser	Lys	Val	Ile	Lys	Gly	Ser	Leu	Pro
			275							280					285

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

<210> 91

<211> 223

<212> PRT

<213> 流感 B/Malaysia/2506/20/03

<220>

<223> HA2 结构域

<400> 91

Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly
 1 5 10 15
 Met Ile Ala Gly Trp His Gly Tyr Thr Ser His Gly Ala His Gly Val
 20 25 30
 Ala Val Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile
 35 40 45
 Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu Ser Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln
 50 55 60
 Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp Glu Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu
 65 70 75 80
 Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu Arg Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile
 85 90 95
 Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser Asn Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp
 100 105 110
 Glu His Leu Leu Ala Leu Glu Arg Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro
 115 120 125
 Ser Ala Val Glu Ile Gly Asn Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys
 130 135 140
 Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asp Ala Gly
 145 150 155 160
 Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser
 165 170 175
 Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp Asn His Thr Ile Leu Leu Tyr Tyr Ser
 180 185 190

Thr Ala Ala Ser Ser Leu Ala Val Thr Leu Met Ile Ala Ile Phe Val
 195 200 205
 Val Tyr Met Val Ser Arg Asp Asn Val Ser Cys Ser Ile Cys Leu
 210 215 220
 <210> 92
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> 流感 B/Malaysia/2506/20/03
 <220>
 <223> 柄部的N-末端片段(包含与球形头部结构域的界面处的丙氨酸)
 <400> 92
 Asp Arg Ile Cys Thr Gly Ile Thr Ser Ser Asn Ser Pro His Val Val
 1 5 10 15
 Lys Thr Ala Thr Gln Gly Glu Val Asn Val Thr Gly Val Ile Pro Leu
 20 25 30
 Thr Thr Thr Pro Thr Lys Ser His Phe Ala
 35 40
 <210> 93
 <211> 241
 <212> PRT
 <213> 流感 B/Malaysia/2506/20/03
 <220>
 <223> 柄部的C-末端片段(包含与球形头部结构域的界面处的丙氨酸)
 <400> 93
 Ala Asp Cys Leu His Glu Lys Tyr Gly Gly Leu Asn Lys Ser Lys Pro
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Thr Gly Glu His Ala Lys Ala Ile Gly Asn Cys Pro Ile Trp
 20 25 30
 Val Lys Thr Pro Leu Lys Leu Ala Asn Gly Thr Lys Tyr Arg Pro Pro
 35 40 45
 Ala Lys Leu Leu Lys Glu Arg Gly Phe Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 50 55 60
 Leu Glu Gly Gly Trp Glu Gly Met Ile Ala Gly Trp His Gly Tyr Thr
 65 70 75 80
 Ser His Gly Ala His Gly Val Ala Val Ala Ala Asp Leu Lys Ser Thr
 85 90 95
 Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn Ser Leu Ser Glu
 100 105 110
 Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala Met Asp Glu Leu

115	120	125
His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp Asp Leu Arg Ala		
130	135	140
Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu Leu Ser Asn Glu		
145	150	155
Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala Leu Glu Arg Lys		
165	170	175
Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Glu Ile Gly Asn Gly Cys		
180	185	190
Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu Asp Arg Ile Ala		
195	200	205
Ala Gly Thr Phe Asp Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro Thr Phe Asp Ser		
210	215	220
Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly Leu Asp Asn His		
225	230	235
Thr		240
<210> 94		
<211> 250		
<212> PRT		
<213> 流感 B/Malaysia/2506/20/03		
<220>		
<223> 球形头部结构域		
<220>		
<221> misc_feature		
<222> (157)..(157)		
<223> Xaa = Ile 或 Thr		
<400> 94		
Asn Leu Lys Gly Thr Glu Thr Arg Gly Lys Leu Cys Pro Lys Cys Leu		
1	5	10
Asn Cys Thr Asp Leu Asp Val Ala Leu Gly Arg Pro Lys Cys Thr Gly		
20	25	30
Asn Ile Pro Ser Ala Arg Val Ser Ile Leu His Glu Val Arg Pro Val		
35	40	45
Thr Ser Gly Cys Phe Pro Ile Met His Asp Arg Thr Lys Ile Arg Gln		
50	55	60
Leu Pro Asn Leu Leu Arg Gly Tyr Glu His Ile Arg Leu Ser Thr His		
65	70	75
Asn Val Ile Asn Ala Glu Asn Ala Pro Gly Gly Pro Tyr Lys Ile Gly		
85	90	95

Thr Ser Gly Ser Cys Pro Asn Val Thr Asn Gly Asn Gly Phe Phe Ala		
100	105	110
Thr Met Ala Trp Ala Val Pro Lys Asn Asp Asn Asn Lys Thr Ala Thr		
115	120	125
Asn Ser Leu Thr Ile Glu Val Pro Tyr Ile Cys Thr Glu Gly Glu Asp		
130	135	140
Gln Ile Thr Val Trp Gly Phe His Ser Asp Asn Glu Xaa Gln Met Ala		
145	150	155
Lys Leu Tyr Gly Asp Ser Lys Pro Gln Lys Phe Thr Ser Ser Ala Asn		
165	170	175
Gly Val Thr Thr His Tyr Val Ser Gln Ile Gly Gly Phe Pro Asn Gln		
180	185	190
Thr Glu Asp Gly Gly Leu Pro Gln Ser Gly Arg Ile Val Val Asp Tyr		
195	200	205
Met Val Gln Lys Ser Gly Lys Thr Gly Thr Ile Thr Tyr Gln Arg Gly		
210	215	220
Ile Leu Leu Pro Gln Lys Val Trp Cys Ala Ser Gly Arg Ser Lys Val		
225	230	235
Ile Lys Gly Ser Leu Pro Leu Ile Gly Glu		
245	250	

<210> 95

<211> 533

<212> PRT

<213> 流感 B/Malaysia/2506/20/03

<220>

<223> 胞外域

<220>

<221> misc_feature

<222> (199) .. (199)

<223> Xaa = Ile 或 Thr

<400> 95

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

Val	Ala	Leu	Gly	Arg	Pro	Lys	Cys	Thr	Gly	Asn	Ile	Pro	Ser	Ala	Arg
65					70					75					80
Val	Ser	Ile	Leu	His	Glu	Val	Arg	Pro	Val	Thr	Ser	Gly	Cys	Phe	Pro
				85						90					95
Ile	Met	His	Asp	Arg	Thr	Lys	Ile	Arg	Gln	Leu	Pro	Asn	Leu	Leu	Arg
				100					105					110	
Gly	Tyr	Glu	His	Ile	Arg	Leu	Ser	Thr	His	Asn	Val	Ile	Asn	Ala	Glu
				115					120					125	
Asn	Ala	Pro	Gly	Gly	Pro	Tyr	Lys	Ile	Gly	Thr	Ser	Gly	Ser	Cys	Pro
								130						135	
Asn	Val	Thr	Asn	Gly	Asn	Gly	Phe	Phe	Ala	Thr	Met	Ala	Trp	Ala	Val
145								150						155	
Pro	Lys	Asn	Asp	Asn	Asn	Lys	Thr	Ala	Thr	Asn	Ser	Leu	Thr	Ile	Glu
								165						170	
Val	Pro	Tyr	Ile	Cys	Thr	Glu	Gly	Glu	Asp	Gln	Ile	Thr	Val	Trp	Gly
								180						185	
Phe	His	Ser	Asp	Asn	Glu	Xaa	Gln	Met	Ala	Lys	Leu	Tyr	Gly	Asp	Ser
								195						200	
Lys	Pro	Gln	Lys	Phe	Thr	Ser	Ser	Ala	Asn	Gly	Val	Thr	Thr	His	Tyr
								210						215	
Val	Ser	Gln	Ile	Gly	Gly	Phe	Pro	Asn	Gln	Thr	Glu	Asp	Gly	Gly	Leu
225								230						235	
Pro	Gln	Ser	Gly	Arg	Ile	Val	Val	Asp	Tyr	Met	Val	Gln	Lys	Ser	Gly
								245						250	
Lys	Thr	Gly	Thr	Ile	Thr	Tyr	Gln	Arg	Gly	Ile	Leu	Leu	Pro	Gln	Lys
								260						265	
Val	Trp	Cys	Ala	Ser	Gly	Arg	Ser	Lys	Val	Ile	Lys	Gly	Ser	Leu	Pro
								275						280	
Leu	Ile	Gly	Glu	Ala	Asp	Cys	Leu	His	Glu	Lys	Tyr	Gly	Gly	Leu	Asn
								290						295	
Lys	Ser	Lys	Pro	Tyr	Tyr	Thr	Gly	Glu	His	Ala	Lys	Ala	Ile	Gly	Asn
305								310						315	
Cys	Pro	Ile	Trp	Val	Lys	Thr	Pro	Leu	Lys	Leu	Ala	Asn	Gly	Thr	Lys
								325						330	
Tyr	Arg	Pro	Pro	Ala	Lys	Leu	Leu	Lys	Glu	Arg	Gly	Phe	Phe	Gly	Ala
								340						345	
Ile	Ala	Gly	Phe	Leu	Glu	Gly	Gly	Trp	Glu	Gly	Met	Ile	Ala	Gly	Trp
								355						360	
His	Gly	Tyr	Thr	Ser	His	Gly	Ala	His	Gly	Val	Ala	Val	Ala	Ala	Asp

370	375	380
Leu Lys Ser Thr Gln Glu Ala Ile Asn Lys Ile Thr Lys Asn Leu Asn		
385	390	395
Ser Leu Ser Glu Leu Glu Val Lys Asn Leu Gln Arg Leu Ser Gly Ala		400
405	410	415
Met Asp Glu Leu His Asn Glu Ile Leu Glu Leu Asp Glu Lys Val Asp		
420	425	430
Asp Leu Arg Ala Asp Thr Ile Ser Ser Gln Ile Glu Leu Ala Val Leu		
435	440	445
Leu Ser Asn Glu Gly Ile Ile Asn Ser Glu Asp Glu His Leu Leu Ala		
450	455	460
Leu Glu Arg Lys Leu Lys Lys Met Leu Gly Pro Ser Ala Val Glu Ile		
465	470	475
Gly Asn Gly Cys Phe Glu Thr Lys His Lys Cys Asn Gln Thr Cys Leu		
485	490	495
Asp Arg Ile Ala Ala Gly Thr Phe Asp Ala Gly Glu Phe Ser Leu Pro		
500	505	510
Thr Phe Asp Ser Leu Asn Ile Thr Ala Ala Ser Leu Asn Asp Asp Gly		
515	520	525
Leu Asp Asn His Thr		
530		

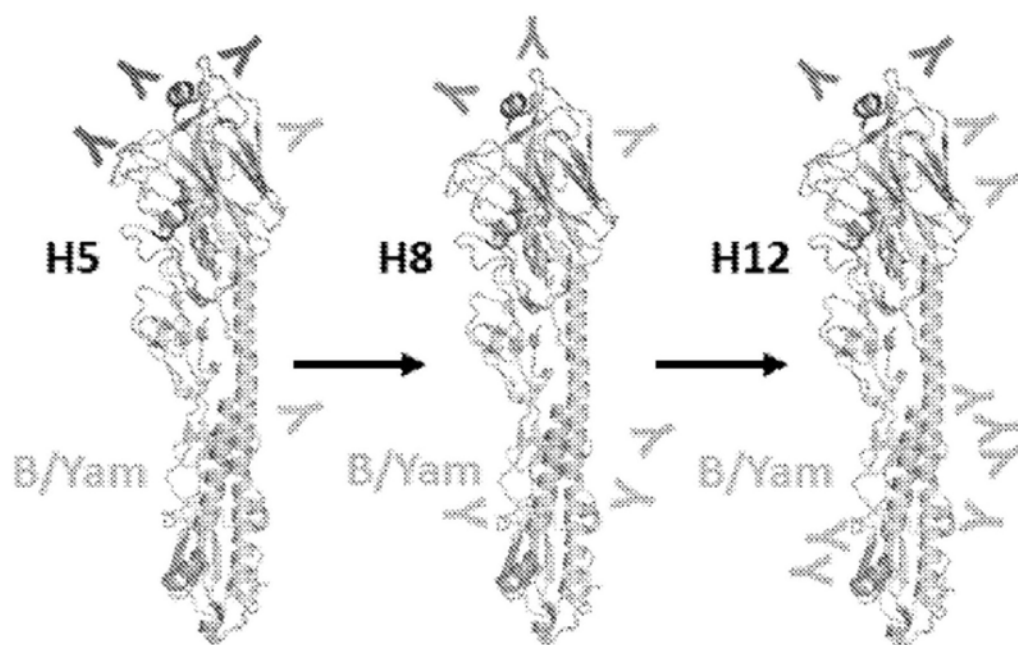


图1

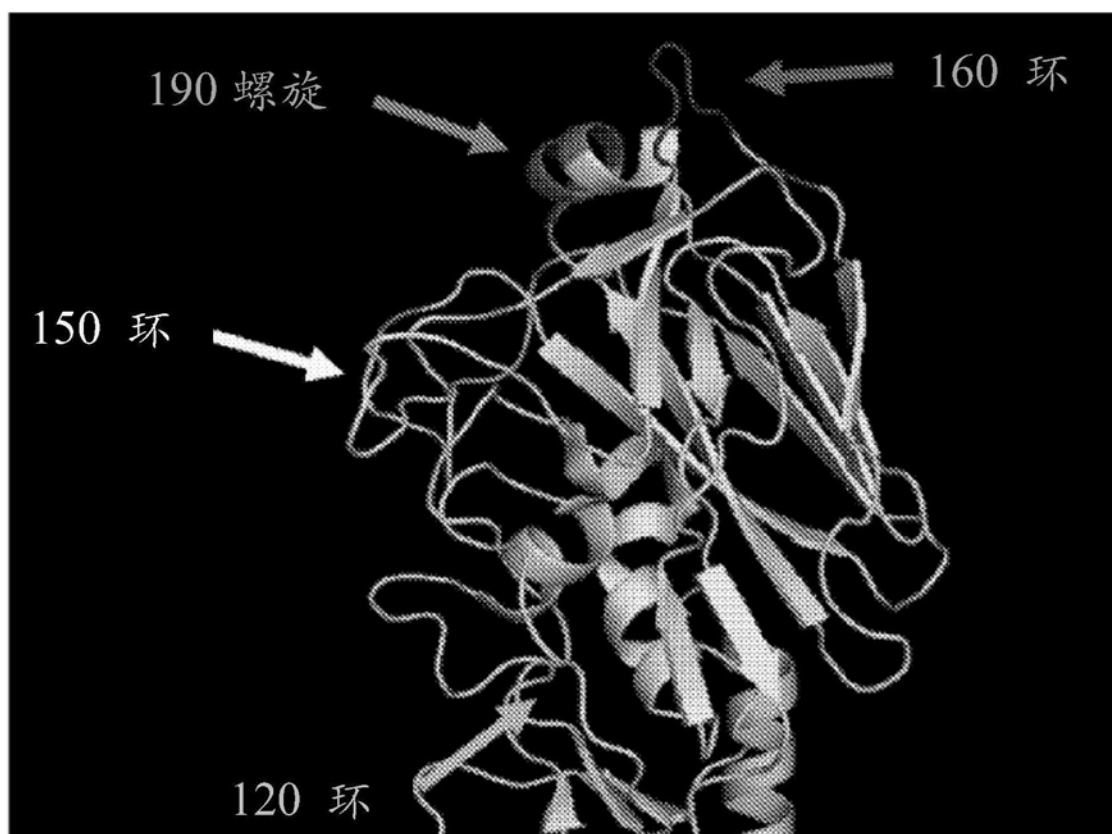


图2

B/Yam PNVTSRNG
A/H5 PYQGKSS

图3A

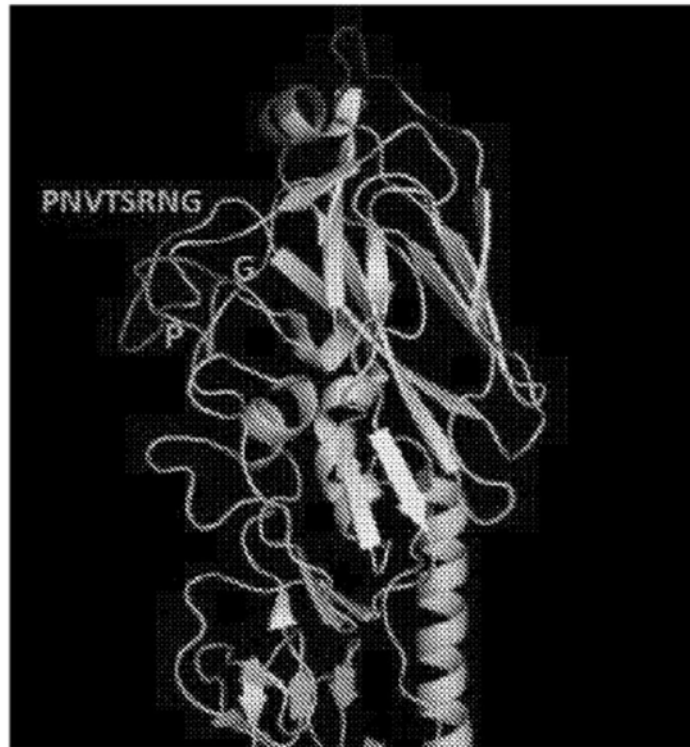


图3B

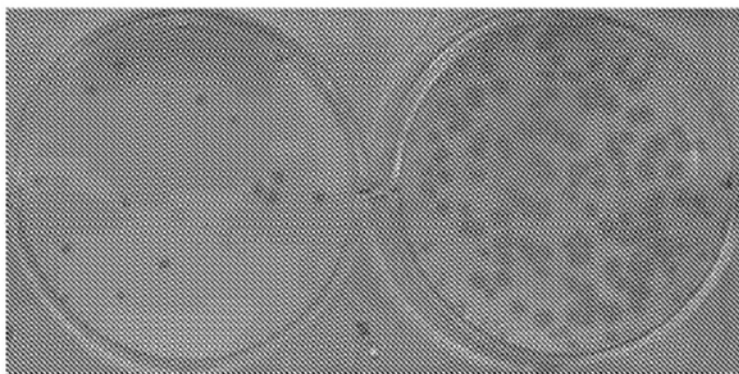


图3C

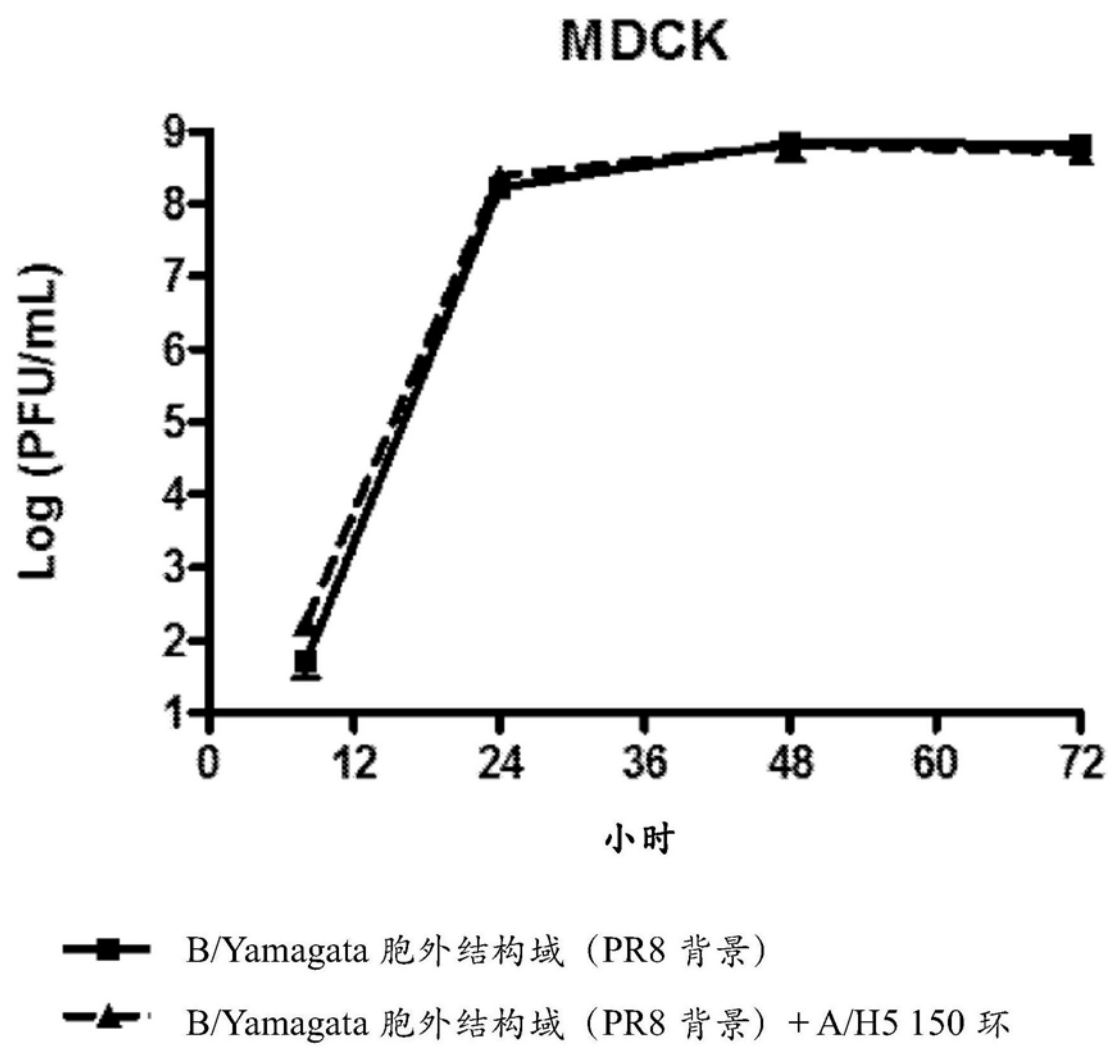
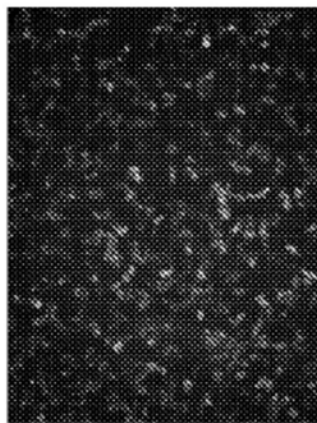
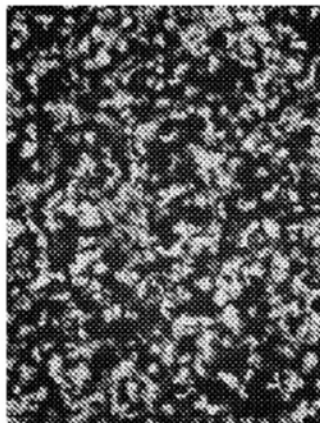


图4

B/Yamagata 胞外结构域
(PR8 背景)
+ A/H5 150 环

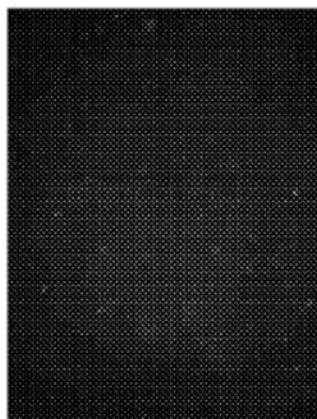


cH5/3



293T 细胞中使抗 H5 血清的表面染色

B/Yamagata 胞外结构域
(PR8 背景)



空质粒

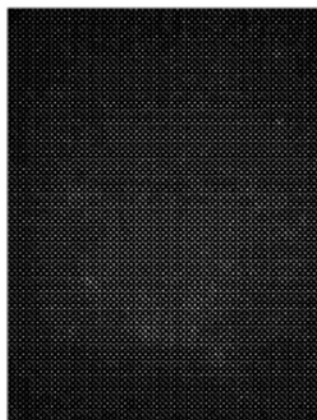


图5

B/Yam NKNQMKN
A/H5 NDAAMQT

图6A

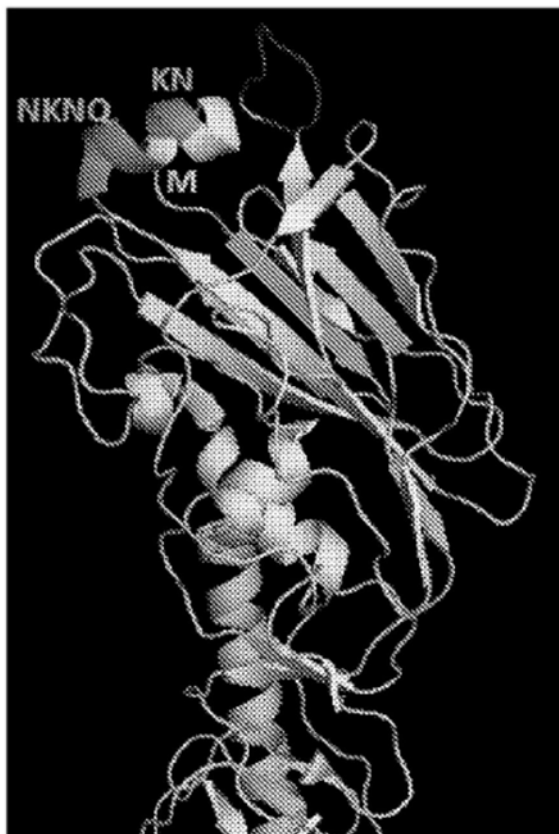


图6B

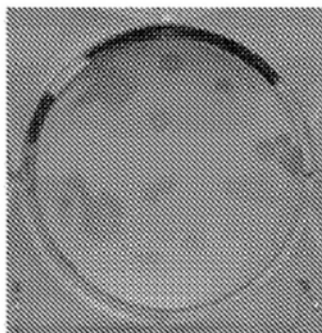


图6C

B/Yam RDNKTA
A/H5 KKNSTY

图7A

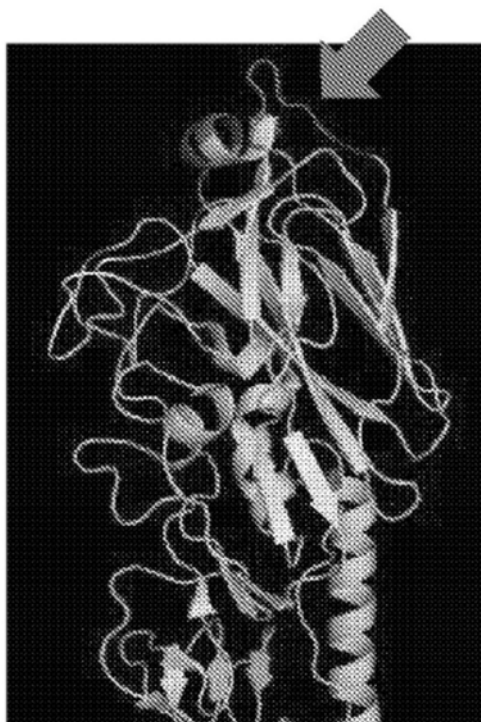


图7B

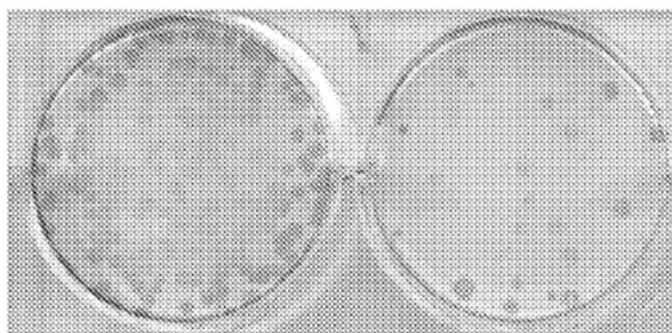


图7C

改变的 B/Yam 氨基酸： 90 131 133 137 144

B/Yam

带有 A/H5 的 B/Yamagata 胞外结构域

TIP

FIP

B/Yam

NIRLSTHNVINAERAPGGPYRL

带有 A/H5 的 B/Yamagata 胞外结构域

KIQLSTKNVINAENAPGGPYRL

图8A

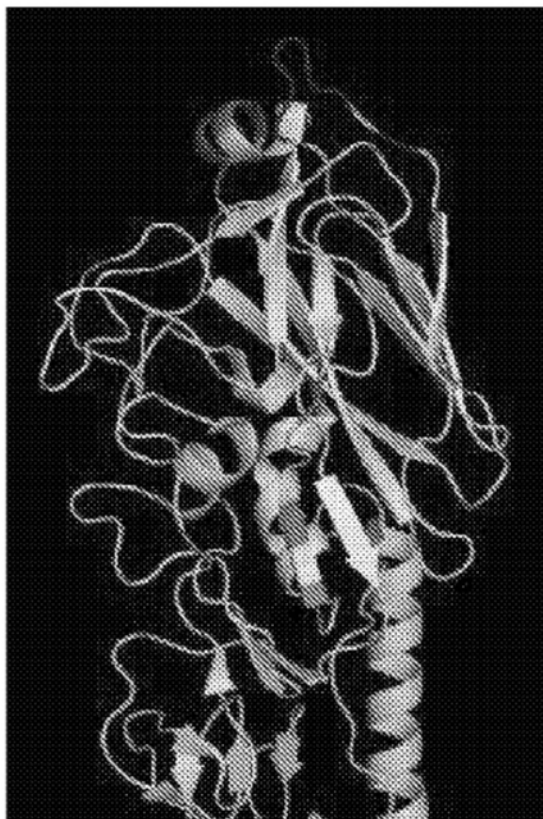


图8B

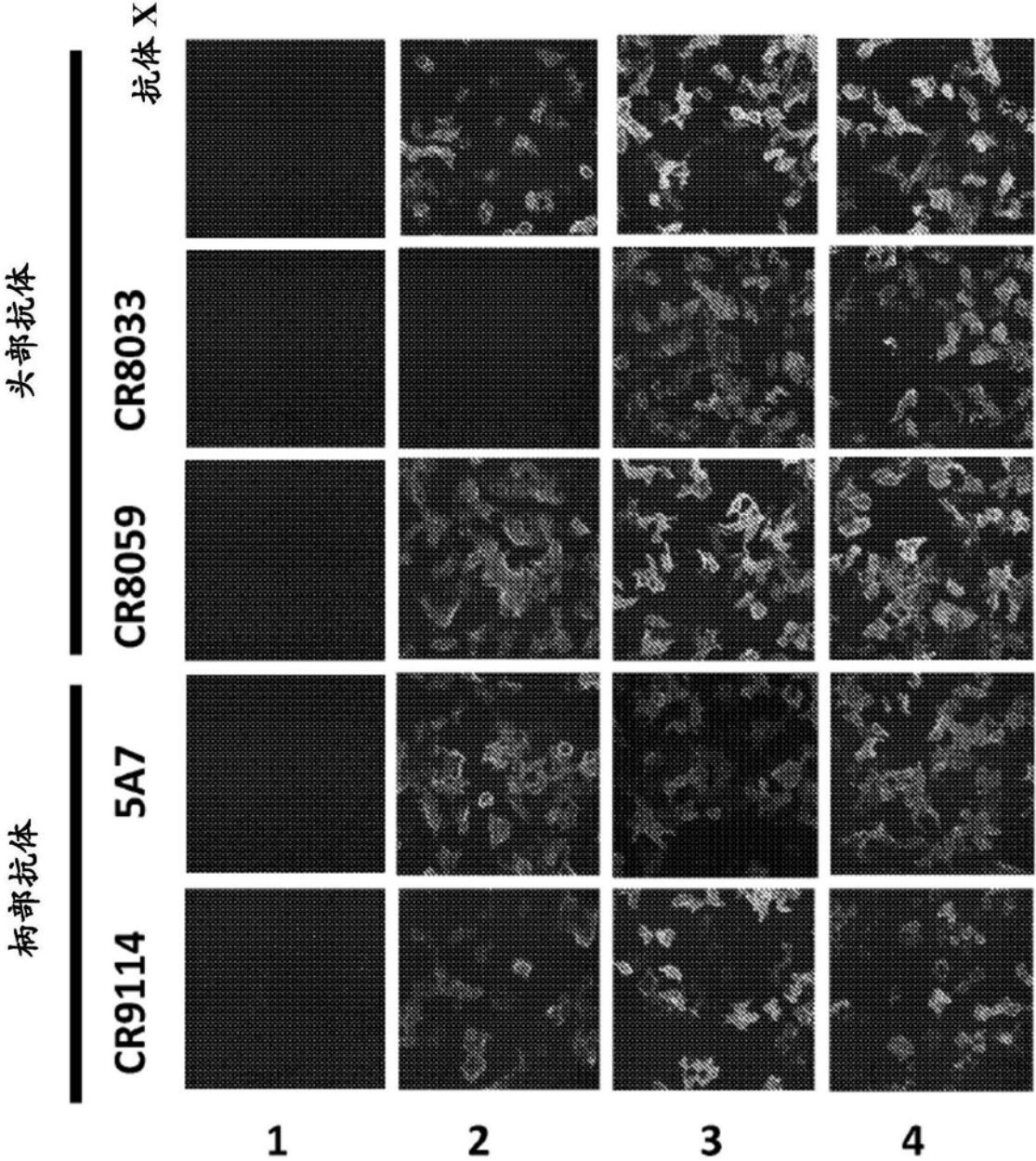


图9

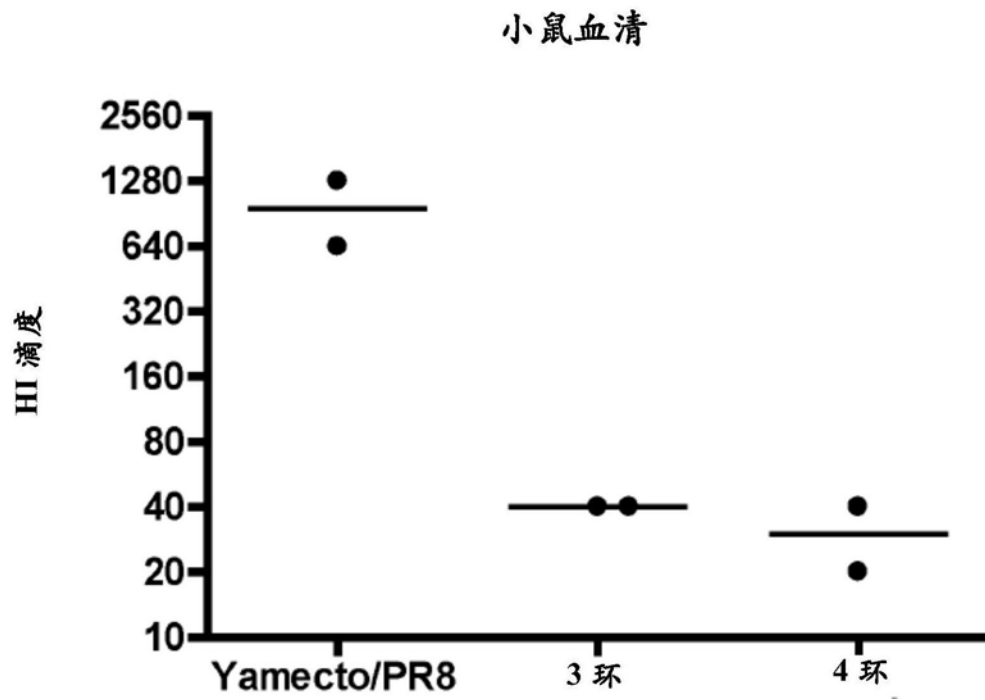


图10A

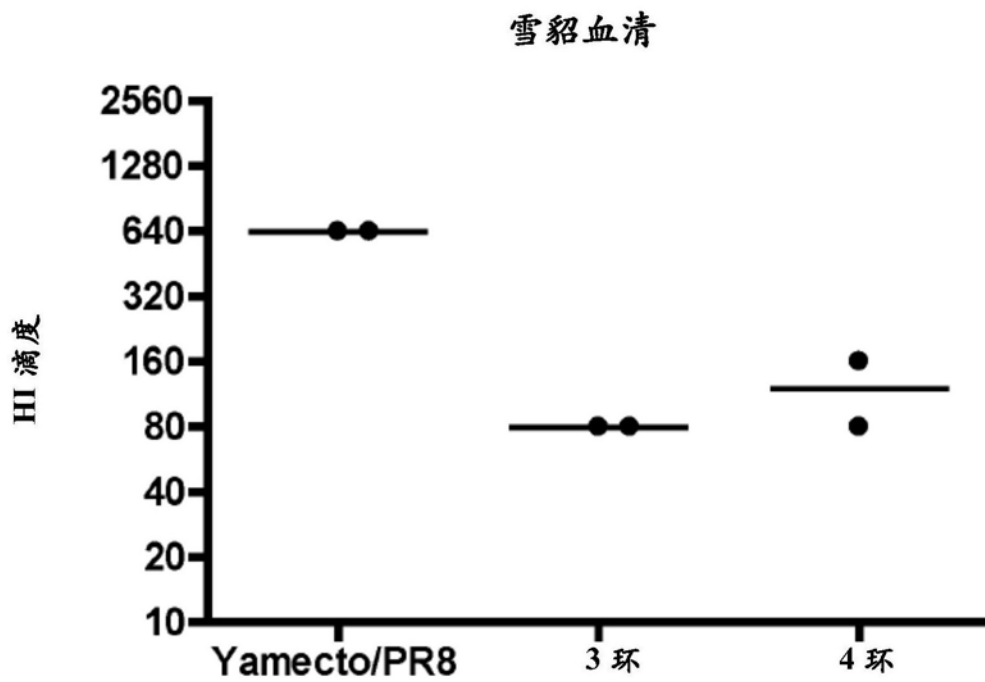


图10B

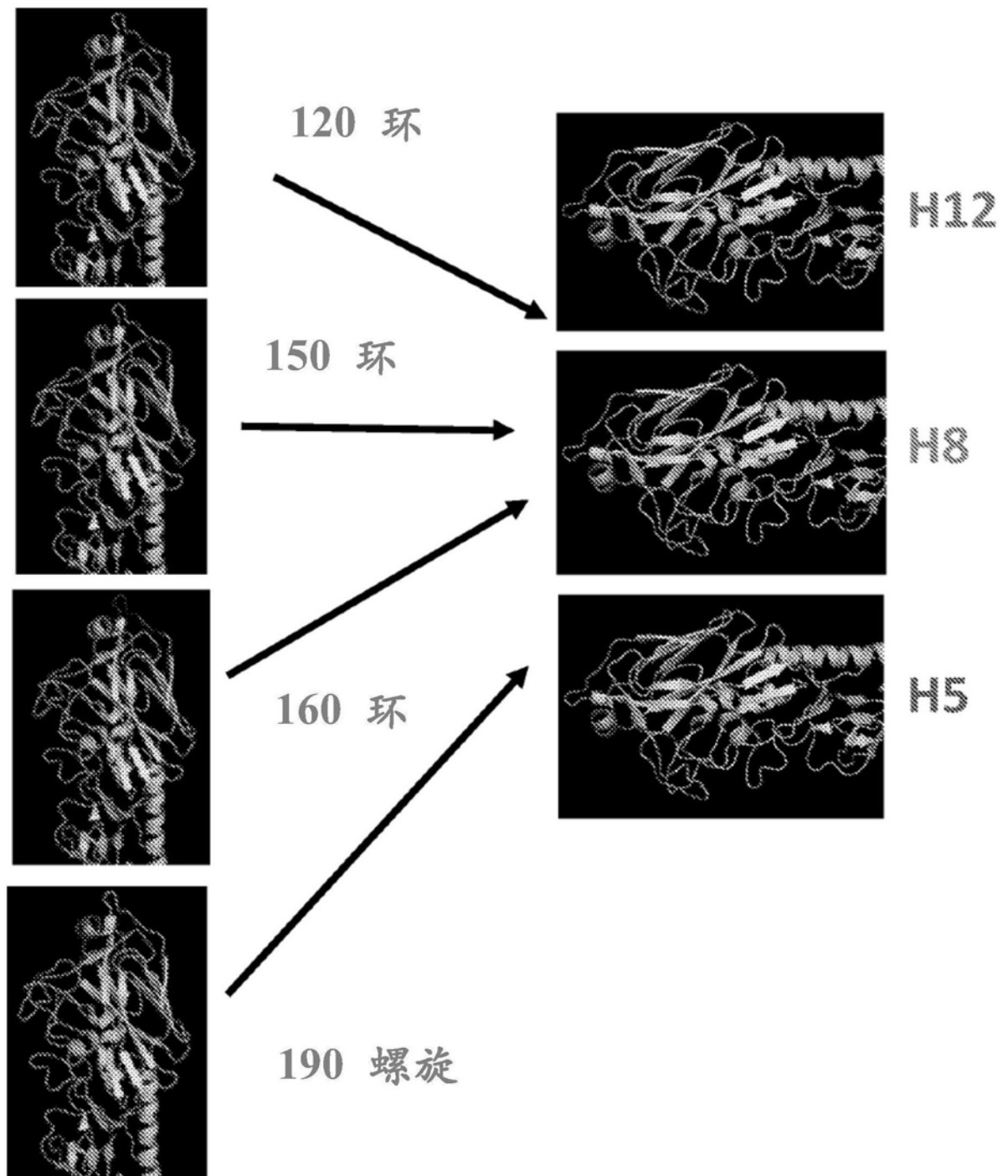


图11

```

          A G C A A A A G C A G G G G A
                                1
A A A T A A A A C A A C C A A A A T G A A G G C A A A C C
          1                                2
T A C T G G T C C T G T T A A G T G C A C T T G C A G C T G
          2
C A G A T G C A G A T C G A A T C T G C A C T G G G A T A A
          2
C A T C T T C A A A C T C A C C T C A T G T G G T C A A A A
C A G C T A C T C A A G G G G A A G T T A A T G T G A C T G
G T G T G A T A C C A C T G A C A A C A A C A C C A A C A A
A A T C T C A T T T T G C A A A T C T C A A A G G A A C A A
A G A C C A G A G G G A A A C T A T G C C C A A A C T G T C
T C A A C T G C A C A G A T C T G G A T G T G G C C T T G G
G C A G A C C A A T G T G T A T G G G G T T C A T A C C T T
                                3
C G G C A A A A G C T T C A A T A C T C C A C G A A G T C A
G A C C T G T T A C A T C C G G G T G C T T T C C T A T A A
T G C A C G A C A G A A C A A A A T C A G A C A G C T A C
C C A A T C T T C T C A G A G G A T A T G A A A A A A T C C
                                3                                3
A G T T A T C A A C C A A A A A C G T T A T C A A C G C A G
          3                                3
A A C A T G C A C C A G G A G G A C C C T A C A G A C T T G
          3
G A A C C T C A G A A T C T T G C C C A T A C C A G G G A A
                                4
A G T C C T C C T T C T T C G C A A C A A T G G C T T G G G
          4
C T G T C C C A A A A A A G A A C A G T A C A T A C A C G A
                                5
A T C C A C T A A C A G T A G A A G T A C C A T A C A T T T
G C A C A A A A G G A G A A G A C C A A A T T A C T G T T T
G G G G G T T C C A T T C T G A T A A T G A T G C G G C A A
                                6
T G C A G A C A C T C T A T G G A G A C T C A A A T C C T C
          6
A A A A G T T C A C C T C A T C T G C C A A T G G A G T A A
C C A C A C A T T A T G T T T C T C A G A T T G G T G A C T
T C C C A A A T C A A A C A G A A G A C G G A G G G C T A C
C A C A A A G C G G C A G A A T T G T T G T T G A T T A C A
T G G T G C A A A A A C C T G G G A A A A C A G G A A C A A

```

图12A

```

T T G T C T A T C A A A G A G G T G T T T T G T T G C C T C
A A A A G G T G T G G T G C G C A A G T G G C A G G A G C A
A G G T A A T A A A A G G G T C C T T G C C T T T A A T T G
G T G A A G C A G A T T G C C T T C A C G A A A A A T A C G
G T G G A T T A A A C A A A A G C A A G C C T T A C T A C A
C A G G A G A A C A T G C A A A A G C C A T A G G A A A T T
G C C C A A T A T G G G T G A A A A C A C C T T T G A A G C
T T G C C A A T G G A A C C A A A T A T A G A C C T C C T G
C A A A A C T A T T A A A G G A A A G G G G T T T C T T C G
G A G C T A T T G C T G G T T T C T T A G A G G G A G G A T
G G G A A G G A A T G A T T G C A G G T T G G C A C G G A T
A C A C A T C T C A T G G A G C A C A T G G A G T G G C A G
T G G C A G C A G A C C T T A A G A G C A C G C A A G A A G
C C A T A A A C A A G A T A A C A A A A A A T C T C A A T T
C T T T G A G T G A G C T A G A A G T A A A G A A T C T T C
A A A G A C T A A G T G G T G C C A T G G A T G A A C T C C
A C A A C G A A A T A C T C G A G C T G G A T G A G A A A G
T G G A T G A T C T C A G A G C T G A C A C A A T A A G C T
C G C A A A T A G A G C T T G C A G T C T T G C T T T C C A
A C G A A G G A A T A A T A A A C A G T G A A G A T G A G C
A T C T A T T G G C A C T T G A G A G A A A A C T A A A G A
A A A T G C T G G G T C C C T C T G C T G T A G A C A T A G
G G A A T G G A T G C T T C G A A A C C A A A C A C A A G T
G C A A C C A G A C C T G C T T A G A C A G G A T A G C T G
C T G G C A C C T T T A A T G C A G G A G A A T T T T C T C
T T C C C A C T T T T G A T T C A C T G A A T A T T A C T G
C T G C A T C T T T A A A T G A T G A T G G A T T G G A T A
A T T A T C A G A T T C T G G C G A T C T A C T C A A C T G
      7                               8
T C G C C A G T T C A C T G G T G C T T T T G G T C T C C C
                               8
T G G G G G C A A T C A G T T T C T G G A T G T G T T C T A
      8                               9
A T G G A T C T T T G C A G T G C A G A A T A T G C A T C T
                               9
G A G A T T A G A A T T T C A G A A A T A T G A G G A A A A
      9                               10
A C A C C C T T G T T T C T A C T
      10

```

图12B

M K A N L L V L L S A L A A A D A D R I C T G I T S S N S P
 1
 H V V K T A T Q G E V N V T G V I P L T T T P T K S H F A N
 L K G T K T R G K L C P N C L N C T D L D V A L G R P M C M
 G F I P S A K A S I L H E V R P V T S G C F P I M H D R T K
 2
 I R Q L P N L L R G Y E K I Q L S T K N V I N A E H A P G G
 2 2 2 2
 P Y R L G T S E S C P Y Q G K S S F F A T M A W A V P K K N
 3 4
S T Y T N P L T V E V P Y I C T K G E D Q I T V W G F H S D
 4
N D A A M Q T L Y G D S N P Q K F T S S A N G V T T H Y V S
 5 5
 Q I G D F P N Q T E D G G L P Q S G R I V V D Y M V Q K P G
 K T G T I V Y Q R G V L L P Q K V W C A S G R S K V I K G S
 L P L I G E A D C L H E K Y G G L N K S K P Y Y T G E H A K
 A I G N C P I W V K T P L K L A N G T K Y R P P A K L L K E
 R G F F G A I A G F L E G G W E G M I A G W H G Y T S H G A
 H G V A V A A D L K S T Q E A I N K I T K N L N S L S E L E
 V K N L Q R L S G A M D E L H N E I L E L D E K V D D L R A
 D T I S S Q I E L A V L L S N E G I I N S E D E H L L A L E
 R K L K K M L G P S A V D I G N G C F E T K H K C N Q T C L
 D R I A A G T F N A G E F S L P T F D S L N I T A A S L N D
 D G L D N Y Q I L A I Y S T V A S S L V L L V S L G A I S F
 6 7
W M C S N G S L Q C R I C I
 8

图13

```

          A G C A A A A G C A G G G G A
                                1
A A A T A A A A C A A C C A A A A T G A A G G C A A A C C
          1                                2
T A C T G G T C C T G T T A A G T G C A C T T G C A G C T G
          2
C A G A T G C A G A T C G A A T C T G C A C T G G G A T A A
          2
C A T C T T C A A A C T C A C C T C A T G T G G T C A A A A
C A G C T A C T C A A G G G G A A G T T A A T G T G A C T G
G T G T G A T A C C A C T G A C A A C A A C A C C A A C A A
A A T C T C A T T T T G C A A A T C T C A A A G G A A C A A
A G A C C A G A G G G A A A C T A T G C C C A A A C T G T C
T C A A C T G C A C A G A T C T G G A T G T G G C C T T G G
G C A G A C C A A T G T G T A T G G G G C A C A T A C C T T
                                3
C G G C A A A A G C T T C A A T A C T C C A C G A A G T C A
G A C C T G T T A C A T C C G G G T G C T T T C C T A T A A
T G C A C G A C A G A A C A A A A A T C A G A C A G C T A C
C C A A T C T T C T C A G A G G A T A T G A A A G G A T C A
                                3                                3
G A T T A T C A A C C T A C A A C G T T A T C A A C G C A G
          3                                3
A A A C C G C A C C A G G A G G A C C C T A C A G A C T T G
          3
G A A C C T C A A A A T C T T G C A A T G C T T C A A C A G
          4                                5
G A G G C C A A T C T T T C T T C G C A A C A A T G G C T T
          5
G G G C T G T C C C A A A A A A G A A A C C C G A C A C C T
                                6
A T A C G A A T C C A C T A A C A G T A G A A G T A C C A T
          6
A C A T T T G C A C A A A A G G A G A A G A C C A A A T T A
C T G T T T G G G G G T T C C A T T C T G A T C C G G A T G
                                7
C A A A A A T G C A A A C A C T C T A T G G A G A C T C A A
          7                                7
A T C C T C A A A A G T T C A C C T C A T C T G C C A A T G
G A G T A A C C A C A C A T T A T G T T T C T C A G A T T G
G T G A C T T C C C A A A T C A A A C A G A A G A C G G A G

```

图14A

G G C T A C C A C A A A G C G G C A G A A T T G T T G T T G
A T T A C A T G G T G C A A A A C C T G G G A A A A C A G
G A A C A A T T G T C T A T C A A A G A G G T G T T T T G T
T G C C T C A A A A G G T G T G G T G C G C A A G T G G C A
G G A G C A A G G T A A T A A A A G G G T C C T T G C C T T
T A A T T G G T G A A G C A G A T T G C C T T C A C G A A A
A A T A C G G T G G A T T A A A C A A A A G C A A G C C T T
A C T A C A C A G G A G A A C A T G C A A A A G C C A T A G
G A A A T T G C C C A A T A T G G G T G A A A A C A C C T T
T G A A G C T T G C C A A T G G A A C C A A A T A T A G A C
C T C C T G C A A A A C T A T T A A A G G A A A G G G G T T
T C T T C G G A G C T A T T G C T G G T T T C T T A G A G G
G A G G A T G G G A A G G A A T G A T T G C A G G T T G G C
A C G G A T A C A C A T C T C A T G G A G C A C A T G G A G
T G G C A G T G G C A G C A G A C C T T A A G A G C A C G C
A A G A A G C C A T A A A C A A G A T A A C A A A A A A T C
T C A A T T C T T T G A G T G A G C T A G A A G T A A A G A
A T C T T C A A A G A C T A A G T G G T G C C A T G G A T G
A A C T C C A C A A C G A A A T A C T C G A G C T G G A T G
A G A A A G T G G A T G A T C T C A G A G C T G A C A C A A
T A A G C T C G C A A A T A G A G C T T G C A G T C T T G C
T T T C C A A C G A A G G A A T A A T A A A C A G T G A A G
A T G A G C A T C T A T T G G C A C T T G A G A G A A A A C
T A A A G A A A A T G C T G G G T C C C T C T G C T G T A G
A C A T A G G G A A T G G A T G C T T C G A A A C C A A A C
A C A A G T G C A A C C A G A C C T G C T T A G A C A G G A
T A G C T G C T G G C A C C T T T A A T G C A G G A G A A T
T T T C T C T T C C C A C T T T T G A T T C A C T G A A T A
T T A C T G C T G C A T C T T T A A A T G A T G A T G G A T
T G G A T A A T T A T C A G A T T C T G G C G A T C T A C T
8 9
C A A C T G T C G C C A G T T C A C T G G T G C T T T T G G
9
T C T C C C T G G G G G C A A T C A G T T T C T G G A T G T
9 10
G T T C T A A T G G A T C T T T G C A G T G C A G A A T A T
10
G C A T C T G A G A T T A G A A T T T C A G A A A T A T G A
10 11
G G A A A A A C A C C C T T G T T T C T A C T
11

图14B

M K A N L L V L L S A L A A A D A D R I C T G I T S S N S P
 1
 H V V K T A T Q G E V N V T G V I P L T T T P T K S H F A N
 L K G T K T R G K L C P N C L N C T D L D V A L G R P M C M
 G H I P S A K A S I L H E V R P V T S G C F P I M H D R T K
 2
 I R Q L P N L L R G Y E $\frac{R}{2}$ I $\frac{R}{2}$ L S T $\frac{Y}{2}$ N V I N A E $\frac{T}{2}$ A P G G
 P Y R L G T S $\frac{K}{3}$ S C N A S T G G Q S F F A T M A W A V P $\frac{K}{5}$ K
 3 4 5
K P D T Y T N P L T V E V P Y I C T K G E D Q I T V W G F H
 5
 S D P D A K M $\frac{Q}{6}$ T L Y G D S N P Q K F T S S A N G V T T H Y
 6 6
 V S Q I G D F P N Q T E D G G L P Q S G R I V V D Y M V Q K
 P G K T G T I V Y Q R G V L L P Q K V W C A S G R S K V I K
 G S L P L I G E A D C L H E K Y G G L N K S K P Y Y T G E H
 A K A I G N C P I W V K T P L K L A N G T K Y R P P A K L L
 K E R G F F G A I A G F L E G G W E G M I A G W H G Y T S H
 G A H G V A V A A D L K S T Q E A I N K I T K N L N S L S E
 L E V K N L Q R L S G A M D E L H N E I L E L D E K V D D L
 R A D T I S S Q I E L A V L L S N E G I I N S E D E H L L A
 L E R K L K K M L G P S A V D I G N G C F E T K H K C N Q T
 C L D R I A A G T F N A G E F S L P T F D S L N I T A A S L
 N D D G L D N $\frac{Y}{7}$ Q I L A I Y S T V A S S L V L L V S L G A I
 7 8
S F W M C S N G S L Q C R I C I
 8 9

图15


```

                                a g c a a a a g c a g g g g a
                                1
a a a t a a a a c a a c c a a a A T G A A G G C A A A C C
                                1                                2
T A C T G G T C C T G T T A A G T G C A C T T G C A G C T G
                                2
C A G A T G C A G A T C G A A T C T G C A C T G G G A T A A
                                2
C A T C T T C A A A C T C A C C T C A T G T G G T C A A A A
C A G C T A C T C A A G G G G A A G T T A A T G T G A C T G
G T G T G A T A C C A C T G A C A A C A A C A C C A A C A A
A A T C T C A T T T T G C A A A T C T C A A A G G A A C A A
A G A C C A G A G G G A A A C T A T G C C C A A A C T G T C
T C A A C T G C A C A G A T C T G G A T G T G G C C T T G G
G C A G A C C A A T G T G T A T G G G G C T A A T A C C T T
                                3
C G G C A A A A G C T T C A A T A C T C C A C G A A G T C A
G A C C T G T T A C A T C C G G G T G C T T T C C T A T A A
T G C A C G A C A G A A C A A A A A T C A G A C A G C T A C
C C A A T C T T C T C A G A G G A T A T G A A A A G A T C G
                                3                                3
A A T T A T C A A C C T C A A A C G T T A T C A A C G C A G
                                3                                3
A A G T G G C A C C A G G A G G A C C C T A C A G A C T T G
                                3
G A A C C T C A A A A T C T T G C A A A T T C G G A A G C T
                                4                                5
C C A A T T C T T T C T T C G C A A C A A T G G C T T G G G
                                5
C T G T C C C A C A T C A A T C A G G A A C A T A T A C G A
                                6
A T C C A C T A A C A G T A G A A G T A C C A T A C A T T T
G C A C A A A A G G A G A A G A C C A A A T T A C T G T T T
G G G G G T T C C A T T C T G A T G C C A C A C T G A A A A
                                7
T G C A C C A A C T C T A T G G A G A C T C A A A T C C T C
                                7
A A A A G T T C A C C T C A T C T G C C A A T G G A G T A A
C C A C A C A T T A T G T T T C T C A G A T T G G T G A C T
T C C C A A A T C A A A C A G A A G A C G G A G G G C T A C
C A C A A A G C G G C A G A A T T G T T G T T G A T T A C A
T G G T G C A A A A A C C T G G G A A A A C A G G A A C A A

```

图16A

T T G T C T A T C A A A G A G G T G T T T T G T T G C C T C
 A A A A G G T G T G G T G C G C A A G T G G C A G G A G C A
 A G G T A A T A A A A G G G T C C T T G C C T T T A A T T G
 G T G A A G C A G A T T G C C T T C A C G A A A A A T A C G
 G T G G A T T A A A C A A A A G C A A G C C T T A C T A C A
 C A G G A G A A C A T G C A A A A G C C A T A G G A A A T T
 G C C C A A T A T G G G T G A A A A C A C C T T T G A A G C
 T T G C C A A T G G A A C C A A A T A T A G A C C T C C T G
 C A A A A C T A T T A A A G G A A A G G G G T T T C T T C G
 G A G C T A T T G C T G G T T T C T T A G A G G G A G G A T
 G G G A A G G A A T G A T T G C A G G T T G G C A C G G A T
 A C A C A T C T C A T G G A G C A C A T G G A G T G G C A G
 T G G C A G C A G A C C T T A A G A G C A C G C A A G A A G
 C C A T A A A C A A G A T A A C A A A A A A T C T C A A T T
 C T T T G A G T G A G C T A G A A G T A A A G A A T C T T C
 A A A G A C T A A G T G G T G C C A T G G A T G A A C T C C
 A C A A C G A A A T A C T C G A G C T G G A T G A G A A A G
 T G G A T G A T C T C A G A G C T G A C A C A A T A A G C T
 C G C A A A T A G A G C T T G C A G T C T T G C T T T C C A
 A C G A A G G A A T A A T A A A C A G T G A A G A T G A G C
 A T C T A T T G G C A C T T G A G A G A A A A C T A A A G A
 A A A T G C T G G G T C C C T C T G C T G T A G A C A T A G
 G G A A T G G A T G C T T C G A A A C C A A A C A C A A G T
 G C A A C C A G A C C T G C T T A G A C A G G A T A G C T G
 C T G G C A C C T T T A A T G C A G G A G A A T T T T C T C
 T T C C C A C T T T T G A T T C A C T G A A T A T T A C T G
 C T G C A T C T T T A A A T G A T G A T G G A T T G G A T A
 A T T A T C A G A T T C T G G C G A T C T A C T C A A C T G
8 9
 T C G C C A G T T C A C T G G T G C T T T T G G T C T C C C
9
 T G G G G G C A A T C A G T T T C T G G A T G T G T T C T A
9 10
 A T G G A T C T T T G C A G T G C A G A A T A T G C A T C T
10
 G A g a t t a g a a t t t c a g a a a t a t g a g g a a a a
10 11
 a c a c c c t t g t t t c t a c t
11

图16B

M K A N L L V L L S A L A A A D A D R I C T G I T S S N S P
 1
 H V V K T A T Q G E V N V T G V I P L T T T P T K S H F A N
 L K G T K T R G K L C P N C L N C T D L D V A L G R P M C M
 G L I P S A K A S I L H E V R P V T S G C F P I M H D R T K
 2
 I R Q L P N L L R G Y E K I E L S T S N V I N A E V A P G G
 2 2 2 2
 P Y R L G T S K S C K F G S S N S F F A T M A W A V P H Q S
 3 4 5
G T Y T N P L T V E V P Y I C T K G E D Q I T V W G F H S D
 5
A T L K M H Q L Y G D S N P Q K F T S S A N G V T T H Y V S
 6 6
 Q I G D F P N Q T E D G G L P Q S G R I V V D Y M V Q K P G
 K T G T I V Y Q R G V L L P Q K V W C A S G R S K V I K G S
 L P L I G E A D C L H E K Y G G L N K S K P Y Y T G E H A K
 A I G N C P I W V K T P L K L A N G T K Y R P P A K L L K E
 R G F F G A I A G F L E G G W E G M I A G W H G Y T S H G A
 H G V A V A A D L K S T Q E A I N K I T K N L N S L S E L E
 V K N L Q R L S G A M D E L H N E I L E L D E K V D D L R A
 D T I S S Q I E L A V L L S N E G I I N S E D E H L L A L E
 R K L K K M L G P S A V D I G N G C F E T K H K C N Q T C L
 D R I A A G T F N A G E F S L P T F D S L N I T A A S L N D
 D G L D N Y Q I L A I Y S T V A S S L V L L V S L G A I S F
 7 8
W M C S N G S L Q C R I C I
 9

图17

A G C A A A A G C A G G G G A
1

A A A T A A A A A C A A C C A A A A T G A A G G C A A A C C
1 2

T A C T G G T C C T G T T A A G T G C A C T T G C A G C T G
2

C A G A T G C A G A T C G A A T C T G C A C T G G G A T A A
2

C A T C T T C A A A C T C A C C T C A T G T G G T C A A A A
C A G C T A C T C A A G G G G A A G T T A A T G T G A C T G
G T G T G A T A C C A C T G A C A A C A A C A C C A A C A A
A A T C T C A T T T T G C A A A T C T C A A A G G A A C A A
A G A C C A G A G G G A A A C T A T G C C C A A A C T G T C
T C A A C T G C A C A G A T C T G G A T G T G G C C T T G G
G C A G A C C A A T G T G T A T G G G G T A T A T A C C T T
3

C G G C A A A A G C T T C A A T A C T C C A C G A A G T C A
G A C C T G T T A C A T C C G G G T G C T T T C C T A T A A
T G C A C G A C A G A A C A A A A A T C A G A C A G C T A C
C C A A T C T T C T C A G A G G A T A T G A A A G A A T C A
3 3

A G T T A T C A A C C T T C A A C G T T A T C A A C G C A G
3 3

A A A C G G C A C C A G G A G G A C C C T A C A G A C T T G
3

G A A C C T C A A A A T C T T G C A A C A A T A C A T C A A
4 5

A C C A A G G C T C A T T C T T C G C A A C A A T G G C T T
5

G G G C T G T C C C A T T A A A A T C A G G A C A A T T C A
6

C G A A T C C A C T A A C A G T A G A A G T A C C A T A C A
T T T G C A C A A A A G G A G A A G A C C A A A T T A C T G
T T T G G G G G T T C C A T T C T G A T C C A A C A T C T G
7

A T A T G C A G A T A C T C T A T G G A G A C T C A A A T C
7 7

C T C A A A A G T T C A C C T C A T C T G C C A A T G G A G
T A A C C A C A C A T T A T G T T T C T C A G A T T G G T G
A C T T C C C A A A T C A A A C A G A A G A C G G A G G G C
T A C C A C A A A G C G G C A G A A T T G T T G T T G A T T
A C A T G G T G C A A A A A C C T G G G A A A A C A G G A A

图18A

```

C A A T T G T C T A T C A A A G A G G T G T T T T G T T G C
C T C A A A A G G T G T G G T G C G C A A G T G G C A G G A
G C A A G G T A A T A A A A G G G T C C T T G C C T T T A A
T T G G T G A A G C A G A T T G C C T T C A C G A A A A A T
A C G G T G G A T T A A A C A A A A G C A A G C C T T A C T
A C A C A G G A G A A C A T G C A A A A G C C A T A G G A A
A T T G C C C A A T A T G G G T G A A A A C A C C T T T G A
A G C T T G C C A A T G G A A C C A A A T A T A G A C C T C
C T G C A A A A C T A T T A A A G G A A A G G G G T T T C T
T C G G A G C T A T T G C T G G T T T C T T A G A G G G A G
G A T G G G A A G G A A T G A T T G C A G G T T G G C A C G
G A T A C A C A T C T C A T G G A G C A C A T G G A G T G G
C A G T G G C A G C A G A C C T T A A G A G C A C G C A A G
A A G C C A T A A A C A A G A T A A C A A A A A A T C T C A
A T T C T T T G A G T G A G C T A G A A G T A A A G A A T C
T T C A A A G A C T A A G T G G T G C C A T G G A T G A A C
T C C A C A A C G A A A T A C T C G A G C T G G A T G A G A
A A G T G G A T G A T C T C A G A G C T G A C A C A A T A A
G C T C G C A A A T A G A G C T T G C A G T C T T G C T T T
C C A A C G A A G G A A T A A T A A A C A G T G A A G A T G
A G C A T C T A T T G G C A C T T G A G A G A A A A C T A A
A G A A A A T G C T G G G T C C C T C T G C T G T A G A C A
T A G G G A A T G G A T G C T T C G A A A C C A A A C A C A
A G T G C A A C C A G A C C T G C T T A G A C A G G A T A G
C T G C T G G C A C C T T T A A T G C A G G A G A A T T T T
C T C T T C C C A C T T T T G A T T C A C T G A A T A T T A
C T G C T G C A T C T T T A A A T G A T G A T G G A T T G G
A T A A T T A T C A G A T T C T G G C G A T C T A C T C A A
           8                               9
C T G T C G C C A G T T C A C T G G T G C T T T T G G T C T
                               9
C C C T G G G G G C A A T C A G T T T C T G G A T G T G T T
           9                               10
C T A A T G G A T C T T T G C A G T G C A G A A T A T G C A
                               10
T C T G A G A T T A G A A T T T C A G A A A T A T G A G G A
    10                               11
A A A A C A C C C T T G T T T C T A C T
           11

```

图18B

M K A N L L V L L S A L A A A D A D R I C T G I T S S N S P
 1
 H V V K T A T Q G E V N V T G V I P L T T T P T K S H F A N
 L K G T K T R G K L C P N C L N C T D L D V A L G R P M C M
 G Y I P S A K A S I L H E V R P V T S G C F P I M H D R T K
 2
 I R Q L P N L L R G Y E R I K L S T F N V I N A E T A P G G
 2 2 2 2
 P Y R L G T S K S C N N T S N Q G S F F A T M A W A V P L K
 3 4 5
S G Q F T N P L T V E V P Y I C T K G E D Q I T V W G F H S
 5
 D P T S D M Q I L Y G D S N P Q K F T S S A N G V T T H Y V
 6 6
 S Q I G D F P N Q T E D G G L P Q S G R I V V D Y M V Q K P
 G K T G T I V Y Q R G V L L P Q K V W C A S G R S K V I K G
 S L P L I G E A D C L H E K Y G G L N K S K P Y Y T G E H A
 K A I G N C P I W V K T P L K L A N G T K Y R P P A K L L K
 E R G F F G A I A G F L E G G W E G M I A G W H G Y T S H G
 A H G V A V A A D L K S T Q E A I N K I T K N L N S L S E L
 E V K N L Q R L S G A M D E L H N E I L E L D E K V D D L R
 A D T I S S Q I E L A V L L S N E G I I N S E D E H L L A L
 E R K L K K M L G P S A V D I G N G C F E T K H K C N Q T C
 L D R I A A G T F N A G E F S L P T F D S L N I T A A S L N
 D D G L D N Y Q I L A I Y S T V A S S L V L L V S L G A I S
 7 8
F W M C S N G S L Q C R I C I
 8 9

图19

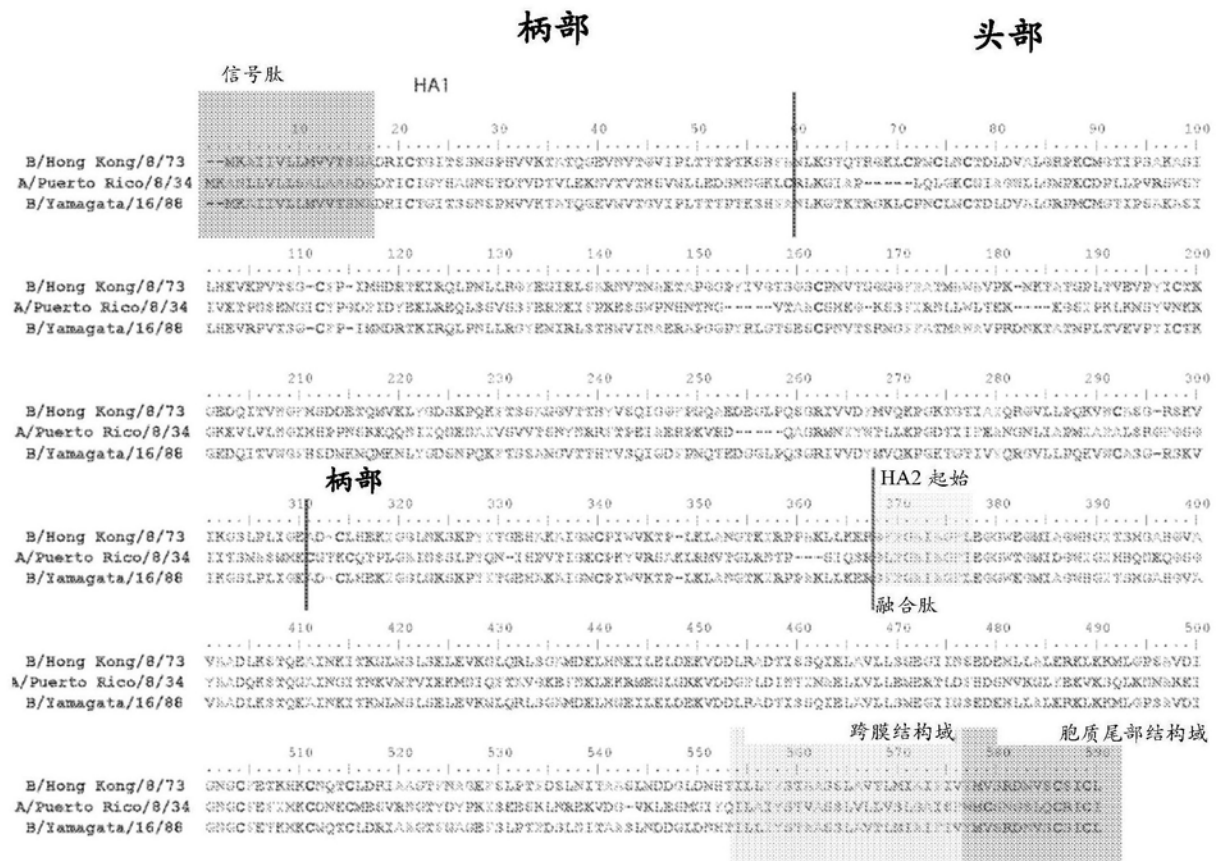


图20

5' -GCAAAAGCAGGGGTCACAATGGAGAAGTTCATCATAATGGCAATGCTCTTGGTGAG
CACAAATGCATATGATAGGATATGCATTGGATACCAATCAAACAACCTCCACTGACACAG
TAAACACACTCATAGAGCAAAATGTGCCAGTCACCCAGACAATGGAAC TAGTGGA AACC
GAGAAACATCCTGCCTATTGCAATACTGATTTGGGTGCTCCACTAGAGTTGCGTGATTG
CAAGATTGAGGCGGTGATCTATGGGAACCCAAAATGTGACATCCACTTGAAAGACCAAG
GTTGGTCATACATAGTGGAGAGACCCAGTGCACCAGAGGGGATGTGCTACCC TGGATCA
GTGGAGAATCTCGAAGAGTTGAGGTTTGT TTTCTCCAGTGCTGCTTCCTACAAAAGGAT
AAGATTGTTTGATTACTCCAGATGGAATGTTACCAGATCTGGGACAAGCAAGGCATGCA
ATGCTTCAACAGGAGGCCAATCTTTCTATCGGAGCATCAATTGGCTAACTAAAAAGAAA
CCCGACACCTATGACTTCAATGAGGGGACTTATATCAATAATGAAGATGGGGACATAAT
TTTCTTATGGGGGATTTCATCACCCACCGGATGCAAAGAGCAAACAACACTGTACAAGA
ATGCAAATACTTTGAGTAGTGTTACTACCAACACTATAAACAGGAGCTTCCAACCCAAT
ATCGGGCCCAGGCCACTGGTGAGAGGGCAACAAGGGCGGATGGACTATTATTGGGGCAT
TTTGAAGAGGGGAGAACTTTAAAAATTAGAACCAATGGGAACCTGATCGCGCCTGAAT
TCGGTTATCTGCTCAAAGGGGAGAGCCATGGCAGAATAATTCAAATGAGGACATACCA
ATTGGGAGTTGTCAACGAAATGTCAGACATACGCAGGAGCAATTAATAGCAGCAAACC
CTTTCAGAATRC AAGCAGGCACTACATGGGAGAATGTCCCAAGTATGTGAAGAAGGAAA
GCTTACGGCTGGCAGTTGGACTTAGAAACACTCCTTCTATTGAACCCAGAGGCTTGTTT
GGAGCCATTGCTGGTTTTATTGAAGGGGGATGGTCTGGGATGATTGATGGATGGTATGG
GTTTCACCATAGTAATTCAGAAGGAACAGGAATGGCGGCCGATCAGAAATCGACACAAG
AAGCAATTGACAAAATCACCAATAAGGTCAATAATATAGTTGATAAAATGAACAGGGAA
TTTGAAGTAGTGAACCATGAGTTTTTCCGAAGTCGAAAAAAGAATAAACATGATAAATGA
CAAAATTGATGACCAGATTGAAGATCTTTGGGCCTACAATGCAGAGCTTCTGGTCCTCC
TAGAGAACCAGAAAACACTGGATGAACACGACTCCAATGTCAAAAATCTCTTTGATGAA
GTAAGAAGGAGACTTTCAGCCAATGCAATAGATACTGGGAATGGCTGCTTCGACATACT
CCACAAATGTGACAACGAGTGCATGGAGACCATAAAGAATGGGACTTATAACCATAAAG
AGTATGAGGAAGAGGCCAAGCTGGAAAGGAGCAAGATTAACGGAGTAAAGCTAGAGGAA
AATACCACCTATAAAATTCTCAGCATTTACAGTACGGTGGCGGCCAGTCTTTGCTTGGC
AATCCTGATTGCTGGAGGTCTAATCCTGGGCATGCAAAATGGATCTTG TAGATGCATGT
TCTGTATTTAAGAAAAAACACCCTTGTTTCTACT-3'

图21A

MEKFIIMAMLLVSTNAYDRICIGYQSNNSTDVNTLIEQNVPTQTMEIVETEKHPAYC
NTDLGAPLELRDCKIEAVIYGNPKCDIHLKDQGSYIVERPSAPEGMCYPGSVENLEEL
RFVFSSAASYKRIRLFDYSRWNVTRSGTSKACNASTGGQSFYRSINWLTKKKPDYDFN
EGTYINNEDGDIIFLWGIHHPPDAKEQTTLYKNANTLSSVTTNTINRSFQPNIGPRPLV
RGQQGRMDYYWGILKRGETLKIRTNGNLIAPFEGYLLKGESHGRIIQNEDIPIGSCHTK
CQTYAGAINSSKPFQNXSRHYMGECPKYVKESLRLAVGLRNTPSIEPRGLFGAIAGFI
EGGWSGMIDGWYGFHHSNSEGTGMAADQKSTQEADKITNKVNNIVDKMNREFEVVNHE
FSEVEKRINMINDKIDDQIEDLWAYNAELLVLLLENQKTLDEHDSNVKNLFDEVRRRLSA
NAIDTGNGCFDILHKCDNECMETIKNGTYNHKEYEEEEAKLERSKINGVKLEENTTYKIL
SIYSTVAASLCLAILIAGGLILGMQNGSCRCMFCI

图21B

CGGATGTTGCCAGCCGGCGCCAGCGAGGAGGCTGGGACCATGCCGGCCAGCAAAAGCA
GGGGTTCAATCTGTCAAAATGGAGAAAATAGTGCTTCTTTTGGCAATAGTCAGTCTTGT
TAAAAGTGATCAGATTTGCATTGGTTACCATGCAACAACCTCGACAGAGCAGGTTGACA
CAATAATGGAAAAGAACGTTACTGTTACACATGCCCAAGACATACTGGAAAAGAAACAC
AACGGGAAGCTCTGCGATCTAGATGGAGTGAAGCCTCTAATTTTGAGAGATTGTAGCGT
AGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCCAATGTGTGACGAATTCATCAATGTGCCGGAATGGT
CTTACATAGTGGAGAAGGCCAATCCAGTCAATGACCTCTGTTACCCAGGGGATTTCAAT
GACTATGAAGAATTGAAACACCTATTGAGCAGAATAAACCATTTTGAGAAAATTGAGAT
CATCCCCAAAAGTTCTTGGTCCAGTCATGAAGCCTCATTAGGGGTGAGCTCAGCATGTC
CATACCAGGGAAAGTCCTCCTTTTTCAGAAATGTGGTATGGCTTATCAAAAAGAACAGT
ACATACCCAACAATAAAGAGGAGCTACAATAATACCAACCAAGAAGATCTTTTGGTACT
GTGGGGGATTACCATCCTAATGATGCGGCAGAGCAGACAAAGCTCTATCAAAACCCAA
CCACCTATATTTCCGTTGGGACATCAACACTAAACCAGAGATTGGTACCAAGAATAGCT
ACTAGATCCAAAGTAAACGGGCAAAGTGGAAGGATGGAGTTCTTCTGGACAATTTTAAA
GCCGAATGATGCAATCAACTTCGAGAGTAATGGAAATTTCAATTGCTCCAGAATATGCAT
ACAAAATTGTCAAGAAAGGGGACTCAACAATTATGAAAAGTGAATTGGAATATGGTAAC
TGCAACACCAAGTGTCAACTCCAATGGGGGCGATAAACTCTAGCATGCCATTCCACAA
TATACACCCTCTCACCATTGGGGAATGCCCCAAATATGTGAAATCAAACAGATTAGTCC
TTGCGACTGGGCTCAGAAATAGCCCTCAGCGGGAGACGCGGGGATTATTTGGAGCTATA
GCAGGTTTTATAGAGGGAGGATGGCAGGGAATGGTAGATGGTTGGTATGGGTACCACCA
TAGCAATGAGCAGGGGAGTGGGTACGCTGCAGACAAAGAATCCACTCAAAGGCAATAG
ATGGAGTCACCAATAAGGTCAACTCGATCATTGACAAAATGAACACTCAGTTTGAGGCC
GTTGGAAGGGAATTTAACAACCTTAGAAAGGAGAATAGAGAATTTAAACAAGAAGATGGA
AGACGGGTTCTTAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAACCTTCTGGTTCTCATGGAAAATG
AGAGAACTCTAGACTTTTCATGACTCAAATGTCAAGAACCTTTACGACAAGGTCCGACTA
CAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAACGGTTGTTTCGAGTTCTATCATAAATG
TGATAATGAATGTATGGAAAGTGTAAGAAATGGAACGTATGACTACCCGCAGTATTCAG
AAGAAGCGAGACTAAAAAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAATTTGGAATCAATAGGAATT
TACCAAATACTGTCAATTTATTCTACAGTGGCGAGTTCCTTAGCACTGGCAATCATGGT
AGCTGGTCTATCCTTATGGATGTGCTCCAATGGGTTCGTTACAATGCAGAATTTGCATTT
AAATTTGTGAGTTCAGATTGTAGTTAAAAACACCCTTGTTTCTACTAATAACCCGGCGG
CCCAAAATGCC

图22A

MEKIVLLFAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTTHAQDILEKKHNGKLCD
LDGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINPEWSYIVEKANPVNDLCYPGDFNDYEELK
HLLSRINHFEKIQIIPKSSWSSHEASLGVSACPYQGKSSFFRNVWLIKKNSTYPTIK
RSYNNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGTSTLNQRLVPRIATRSKVN
GQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPEYAYKIVKKG DSTIMKSELEYGNCNTKCQ
TPMGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKS NRLVLATGLRNSPQRETRGLFGAIAGFIEG
GWQGMVDGWYGYHHSNEQGS GYAADKESTQKAIDGV TNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFN
NLERRIENLNKKMEDGFLDVWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNA
KELGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQYSEEARLKREEISGVKLESIGIYQILSI
YSTVASSLALAIMVAGLSLWMC SNGSLQCRICICEFRLLKTPLFLITRPPKM

图22B

5' -AAAGCAGGGGTTC TATTAAGAAATCAAATGAAGAAAGCACTGCTATTTGCAGCTA
TTTTCTTTATGCAAAGGCAGATGAAATCTGTATCGGCTACTTAAGCAACA ACTCAACA
GACAAAGTTGACACAATAATCGAGAACAATGTCACAGTGACTAGCTCAGTGGAAGTAGT
CGAAACAGAACACACTGGGTCAATTCTGCTCAATCAATGGAAAACAACCGATAAGTCTTG
GAGACTGCTCTTTTGCTGGGTGGATATTAGGTAATCCCATGTGTGATGATCTAATTGGT
AAGACTTCATGGTCCTACATTGTGGAGAAGCCCAACCAACAAATGGAATTTGTTACCC
TGGAACTTTGAGGATGAAGAAGAACTGAGACTGAAATTCAGTGAGTCTTGGAATTCA
GCAAGTTCGAAGCATTACATCAAATGGATGGGGTGCTGTGAATTCGGGAGCAGGAGTG
ACTGCTGCATGCAAATTCGGAAGCTCCAATTCTTTCTTCCGAAACATGGTATGGCTTAT
ACATCAATCAGGAACATATCCTGTAATAAAGAGGACTTTTAACAATACCAAAGGAAGAG
ATGTGTTGATCGTTTGGGGAATTCATCACCCCTGCCACACTGAAAGAGCACCAAGACCTA
TACAAGAAAGACAGTTCTATGTAGCAGTGGGTTCAGAACTTACAACAGAAGATTAC
CCCAGAAATCAGCACTAGGCCCAAAGTCAATGGACAGGCTGGACGGATGACATTTTATT
GGACAATGGTCAAACCAGGAGAGTCAATAACATTTGAGTCTAATGGTGCATTCTTGGCT
CCTAGATATGCTTTTGAGATTGTCTCTGTTGGAAATGGGAAATTATTCAGAAGCGAACT
GAGTATTGAATCATGCTCTACCAAATGCCAAACAGAAGTAGGAGGGATTAATACAAACA
AAAGTTTCCACAGTGTTTCATAGGAACACTATTGGAGACTGTCCCAAATATGTGAATGTC
AAATCCCTAAAGCTTGCCACAGGACTTAGAAATGTTCCAGCAATAGCATCAAGAGGATT
GTTTGAGCAATAGCCGGATTTATAGAAGGTGGGTGGCCAGGGCTTATCAATGGATGGT
ACGGTTTTCAACACAGAAATGAGGAAGGAACAGGCATAGCAGCAGACAGGGAGTCAACT
CAAAGGCAGTAGACCAGATAACATCCAAAGTAAACAACATCGTCGACAGAATGAATAC
AAATTTGAGTCTGTGCAACACGAATTCAGTGAAATAGAGGAGAGGATAAACCAATTGT
CGAAACACGTAGATGATTCTGTGGTTGACATCTGGTCATATAACGCACAACCTCCTCGTT
TGGCTTGAAAATGAGAAAACCTG GATCTCCACGATTCCAATGTTAGGAATCTTCATGA
GAAAGTCAGAAGGATGCTAAAGGACAATGCCAAAGATGAGGGAAATGGATGCTTCACCT
TTTACCACAAGTGTGACAACGAATGCATCGAAAAGGTTAGAAACGGAACATATGATCAC
AAAGAATTGAAGAAGAATCAAGAATCAATCGCCAGGAGATTGAGGGAGTGAGATTAGA
TTCTAGTGGGAATGTGTATAAAATACTGTCAATTTACAGCTGCATCGCAAGCAGTCTTG
TATTAGCAGCACTCATCATGGGTTTCATCCTATGGGCGTGCAGCAATGGATCATGTAGA
TGTACCATTTCATTTAGAATTGTGGCAAAAACACCC - 3'

图23A

MKKALLFAAIFLYAKADEICIGYLSNNSTDKVDTIIENNVTVTSSVELVETEHTGSFCS
 INGKQPI SLGDCSFAGWILGNPMCDDLIGKTSWSYIIVEKPNPTNGICYPGTLEDEEELR
 LKFSGVLEFSKFEEFTSNGWGAVNSGAGVTAACKFGSSNSFFRNMVWLIHQSGTYPVIK
 RTFNNTKGRDVLIVWGIHHPATLKEHQDLYKKDSSYVAVGSETYNRRFTPEISTRPKVN
 GQAGRMTFYWTMVKPGESITFESNGAFLAPRYAFEIVSVGNGKLFERSELSIESCSTKCQ
 TEVGGINTNKSFSHSVHRNTIGDCPKYVNVKSLKLATGLRNVPAIASRGLFGAIAGFIEG
 GWPGLINGWYGFQHRNEEGTGIAADRESTQKAVDQITSKVNNIVDRMNTNFESVQHEFS
 EIEERINQLSKHVDDSVVDIWSYNAQLLVWLENEKTLDLHDSNVRNLHEKVRRMLKDNA
 KDEGNGCFTFYHKCDNECIEKVRNGTYDHKEFEEESRINRQEIEGVRLDSSGNVYKILS
 IYSCIASSLVLAALIMGFILWACSNNGSCRTICI

图23B

5' -GGTCACAATGGAAAAATTCATCATTTTGAGCACTGTCCTGGCAGTAAGCTTTGCAT
 ATGACAAAATTTGCATTGGATATCAAACAAACAACCTGACTGAGACAGTAAACACACTA
 ATCGAGCAAAACGTTCCGGTGACACAGGTGGAAGAACTCGTGATGGTGGGATCGATCC
 GGTCTATGTGGAACGGAGCTAGGGTCACCATTAGTGCTTGATGACTGTTCACTCGAAG
 GTCTCATTCTAGGCAATCCCAAATGTGATCTTTATCTGAATGGCAGGGAATGGTCATAC
 ATAGTAGAGAGGCCCAAAGAAATGGAAGGAGTTTGCTACCCAGGATCAATTGAAAATCA
 AGAGGAGTTGAGATCTCTGTTTTCTTCCATCAAGAAGTATGAAAGAGTGAAGATGTTTG
 ATTTACCAAATGGAATGTCACGTACACTGGAACCAGCAAGGCCTGCAACAATACATCA
 AACCAAGGCTCATTCTATAGGAGCATGAGATGGTTAACCTTAAAATCAGGACAATTCCC
 AGTCCAGACAGATGAGTACAAGAACACCAGAGATTCCGACATTGCTTTCACCTGGGCCA
 TCCATCACCCACCAACATCTGATGAACAGATAAAGTTATACAAAATCCGGATACCTC
 TCCTCAGTCACCACTGATGAAATCAATAGGAGTTTCAAGCCTAACATAGGACCAAGGCC
 ATTAGTGAGAGGACAACAGGGGAGAATGGATTACTACTGGGCTGTCCTCAAACCTGGAC
 AAATGTCAAAATACAGACCAATGGTAATCTTATTGCACCTGAATATGGTCACTTAATT
 ACAGGGAAATCACATGGCAGGATACTCAAGAATAACTTGCCCATAGGACAGTGTGTGAC
 TGAGTGCCAGTTGAATGAAGGGGTGATGAATACAAGTAAACCTTTCCAGAACACTAGTA
 AGCACTATATTGGGAAATGTCCCAAATACATACCATCAGGAAGCCTGAAATTGGCGATA
 GGGCTCAGAAATGTTCCACAAGTTCAGAACAGAGGACTATTTGGAGCAAAAGCAGGTTT
 CATAGAGGGCGGATGGCCAGGACTAGTGGCTGGTTGGTATGGATTTACGATCAAAATG
 CAGAGGGGACAGGCATAGCCGCAGACAGAGACAGCACTCAGAAGGCAATAGACAATATG
 CAAAACAACTCAACAATGTCATTGACAAAATGAACAAACAATTTGAAGTGGTGAATCA
 TGAGTTTTTCAGAAGTGGAAGCAGAATAAACATGATTAATTCCCAAATTGATGATCAAA
 TAACTGACATATGGGCATACAATGCTGAACCTGCTTGTCTTATTGGAAAATCAGAAGACA
 TTAGATGAGCATGATGCTAATGTAAGAACTTACACGATAGAGTCAGAAGAGTCCTAAG
 AGAAAATGCAATTGATACAGGAGATGGTTGCTTTGAAATTCTGCATAAATGTGACAACA
 ATTGCATGGACACAATCAGAAATGGGACATACAATCACAAGGAGTATGAGGAAGAAAGC
 AAAATCGAACGACAGAAAATTAATGGTGTCAAACCTTGAGGAGAATTCTACATATAAAAT
 TCTGAGCATCTACAGCAGTGTGCTCAAGCTTAGTTCTACTGCTCATGATTATTGGGG
 GTTTTCATTTTCGGGTGTCAAATGGAAATGTTTCGTTGTACTTTCTGTATTTAATTA
 ACAC-3'

图24A

MEKFIIILSTVLAVSFAYDKICIGYQTNNSTETVNTLIEQNVPVTQVEELVHGGIDPVL
GTELGSPLVLDDCSLEGLILGNPKCDLYLNGREWSYIVERPKEMEGVCYPGSIENQEEL
RSLEFSSIKKYERVKMFDFTKWNVITYTGTSKACNNTSNQGSFYRSMRWLTLKSGQFPVQT
DEYKNTRDSDIVFTWAIHHPPTSDEQIKLYKNPDTLSSVTTDEINRSFKPNIGPRPLVR
GQQGRMDYYWAVLKPQTVKIQTNGNLIAPEYGHITGKSHGRILKNNLPIGQCVTECQ
LNEGVMNTSKPFQNTSKHYIGKCPKYIPSGSLKLAIGLRNVPQVQNRGLFGAKAGFIEG
GWPGLVAGWYGFQHQNAEGTGIAADRSTQKAIDNMQNKLNNVIDKMNKQFEVVNHEFS
EVESRINMINSQIDDQITDIWAYNAELLVLENQKTLDEHDANVRNLHDRVRRVLRENA
IDTGDGCFEILHKCDNNCMDTIRNGTYNHKEYEEESKIERQKINGVKLEENSTYKILSI
YSSVASSLVLLMIIGGFIFGCQNGNVRCTFCI

图24B

5' -agcaaaagcaggggaaaataaaaacaacccaaaATGAAGGCAAACCTACTGGTCCTG
TTAAGTGCACCTTGCAGCTGCAGATGCAGACACAATATGTATAGGCTACCATGCGAACAA
TTCAACCGACACTGTTGACACAGTACTCGAGAAGAATGTGACAGTGACACACTCTGTTA
ACCTGCTCGAAGACAGCCACAACGGAAAACCTATGTAGATTAAAAGGAATAGCCCCACTA
CAATTGGGGAAATGTAACATCGCCGGATGGCTCTTGGGAAACCCAGAATGCGACCCACT
GCTTCCAGTGAGATCATGGTCTTACATTGTAGAAACACCAAACCTCTGAGAATGGAATAT
GTTATCCAGGAGATTTTCATCGACTATGAGGAGCTGAGGGAGCAATTGAGCTCAGTGTCA
TCATTTCGAAAGATTCGAAATATTTCCCAAAGAAAGCTCATGGCCCAACCACAACACAAA
CGGAGTAACGGCAGCATGCTCCCATGAGGGGAAAAGCAGTTTTTACAGAAATTTGCTAT
GGCTGACGGAGAAGGAGGGCTCATACCCAAAGCTGAAAAATTCTTATGTGAACAAAAAA
GGGAAAGAAGTCCTTGTAAGTGTGGGGTATTCATCACCCGCCTAACAGTAAGGAACAACA
GAATATCTATCAGAATGAAAATGCTTATGTCTCTGTAGTGACTTCAAATTATAACAGGA
GATTTACCCCGGAAATAGCAGAAAGACCCAAAGTAAGAGATCAAGCTGGGAGGATGAAC
TATTACTGGACCTTGCTAAAACCCGGAGACACAATAATTTTGAGGCAAATGGAAATCT
AATAGCACCAATGTATGCTTTCGCACTGAGTAGAGGCTTTGGGTCCGGCATCATCACCT
CAAACGCATCAATGCATGAGTGTAACACGAAGTGTCAAACACCCCTGGGAGCTATAAAC
AGCAGTCTCCCTTACCAGAATATACACCCAGTCACAATAGGAGAGTGCCCAAAATACGT
CAGGAGTGCCAAATTGAGGATGGTTACAGGACTAAGGAACACTCCGTCCATTCAATCCA
GAGGTCTATTTGGAGCCATTGCCGGTTTTATTGAAGGGGGATGGACTGGAATGATAGAT
GGATGGTATGGTTATCATCATCAGAATGAACAGGGATCAGGCTATGCAGCGGATCAAAA
AAGCACACAAAATGCCATTAACGGGATTACAAACAAGGTGAACACTGTTATCGAGAAAA
TGAACATTCAATTCACAGCTGTGGGTAAAGAATTCAACAAATTAGAAAAAGGATGGAA
AATTTAAATAAAAAAGTTGATGATGGATTTCTGGACATTTGGACATATAATGCAGAATT
GTTAGTTCCTACTGGAAAATGAAAGGACTCTGGATTTCCATGACTCAAATGTGAAGAATC
TGTATGAGAAAGTAAAAAGCCAATTAAAGAATAATGCCAAAGAAATCGGAAATGGATGT
TTTGAGTTCTACCACAAGTGTGACAATGAATGCATGGAAAGTGTAAAGAAATGGGACTTA
TGATTATCCCAAATATTCAGAAGAGTCAAAGTTGAACAGGGAAAAGGTAGATGGAGTGA
AATTGGAATCAATGGGGATCTATCAGATTCTGGCGATCTACTCAACTGTCGCCAGTTCA
CTGGTGCTTTTGGTCTCCCTGGGGGCAATCAGTTTCTGGATGTGTTCTAATGGATCTTT
GCAGTGCAGAATATGCATCTGAgattagaatttcagaaatatgaggaaaaacacccttg
tttctact-3'

图25A

MKANLLVLLSALAAADADTICIGYHANNSTDTVDTVLEKNVTVTHSVNLLLED SHNGKLC
RLKGIAPLQLGKCNIAGWLLGNPECDPLLPVRSWSYIVETPNSENGICYPGDFIDYEEL
REQLSSVSSFERFEIFPKESSWPNHNTNGVTAACSHGKSSFYRNLLWLTEKEGSYPKL
KNSYVNKKGKEVLVLWGIHPPNSKEQQNIYQENAYVSVVTSNYNRRFTPEIAERPKV
RDQAGRMNYYWTLLKPGDTIIFEANGNLIAPMYAFALSRGFGSGIITSNASMHECNTKC
QTPLGAINSSLPYQNIHPVTIGECPKYVRSAKLRMVTGLRNTPSIQSRGLFGAIAGFIE
GGWTGMIDGWYGYHHQNEQSGSYAADQKSTQNAINGITNKVNTVIEKMNIQFTAVGKEF
NKLEKR MENLNKKVDDGFLDIWTYNAELLVLL ENERTLDFHDSNVKNLYEKVKSQ LKNN
AKEIGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPKYSEESKLNREKVDGVKLESMGIYQILA
IYSTVASSLVLLVSLGAISFWMCSNGSLQ

图25B

5' -agcagaagcagagcatttttctaataatccacaaaATGAAGGCAATAATTGTACTACT
CATGGTAGTAACATCCAACGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCAAACCTCAC
CTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGAAGTTAATGTGACTGGTGTGATACCACTG
ACAACAACACCAACAAAATCTCATTCTGCAAATCTCAAAGGAACAAAGACCAGAGGGAA
ACTATGCCCAAACCTGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTGGCCTTGGGCAGACCAATGT
GTATGGGGACCATACTTTCGGCAAAGCTTCAATACTCCACGAAGTCAGACCTGTTACA
TCCGGGTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAACAAAATCAGACAGCTACCCAATCTTCT
CAGAGGATATGAAAATATCAGATTATCAACCCATAACGTTATCAACGCAGAAAGGGCAC
CAGGAGGACCCTACAGACTTGGAACCTCAGAATCTTGCCCTAACGTTACCAGTAGAAAC
GGATTCTTCGCAACAATGGCTTGGGCTGTCCCAAGGGACAACAAAACAGCAACGAATCC
ACTAACAGTAGAAGTACCATACATTTGCACAAAAGGAGAAGACCAAATTAAGTTTGGG
GGTTCCATTCTGATAACAAAACCAAATGAAAACCTCTATGGGAGACTCAAATCCTCAA
AAGTTCACCTCATCTGCCAATGGAGTAACCACACATTATGTTTCTCAGATTGGTGACTT
CCCAAATCAAACAGAAGACGGAGGGCTACCACAAAGCGGCAGAAATTGTTGTTGATTACA
TGGTGCAAAAACCTGGGAAAACAGGAACAATTGTCTATCAAAGAGGTGTTTTGTTGCCT
CAAAAGGTGTGGTGCGCAAGTGGCAGGAGCAAGGTAATAAAAGGGTCCCTTGCCCTTTAAT
TGGTGAAAGCAGATTGCCTTCACGAAAAATACGGTGGATTAAACAAAAGCAAGCCTTACT
ACACAGGAGAACATGCAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGTGAAAACACCTTTG
AAGCTTGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGCAAAACTATTAAAGGAAAGGGGTTT
CTTCGGAGCTATTGCTGGTTTTCTTAGAGGGAGGATGGGAAGGAATGATTGCAGGTGGC
ACGGATACACATCTCATGGAGCACATGGAGTGGCAGTGGCAGCAGACCTTAAGAGCACG
CAAGAAGCCATAAACAAGATAACAAAAAATCTCAATTCCTTGAGTGAGCTAGAAGTAA
GAATCTTCAAAGACTAAGTGGTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGG
ATGAGAAAGTGGATGATCTCAGAGCTGACACAATAAGCTCGCAAATAGAGCTTGACGTC
TTGCTTTCCAACGAAGGAATAATAAACAGTGAAGATGAGCATCTATTGGCACTTGAGAG
AAAATAAGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGGAATGGATGCTTCGAAA
CCAAACACAAGTGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCA
GGAGAATTTTCTCTTCCCACTTTTGGATTCACTGAATATTACTGCTGCATCTTTAAATGA
TGATGGATTGGATAATCATACTATACTGCTCTACTACTCAACTGCTGCTTCTAGTTTGG
CCGTAACATTGATGATAGCTATTTTTATTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAATGTTTCT
TGCTCCATCTGTCTATAAaggaaaattaagccctgtattttcctttattgtagtgcttgt
ttgcttgttaccattacaaagaaacgttattgaaaaatgctcttgttactact-3'

图26A

MKAIIVLLMVVTSNADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVGTGVIPLTTTPTKSHFANL
KGTKTRGKLCPNCLNCTDLDVALGRPMCMTIPSAKASILHEVRPVTSGCFPIMHDRK
IRQLPNLLRGYENIRLSTHNVINAERAPGGPYRLGTSESCPNVTSRNGFFATMAWAVPR
DNKTATNPLTVEVPYICTKGEDQITVWGFHSDNKNQMKNLYGDSNPQKFTSSANGVTTH
YVSQIGDFPNQTEDGGLPQSGRIVVDYMQPKGTGTIVYQRGVLLPQKVWCASGRSKV
IKGSLPLIGEADCLHEKYGGLNKSHPYYTGEHAKAIGNCPIWVKTPLKLANGTKYRPPA
KLLKERGFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLN
SLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELDEKVDDLADTISQIELAVLLSNEGIINSE
EHLALERKLLKMLGPSAVIDGNGCFETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL
ITAASLNDGDLNHTILLYYSTAASSLAVTLMIAIFIVYMVSRDNVSCSICL

图26B

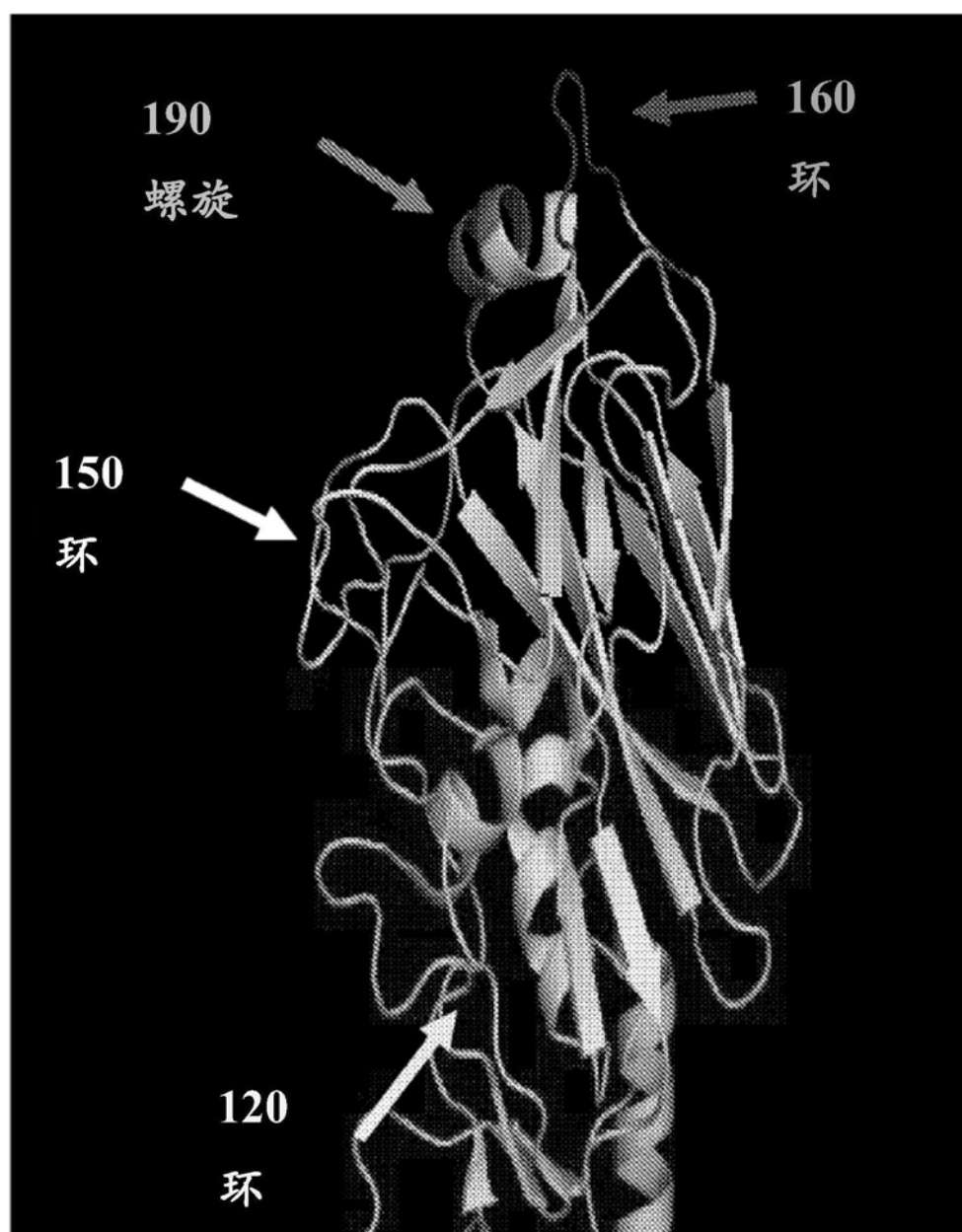


图27

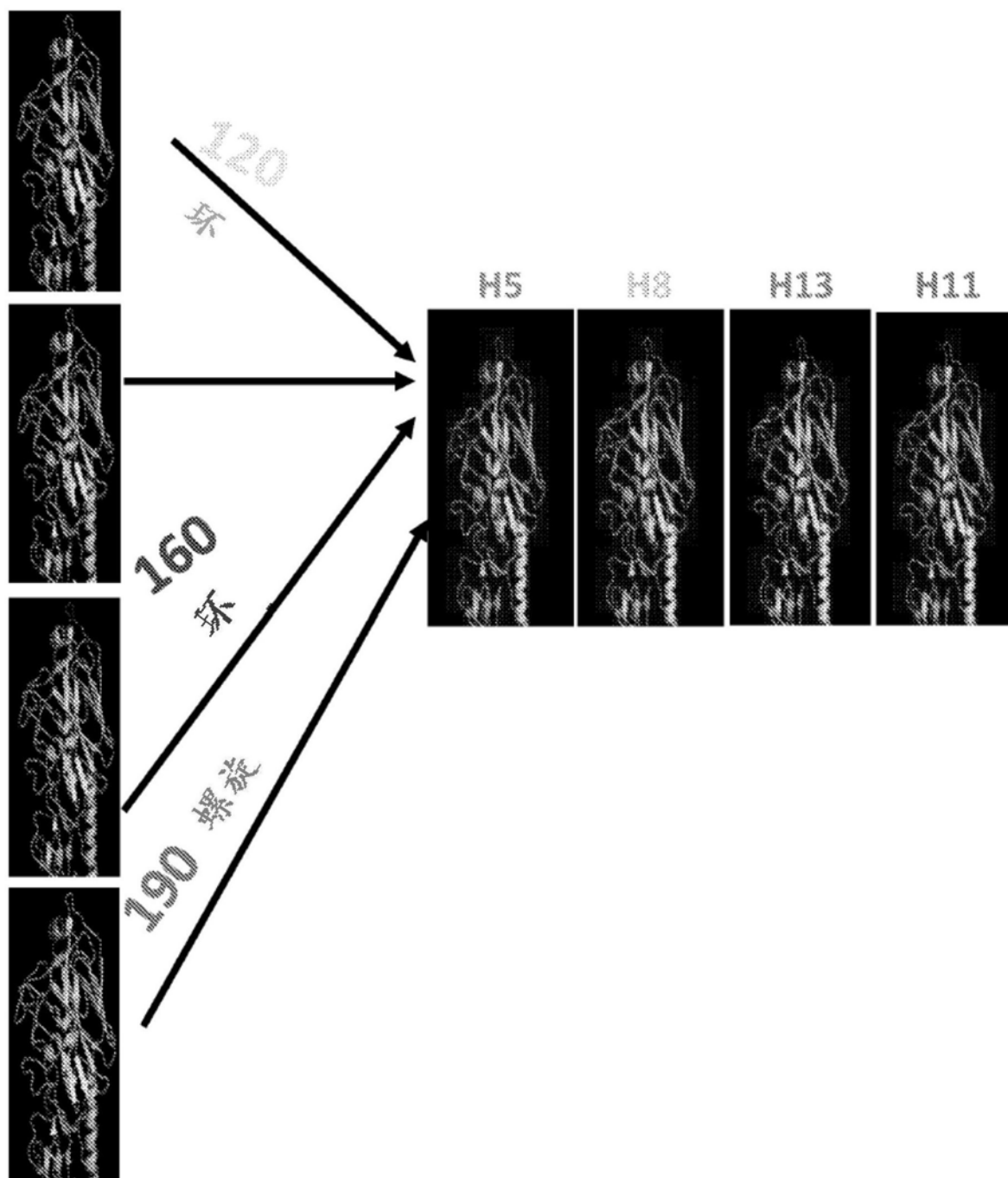


图28

3' AGCAGAAGCAGAGCATTTTCTAATATCCACAAAATGAAGGCAATAATTGTACT
ACTCATGGTAGTAACATCCAACGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCA
AACTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGAAGTTAATGTGACTGGTG
TGATACCACTGACAACAACACCAACAAAATCTCATTTTGCAAATCTCAAAGGAAC
AAAGACCAGAGGGAACTATGCCCAAACGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTG
GCCTTGGGCAGACCAATGTGTATGGGGTTCATACCTTCGGCAAAAGCTTCAATAC
TCCACGAAGTCAGACCTGTTACATCCGGGTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAAC
AAAAATCAGACAGCTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAA~~AAA~~ATC~~CAG~~TTATCA
ACC~~AAA~~ACGTTATCAACGCAGAA~~CAT~~GCACCAGGAGGACCCTACAGA~~CTT~~GGAA
CCTCA~~AAA~~ATCTTGCC~~ccataccaggggaaagtcctcc~~TTCTTCGCAACAATGGCTTG
GGCTGTCCCA~~aaaaagaacagtagacatac~~ACGAATCCACTAACAGTAGAAGTACCA
TACATTTGCACAAAAGGAGAAGACCAAATTACTGTTTGGGGGTTCATTCTGAT~~A~~
~~ATGATGCGGCAATGCAGACA~~CTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAAGTTTACCTC
ATCTGCCAATGGAGTAACCACACATTATGTTTCTCAGATTGGTGACTTCCCAAAT
CAAACAGAAGACGGAGGGCTACCACAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATTACATGG
TGCAAAAACCTGGGAAAACAGGAACAATTGTCTATCAAAGAGGTGTTTTGTTGCC
TCAAAGGTGTGGTGCGCAAGTGGCAGGAGCAAGGTAATAAAAGGGTCCTTGCCT
TTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCACGAAAAATACGGTGGATTAAACAAAAGCA
AGCCTTACTACACAGGAGAACATGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGT
GAAAACACCTTTGAAGCTTGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGCAAAACTA
TTAAAGGAAAGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTTAGAGGGAGGATGGG
AAGGAATGATTGCAGGTTGGCACGGATACACATCTCATGGAGCACATGGAGTGGC
AGTGGCAGCAGACCTTAAGAGCACGCAAGAAGCCATAAACAAGATAACAAAAAAT
CTCAATTCTTTGAGTGAGCTAGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGTGGTGCCA
TGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAGAAAGTGGATGATCTCAG
AGCTGACACAATAAGCTCGCAAATAGAGCTTGCAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGA
ATAATAAACAGTGAAGATGAGCATCTATTGGCACTTGAGAGAAAACCTAAAGAAAA
TGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGGAATGGATGCTTCGAAACCAAACACAA
GTGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAGAA
TTTTCTCTTCCCACTTTTGATTCACTGAATATTACTGCTGCATCTTTAAATGATG
ATGGATTGGATAATCATACTATACTGCTCTACTACTCAACTGCTGCTTCTAGTTT
GGCCGTAACATTGATGATAGCTATTTTTATTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAAT
GTTTCTTGCTCCATCTGTCTATAAGGAAAATTAAGCCCTGTATTTTCCTTTATTG
TAGTGCTTGTTTGCTTGTTACCATTACAAAGAAACGTTATTGAAAAATGCTCTTG
TTACTACT5' (SEQ ID NO: 43)

图29

MKAIIVLLMVVTSNADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVVTGVIPLTTTPTKSH
FANLKGTKTRGKLCPNCLNCTDLDVALGRPMCMGFIPSAKASILHEVRPVTSGCF
PIMHDRTKIRQLPNLLRGYEKIQLSTKNVINAEHAPGGPYRLGTSKSCpyqgkss
FFATMAWAVPkknstyTNPLTVEVPYICTKGEDQITVWGFHSDNDAAMQTLYGDS
NPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPNQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKPGKTGTIVY
QRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKSHPYYTGEHAKAI
GNCPIWVKTPKLKLANGTKYRPPAKLLKERGFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTS
HGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELD
EKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKMLGPSAVDIGNG
CFETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLND DGLDNHTILLYY
STAASSLAVTLMIAIFIVYMVSRDNVSCSICL (SEQ ID NO: 44)

图30

3' AGCAGAAGCAGAGCATTTTCTAATATCCACAAAATGAAGGCAATAATTGTACT
ACTCATGGTAGTAACATCCAACGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCA
AACTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGAAGTTAATGTGACTGGTG
TGATACCACTGACAACAACCAACAAAATCTCATTTTGCAAATCTCAAAGGAAC
AAAGACCAGAGGGAACTATGCCCAAATGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTG
GCCTTGGGCAGACCAATGTGTATGGGGCACATACCTTCGGCAAAAGCTTCAATAC
TCCACGAAGTCAGACCTGTTACATCCGGGTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAAC
AAAAATCAGACAGCTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAGGATCAGATTTATCA
ACCTACAACGTTATCAACGCAGAAACCGCACCAGGAGGACCCTACAGACTTGGAA
CCTCAAAATCTTGCaatgcttcaacaggaggccaatctTTCTTCGCAACAATGGC
TTGGGCTGTCCCAaaaaagaaagcagacacctatACGAATCCACTAACAGTAGAA
GTACCATAACATTTGCACAAAAGGAGAAGACCAAATTACTGTTTGGGGGTTCCATT
CTGATGCAGATGCAAAAATGCAAACACTCTATGGAGACTCAAATCCTCAAAAGTT
CACCTCATCTGCCAATGGAGTAACCACACATTATGTTTCTCAGATTGGTGACTTC
CCAAATCAAACAGAAGACGGAGGGCTACCACAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATT
ACATGGTGCAAAAACCTGGGAAAACAGGAACAATTGTCTATCAAAGAGGTGTTTT
GTTGCCTCAAAAGGTGTGGTGCGCAAGTGGCAGGAGCAAGGTAATAAAAGGGTCC
TTGCCTTTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCACGAAAAATACGGTGGATTAAACA
AAAGCAAGCCTTACTACACAGGAGAACATGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAAT
ATGGGTGAAAACACCTTTGAAGCTTGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGCA
AACTATTAAAGGAAAGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTTAGAGGGAG
GATGGGAAGGAATGATTGCAGGTTGGCACGGATACACATCTCATGGAGCACATGG
AGTGGCAGTGGCAGCAGACCTTAAGAGCACGCAAGAAGCCATAAACAAGATAACA
AAAAATCTCAATTCTTTGAGTGAGCTAGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGTG
GTGCCATGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAGAAAGTGGATGA
TCTCAGAGCTGACACAATAAGCTCGCAAATAGAGCTTGCAGTCTTGCTTTCCAAC
GAAGGAATAATAACAGTGAAGATGAGCATCTATTGGCACTTGAGAGAAAACATAA
AGAAAATGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGGAATGGATGCTTCGAAACCAA
ACACAAGTGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCA
GGAGAATTTTCTCTTCCCACTTTTGATTCACTGAATATTACTGCTGCATCTTTAA
ATGATGATGGATTGGATAATCATACTATACTGCTCTACTACTCAACTGCTGCTTC
TAGTTTGGCCGTAACATTGATGATAGCTATTTTTTATTGTTTATATGGTCTCCAGA
GACAATGTTTCTTGCTCCATCTGTCTATAAGGAAAATTAAGCCCTGTATTTTCCT
TTATTGTAGTGCTTGTTTGCTTGTTACCATTACAAAGAAACGTTATTGAAAAATG
CTCTTGTTACTACT5' (SEQ ID NO: 45)

图31

MKAIIVLLMVVTSNADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVVTGVIPLTTTPTKSH
FANLKGTKTRGKLCPNCLNCTDLDVALGRPMCMGHIPSAKASILHEVRPVTSGCF
PIMHDRTKIRQLPNLLRGYERIRLSTYNVINAETAPGGPYRLGTSKSCnastgggq
sFFATMAWAVPkkkadtyTNPLTVEVPYICTKGEDQITVWGFHSDADAKMQTLYG
DSNPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPNQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKPGKTGTI
VYQRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKSHPYYTGEHAK
AIGNCPIWVKTPCLKLANGTKYRPPAKLLKERGFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGY
TSHGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILE
LDEKVDDLADTISQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLKKMLGPSAVDIG
NGCFETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDNLNITAASLNDDGLDNHTILL
YYSTAASSLAVTLMIAIFIVYMVSRDNVSCSICL (SEQ ID NO: 46)

图32

3' agcagaagcagagcatttttctaatatccacaaaATGAAGGCAATAATTGTACT
ACTCATGGTAGTAACATCCAACGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCA
AACTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGAAGTTAATGTGACTGGTG
TGATACTGACAAACACCAACAAAATCTCATTTTGCAAATCTCAAAGGAAC
AAAGACCAGAGGGAACTATGCCCAAATGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTG
GCCTTGGGCAGACCAATGTGTATGGGGCTAATACCTTCGGCAAAGCTTCAATAC
TCCACGAAGTCAGACCTGTTACATCCGGGTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAAC
AAAAATCAGACAGCTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAGATCGAATTATCA
ACCCTCAAACGTTATCAACGCAGAAAGTGGCACCAGGAGGACCCTACAGACTTGGAA
CCTCAGAATCTTGCccttttcggaagctccaattctTTCTTCGCAACAATGGCTTG
GGCTGTCCCAcatcaatcaggaacatatACGAATCCACTAACAGTAGAAGTACCA
TACATTTGCACAAAAGGAGAAGACCAAATTACTGTTTGGGGGTTCCATTCTGATAC
CCACACTGAAAATGCACCAAATCTATGGAGACTCAAATCCTCAAAAGTTCACCTC
ATCTGCCAATGGAGTAACCACACATTATGTTTCTCAGATTGGTGACTTCCCAAAT
CAAACAGAAGACGAAGGGCTACCACAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATTACATGG
TGCAAAAACCTGGGAAAACAGGAACAATTGTCTATCAAAGAGGTGTTTTGTTGCC
TCAAAAGGTGTGGTGCGCAAGTGGCAGGAGCAAGGTAATAAAAGGGTCCTTGCCT
TTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCACGAAAAATACGGTGGATTAAACAAAAGCA
AGCCTTACTACACAGGAGAACATGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGT
GAAAACACCTTTGAAGCTTGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGCAAACTA
TTAAAGGAAAGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTTAGAGGGAGGATGGG
AAGGAATGATTGCAGGTTGGCACGGATACACATCTCATGGAGCACATGGAGTGGC
AGTGGCAGCAGACCTTAAGAGCACGCAAGAAGCCATAAACAAGATAACAAAAAAT
CTCAATTCTTTGAGTGAGCTAGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGTGGTGCCA
TGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAGAAAGTGGATGATCTCAG
AGCTGACACAATAAGCTCGCAAATAGAGCTTGCAAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGA
ATAATAAACAGTGAAGATGAGCATCTATTGGCACTTGAGAGAAAACCTAAAGAAAA
TGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGGAATGGATGCTTCGAAACCAAACACAA
GTGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAGAA
TTTTCTCTTCCCCTTTTGATTCACTGAATATTACTGCTGCATCTTTAAATGATG
ATGGATTGGATAATCATACTATACTGCTCTACTACTCAACTGCTGCTTCTAGTTT
GGCCGTAACATTGATGATAGCTATTTTTATTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAAT
GTTTCTTGCTCCATCTGTCTATAAGGAAAATTAAGCCCTGTATTTTCTTTATTG
TAGTGCTTGTGCTTGTACCATTACAAAGAAACGTTATTGAAAAATGCTCTTG
TTTACTACTAggaaaattaagccctgtattttcctttattgtagtgcttgtttgc
ttgttaccattacaaagaacgttattgaaaaatgctcttggttactact5'
(SEQ ID NO: 47)

图33

MKAIIVLLMVVTSNADRICTGITSSNSPHVVKTATQGEVNVVTGVIPLTTTPTKSH
FANLKGTKTRGKLCPNCLNCTDLDVALGRPMCMGLIPSAKASILHEVRPVTSGCF
PIMHDRTKIRQLPNLLRGYEKIELSTSNVINAEVAPGGPYRLGTSESCpfgssns
FEATMAWAVPhqsgtyTNPLTVEVPYICTKGEDQITVWGFHSDTTLKMHQLYGDS
NPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPNQTEDEGLPQSGRIVVDYMVQKPGKTGTIVY
QRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKSHPYYTGEHAKAI
GNCPIWVKTPCLKLANGTKYRPPAKLLKERGFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTS
HGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELD
EKVDDL RADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVDIGNG
CFETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSL NITAASLND DGLDNHTILLYY
STAASSLAVTLMIAIFIVYMVSRDNVSCSICL (SEQ ID NO: 48)

图34

3' agcagaagcagagcatttttctaatatccacaaaATGAAGGCAATAATTGTACT
ACTCATGGTAGTAACATCCAACGCAGATCGAATCTGCACTGGGATAACATCTTCA
AACTCACCTCATGTGGTCAAAACAGCTACTCAAGGGGAAGTTAATGTGACTGGTG
TGATAACCACTGACAACAACACCAACAAAATCTCATTTTGCAAATCTCAAAGGAAC
AAAGACCAGAGGGAACTATGCCCAAACCTGTCTCAACTGCACAGATCTGGATGTG
GCCTTGGGCAGACCAATGTGTATGGGGAACATACCTTCGGCAAAAGCTTCAATAC
TCCACGAAGTCAGACCTGTTACATCCGGGTGCTTTCCTATAATGCACGACAGAAC
AAAAATCAGACAGCTACCCAATCTTCTCAGAGGATATGAAAGAATCGAGTTATCA
ACCCATAACGTTATCAACGCAGAAGTGGCACCAGGAGGACCCTACAGACTTGGAA
CCTCAAAATCTTGCccagataaaggagccagcagcTTCTTCGCAACAATGGCTTG
GGCTGTCCCAaagagagggaaatcagtataACGAATCCACTAACAGTAGAAGTACCA
TACATTTGCACAAAAGGAGAAGACCAAATTACTGTTTGGGGGTTCCATTCTGATG
TTTCCACAAACATGGCGAAACTCTATGGGAGACTCAAATCCTCAAAAGTTCACCTC
ATCTGCCAATGGAGTAACCACACATTATGTTTCTCAGATTGGTGACTTCCCAAAT
CAAACAGAAGACGGAGGGCTACCACAAAGCGGCAGAATTGTTGTTGATTACATGG
TGCAAAAACCTGGGAAAACAGGAACAATTGTCTATCAAAGAGGTGTTTTGTTGCC
TCAAAAGGTGTGGTGCGCAAGTGGCAGGAGCAAGGTAATAAAAGGGTCCTTGCCCT
TTAATTGGTGAAGCAGATTGCCTTCACGAAAAATACGGTGGATTAAACAAAAGCA
AGCCTTACTACACAGGAGAACATGCAAAAGCCATAGGAAATTGCCCAATATGGGT
GAAAACACCTTTGAAGCTTGCCAATGGAACCAAATATAGACCTCCTGCAAACTA
TTAAAGGAAAGGGGTTTCTTCGGAGCTATTGCTGGTTTCTTAGAGGGAGGATGGG
AAGGAATGATTGCAGGTGGGCACGGATACACATCTCATGGAGCACATGGAGTGGC
AGTGGCAGCAGACCTTAAGAGCACGCAAGAAGCCATAAACAAGATAACAAAAAAT
CTCAATTCTTTGAGTGAGCTAGAAGTAAAGAATCTTCAAAGACTAAGTGGTGCCA
TGGATGAACTCCACAACGAAATACTCGAGCTGGATGAGAAAGTGGATGATCTCAG
AGCTGACACAATAAGCTCGCAAATAGAGCTTGCAAGTCTTGCTTTCCAACGAAGGA
ATAATAAACAGTGAAGATGAGCATCTATTGGCACTTGAGAGAAAACCTAAAGAAAA
TGCTGGGTCCCTCTGCTGTAGACATAGGGAATGGATGCTTCGAAACCAAACACAA
GTGCAACCAGACCTGCTTAGACAGGATAGCTGCTGGCACCTTTAATGCAGGAGAA
TTTTCTCTTCCCCTTTTGATTCACTGAATATTACTGCTGCATCTTTAAATGATG
ATGGATTGGATAATCATACTATACTGCTCTACTACTCAACTGCTGCTTCTAGTTT
GGCCGTAACATTGATGATAGCTATTTTTATTGTTTATATGGTCTCCAGAGACAAT
GTTTCTTGCTCCATCTGTCTATAAGgaaaattaagccctgtattttcctttattg
tagtgcttgcttgcttgcttgcttaccattacaaagaaacggttattgaaaaatgctcttg
tt5' (SEQ ID NO: 49)

图35

MKAIIVLLMVVTSNADRICTGITSSNSPHVVKATATQGEVNVTVGVIPLTPTTKSH
 FANLKGTKTRGKLCPNCLNCTDLDVALGRPMCMGNIPSAKASILHEVRPVTSGCF
 PIMHDRTKIRQLPNLLRGYERIELSTHNVINAEVAPGGPYRLGTSKSCpdkgass
 FFATMAWAVPkrqngyTNPLTVEVPYICTKGEDQITVWGFHSDVSTNMAKLYGDS
 NPQKFTSSANGVTTHYVSQIGDFPNQTEDGGLPQSGRIVVDYMVQKPGKTGTIVY
 QRGVLLPQKVWCASGRSKVIKGSPLIGEADCLHEKYGGLNKSHPYYTGEHAKAI
 GNCPIWVKTPCLKLANGTKYRPPAKLLKERGFFGAIAGFLEGGWEGMIAGWHGYTS
 HGAHGVAVAADLKSTQEAINKITKNLNSLSELEVKNLQRLSGAMDELHNEILELD
 EKVDDLRADTISSQIELAVLLSNEGIINSEDEHLLALERKLLKMLGPSAVDIGNG
 CFETKHKCNQTCLDRIAAGTFNAGEFSLPTFDSLNTAASLNDGDLNHTILLYY
 STAASSLAVTLMIAIFIVYMVSRDNVSCSICL (SEQ ID NO: 50)

图36

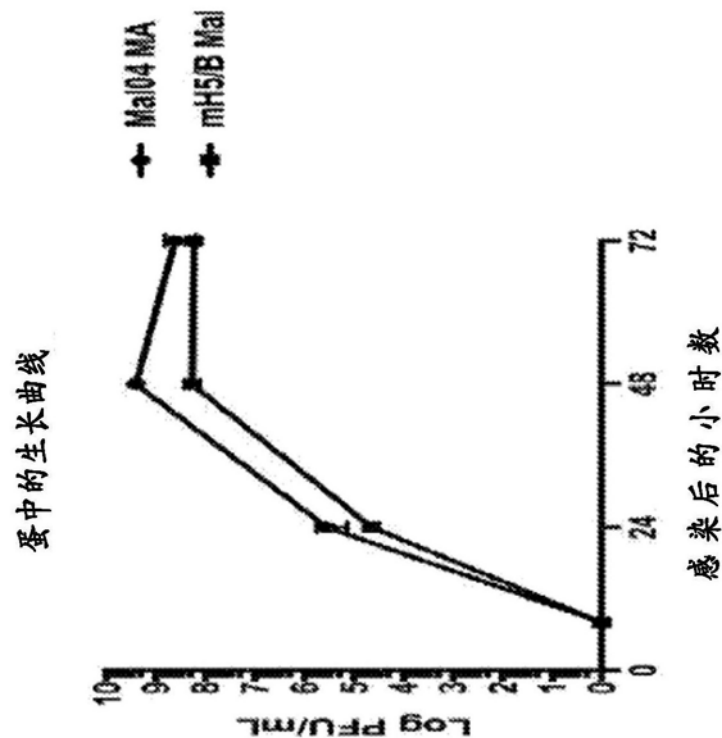


图37A

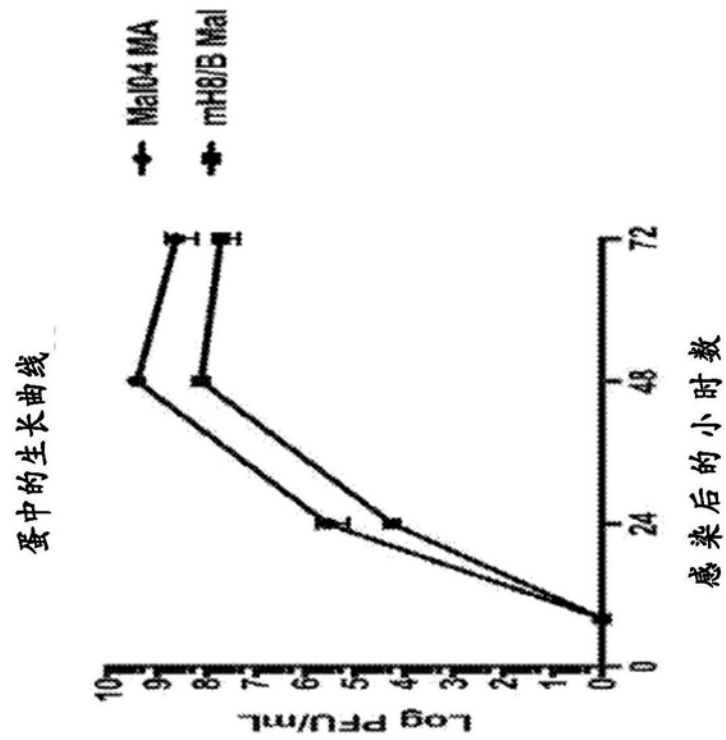


图37B

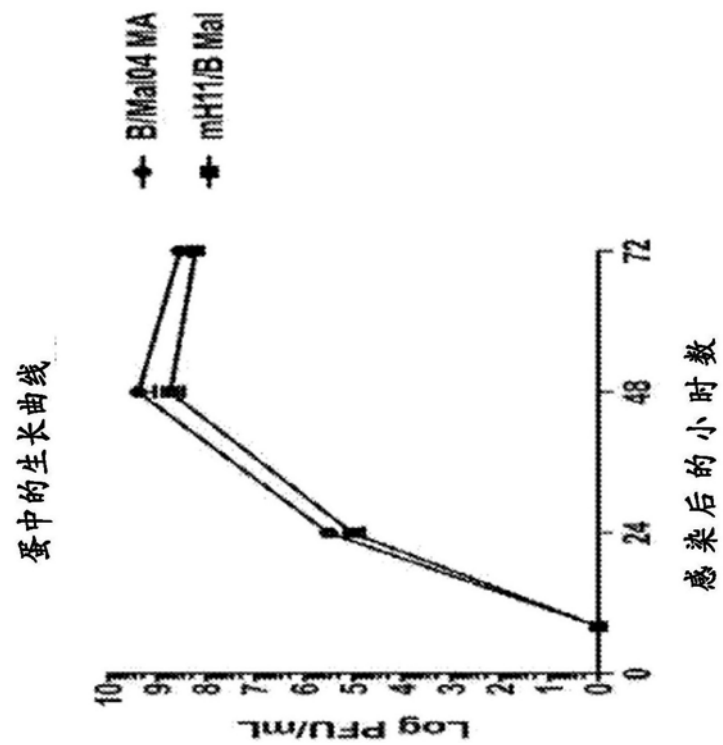


图37C

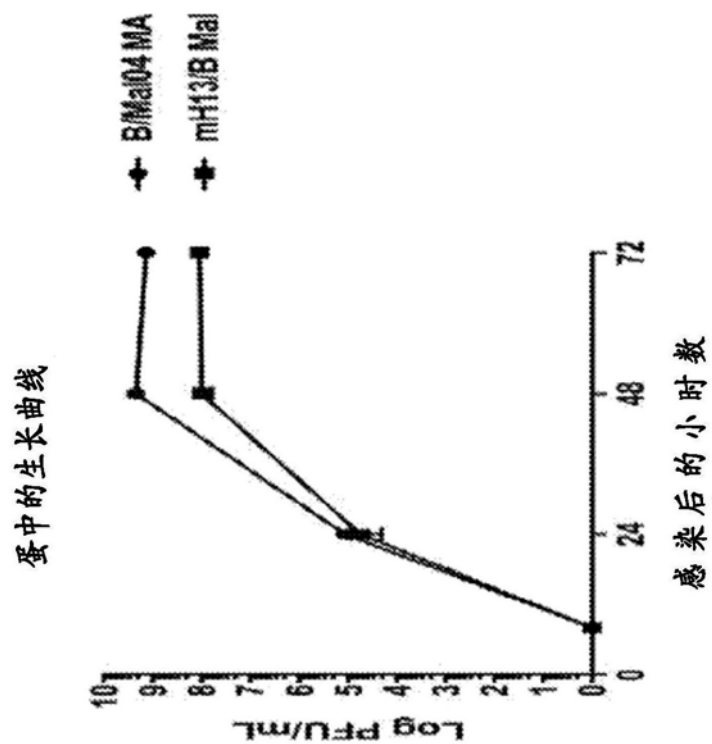


图37D

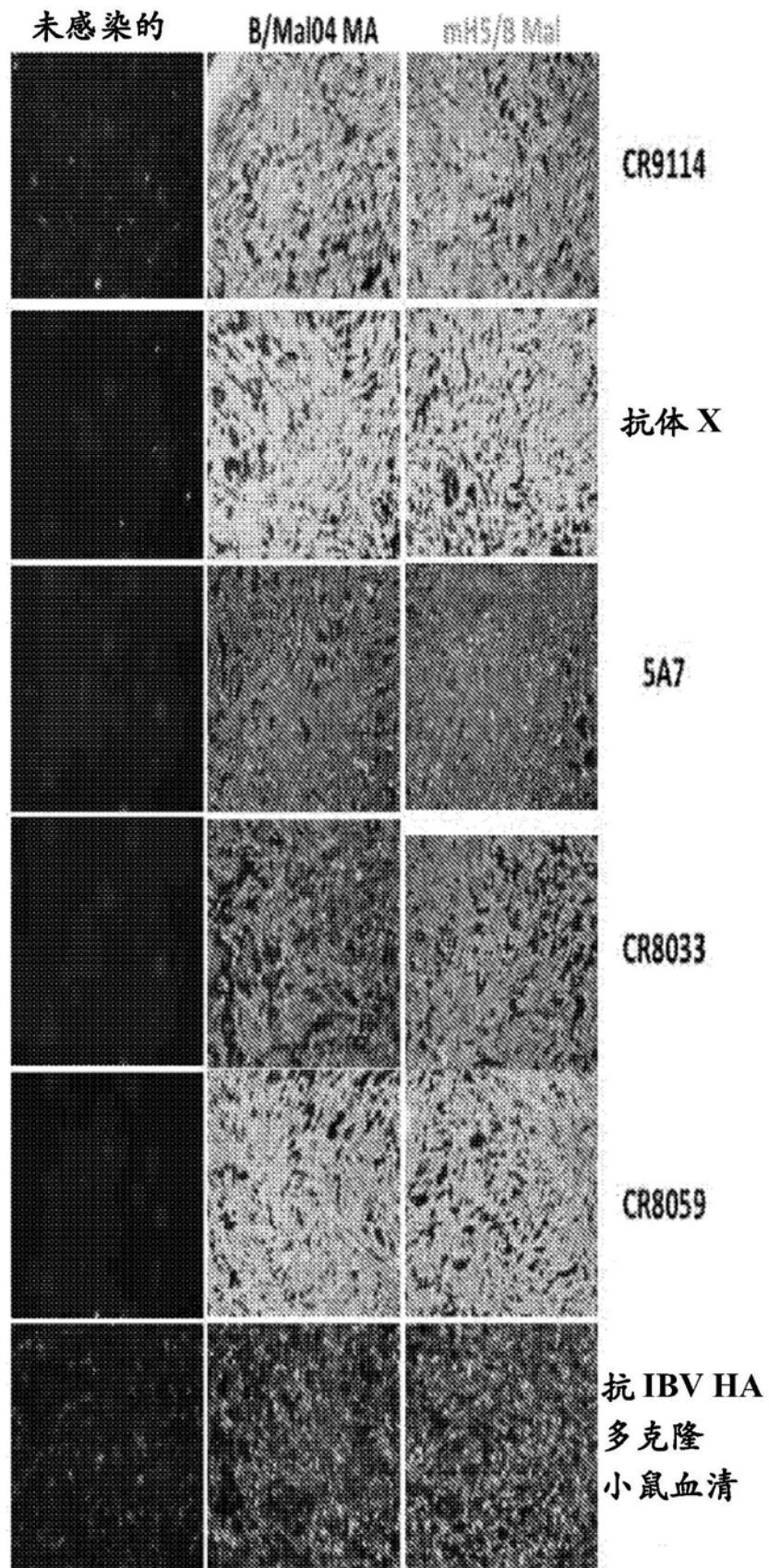


图38A

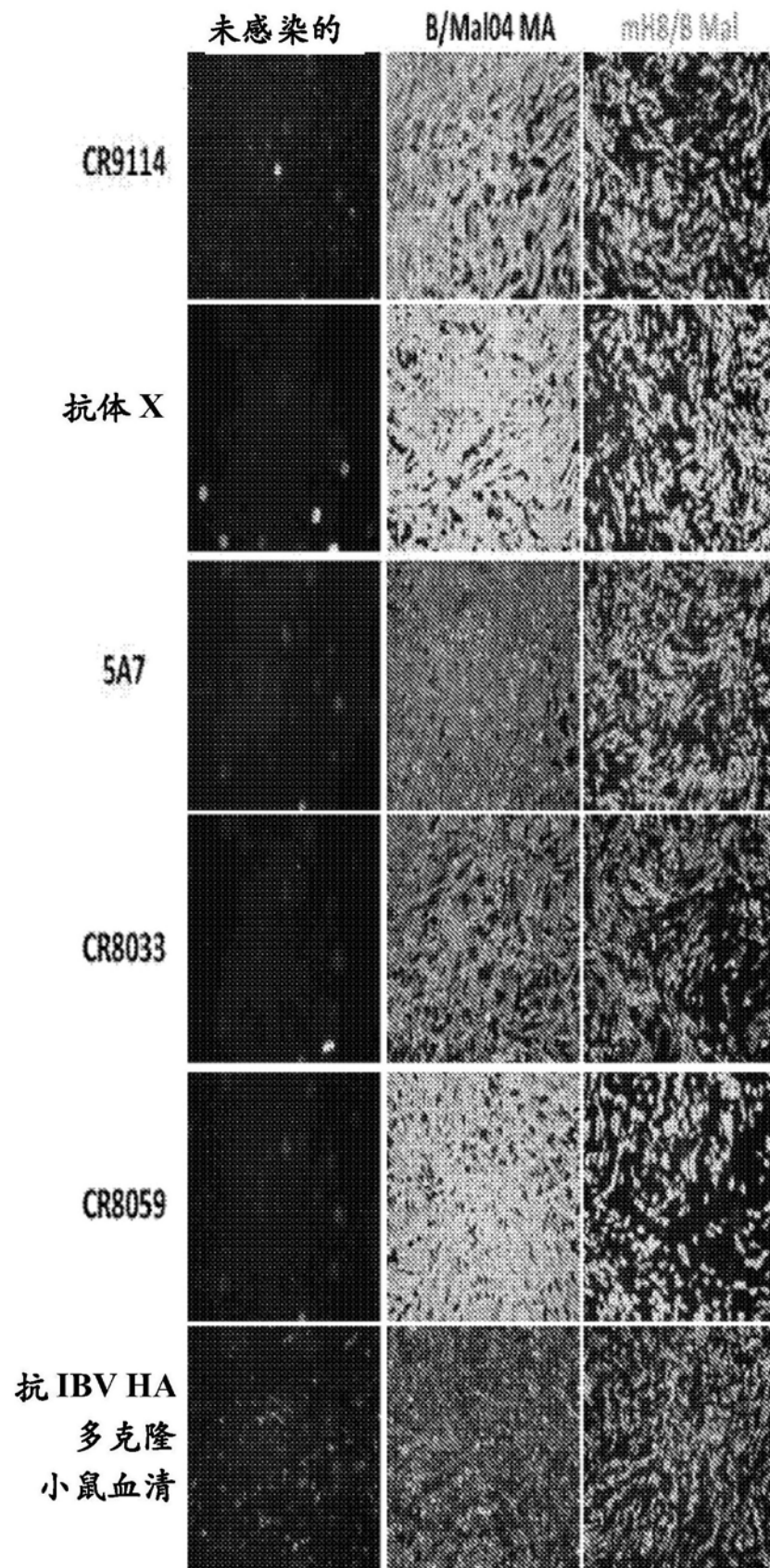


图38B

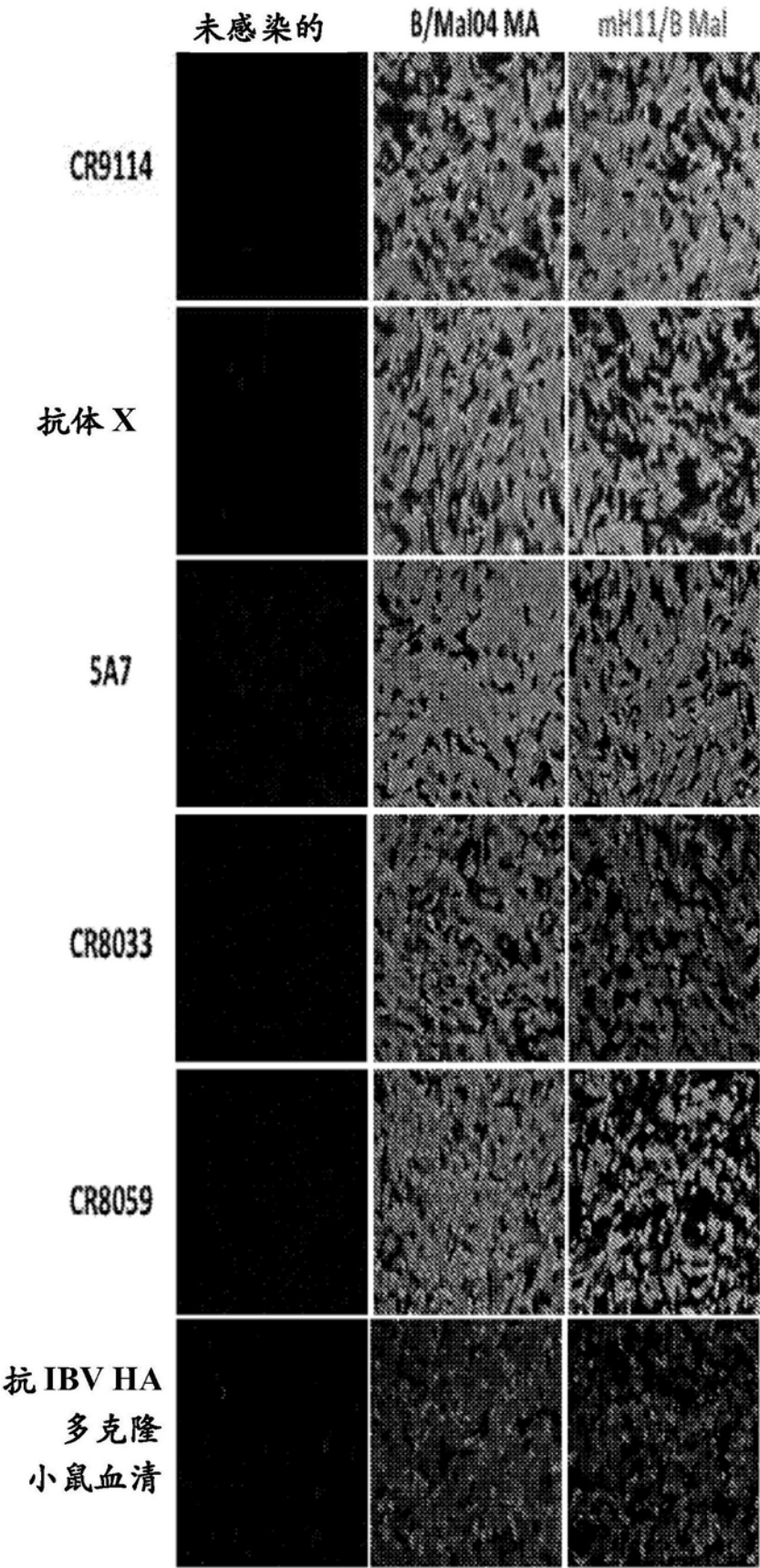


图38C

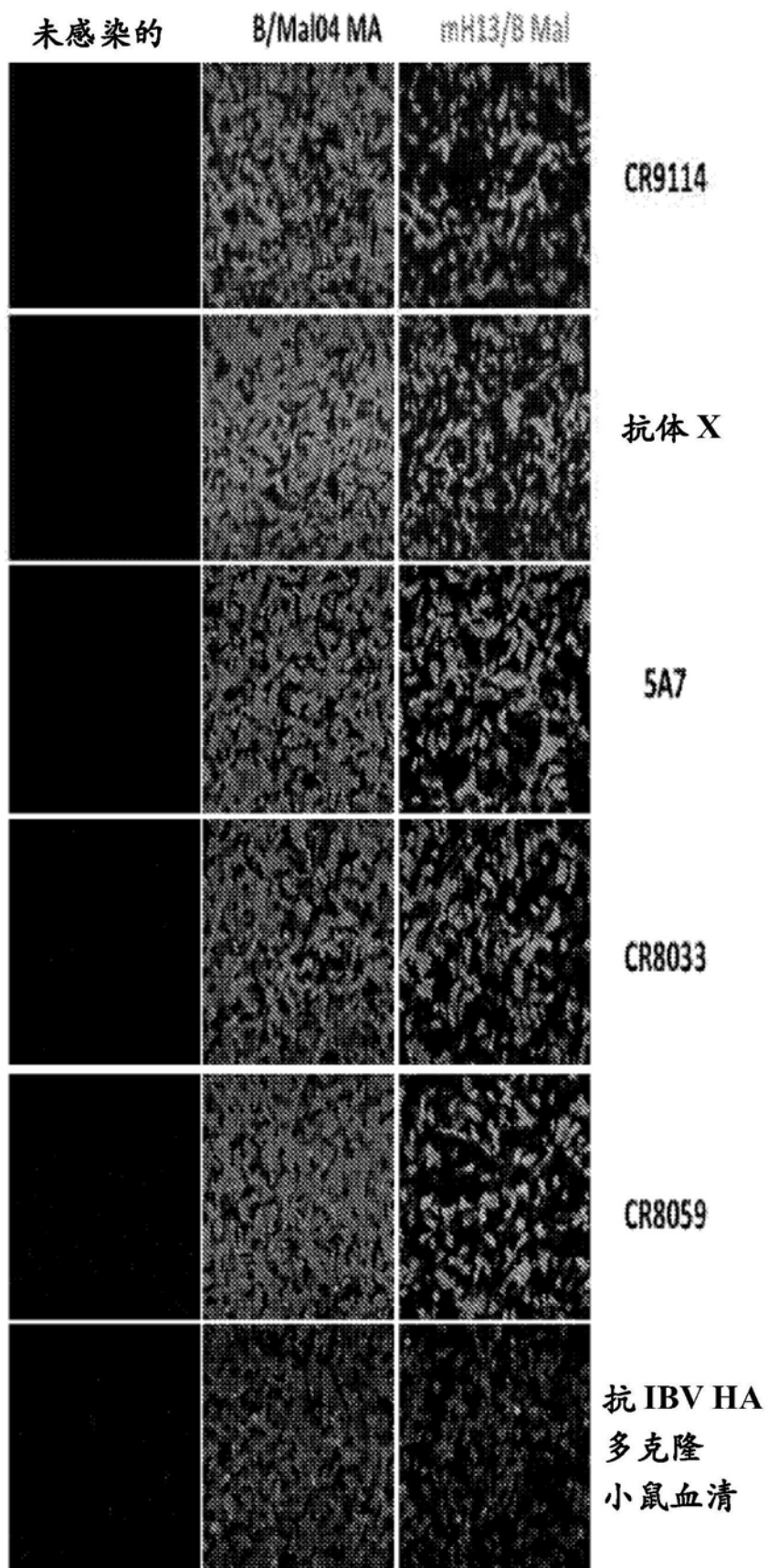


图38D

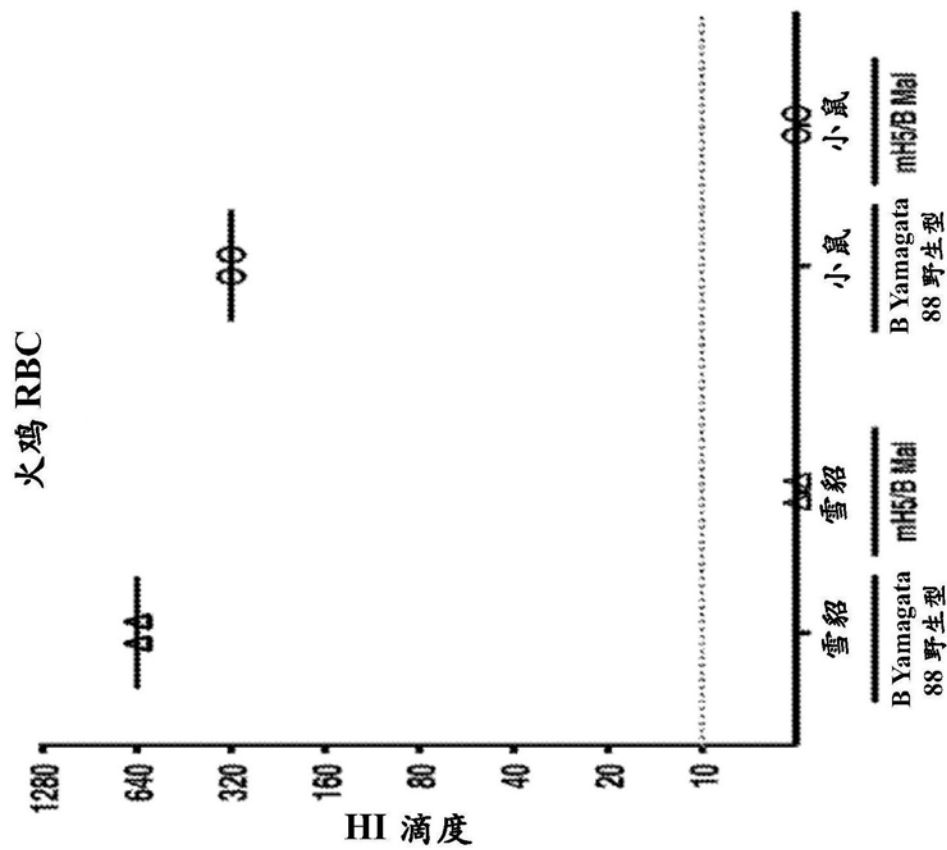


图39A

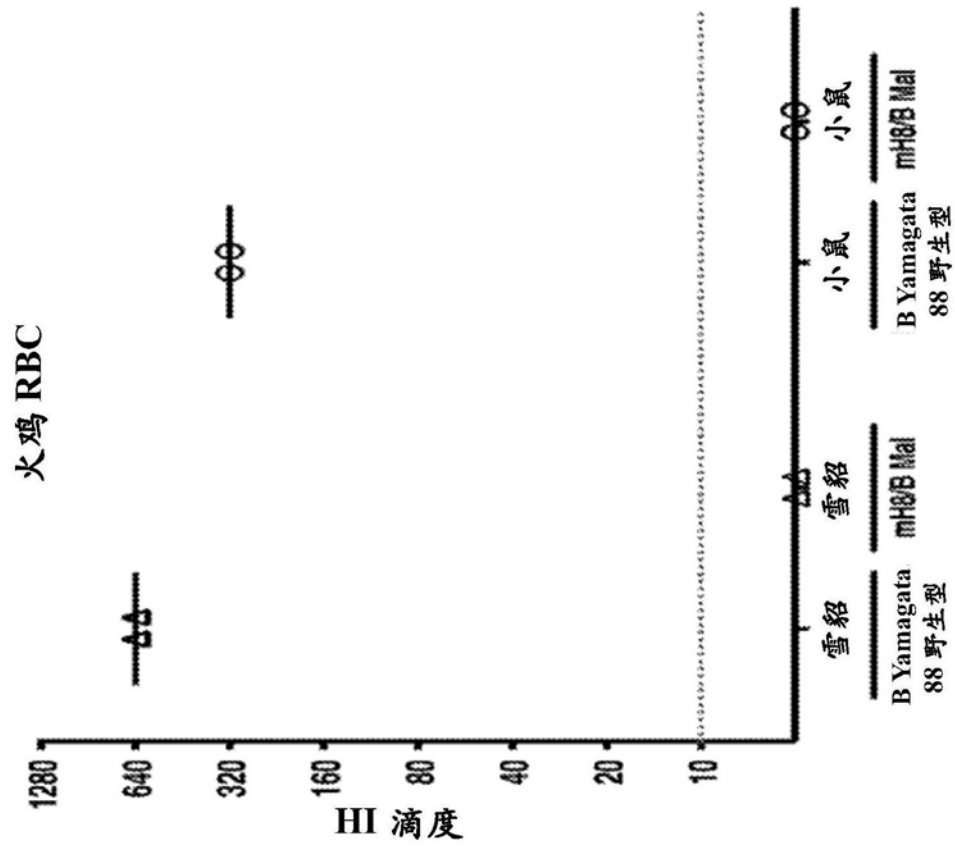


图39B

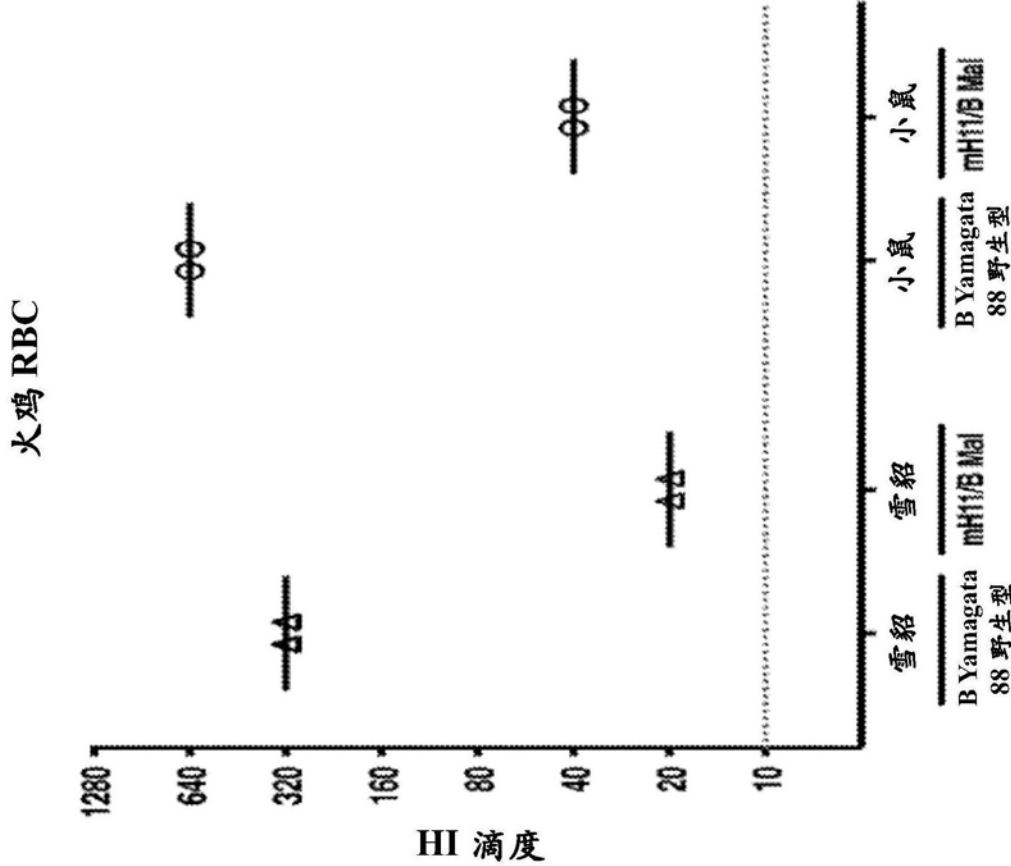


图39C

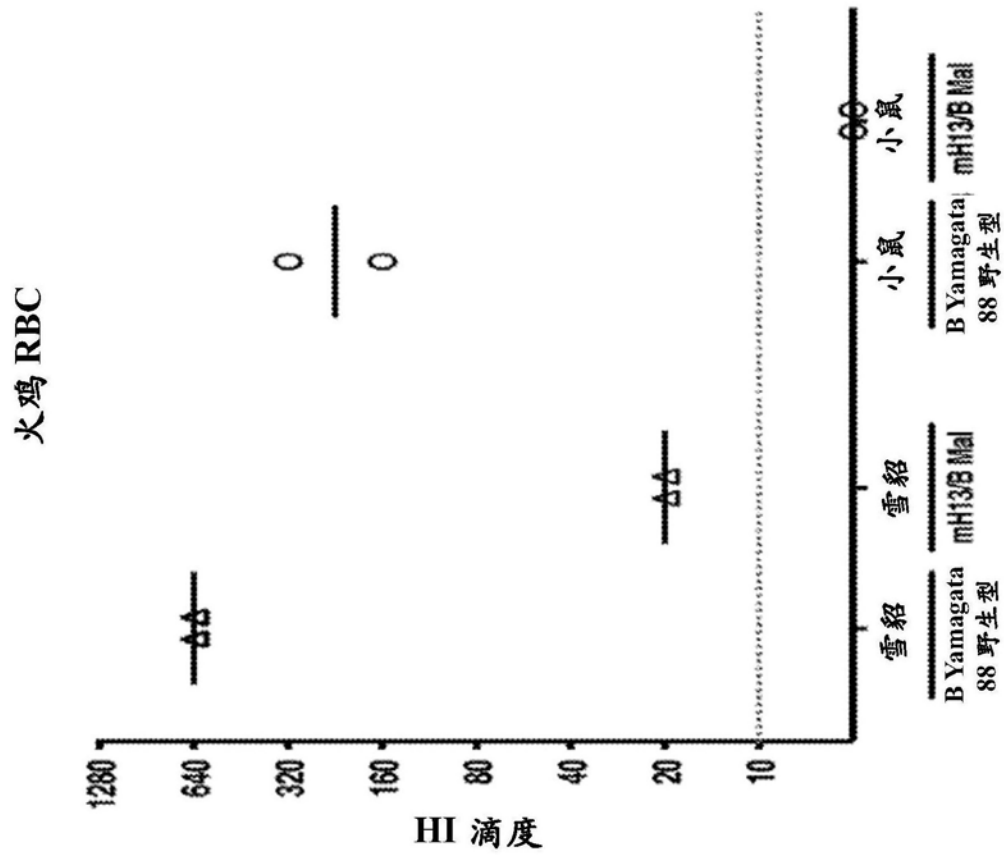


图39D

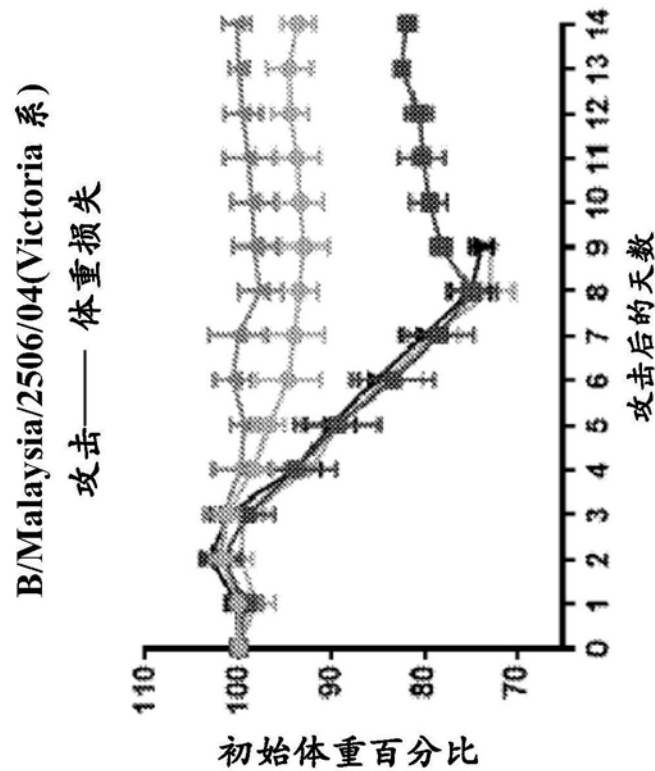


图40A

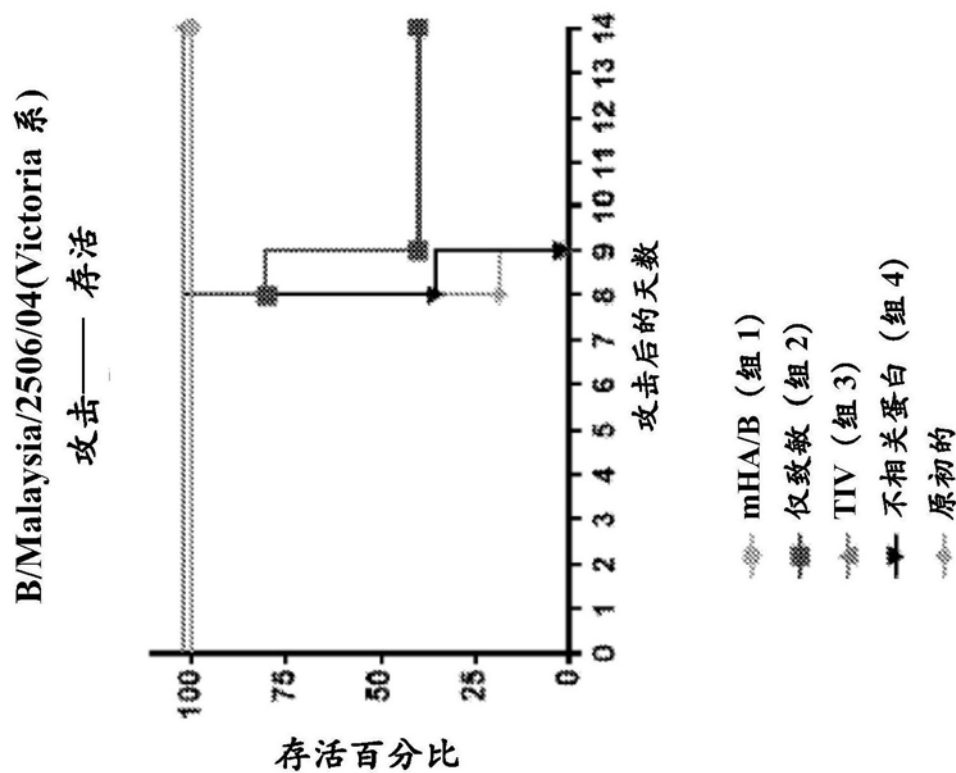


图40B

AGCAAAAGCAGGGGAAAATTTCAACAAACTGATACAAGAGAAATGGACATCCCAG
TAGTCGCATTCTTGATATTAACCAGTACATGCGTACAGGCTGATAGGATATGTGT
TGGGTACTTAAGCACCAACTCATCAGAAAAGGTTGACACACTGTTAGAAAACGAT
GTTCCGGTTACAAGCTCTGTTGATCTGGTTGAGACTAACCACACAGGAACATATT
GTTCTTTGGGTGGAATCAGTCCGGTGCACCTGGGAGACTGTAGCTTCGAGGGCTG
GATTGTAGGGAACCTTGCCTGTGCCAGCAACCTGGGGATCAGAGAATGGTCATAC
TTGATTGAAGATCCTTCTGCTCCTCATGGATTGTGCTACCCAGGGGAGTTAGACA
ACAATGGAGAATTGAGGCACTTGTTTCAGTGGAATCAGATCTTTCAGTAGAACAGA
GTTGATTGCACCTACTTCTTGGGGGGCAGTGAATGATGGAGTATCGTCGGCCTGT
CCAGATAAAGGAGCCAGCAGCTTTTACCGGAACTTGGTATGGTTTGTGAAGAGAG
GAAATCAGTATCCTGTAATCCGCGGGACCTACAACAACACTACTGGCAGAGATGT
TTTGGTTATATGGGGTATACATCACCTGTTTCCACAGACGAAGCGAAACAATA
TATGTCAATAACAACCCATACACGTTGGTATCTACCAGTTCATGGAGTAGGAAAT
ACAACCTTAGAGACTGGAACCCGGCCTGGATACAATGGCCAAAAGAGTTGGATGAA
GATTTACTGGTATTTGATGCACCCAGGGGAGTCAATCAGTTTCGAAAGCAATGGA
GGATTATTGGCACCCAGATATGGTTATATTATTGAGGAATATGGAAAAGGGCGAA
TTTTCCAAAGCCGCATTCGAATTGCTAAATGCAATACTAAGTGCCAAACATCTGT
CGGTGGGATAAATACCAACAAAACATTTCAAACATAGAGAGAAATGCACTTGGG
GATTGCCCCGAAATACATAAAATCTGGACAGCTCAAGTTAGCCACCGGACTTAGGA
ATGTACCTGCCATATCAAACAGAGGGTTGTTCCGGGGCTATTGCAGGCTTCATAGA
AGGTGGTTGGCCAGGATTAATAAATGGTTGGTATGGATTCCAACATCAGAACGAA
CAAGGAGTGGGCATGGCTGCAGACAAAGAGTCAACACAAAAGGCTATTGATCAAA
TAACAACCAAGATAAACAATATCATTGAAAAAATGAATGGGAATTATGACTCCAT
ACGAGGTGAATTCAATCAGGTGGAACAAAGAATAAATATGCTTGCAGACAGAATA
GATGATGCTGTAATGATGTATGGTCATACAATGCAAAGCTTCTTGTGTTACTAG
AGAACGATAAACTCTAGACATGCATGATGCTAATGTTAGAAACCTGCATGATCA
AGTCCGTAGAGCACTAAAGACCAATGCAATTGATGAGGGAAATGGATGTTTCGAA
CTCCTCCATAAATGCAATGACTCTTGCATGGAGACAATAAGAAATGGAACGTACA
ATCATACAGAATATGAGGAAGAATCCAAATTAAAGAGACAGGAAATAGAAGGAAT
AAAGCTGAAGTCAGACGATAGTGTTTATAAAGCACTATCGATTTACAGCTGCATT
GCAAGCAGTATTGTATTGGTAGGACTCATACTTACATTCATCATGTGGGCATGCA
GCAGTGGCAATTGCCGGTTCAATATTTGTATATAAGTAGAAAAAACACCCTTGTT
CTACT (SEQ ID NO: 71)

图41A

MDIPVVAFLILTSTCVQADRICVGYLSTNSSEKVDTLLENDVPVTSSVDLVETNH
TGTYCSLGGISPVHLGDCSFEGWIVGNPACASNLGIREWSYLIEDPSAPHGLCYP
GELDNNGELRHLFSGIRSFSTRTELIAPTSWGAVNDGVSSACPDKGASSFYRNLVW
FVKRGNQYPVIRGTYNNTTGRDVLVIWGIHHPVSTDEAKQLYVNNNPYTLVSTSS
WSRKYNLETGTRPGYNGQKSWMKIYWYLMHPGESISFESNGGLLAPRYGYIIIEEY
GKGRI FQSRIRIAKCNTKCQTSVGGINTNKTFQNIERNALGDCPKYIKSGQLKLA
TGLRNVPAISNRGLFGAIA GFIEGGWPGLINGWYGFQHQNEQGVGMAADKESTQK
AIDQITTKINNIIEKMNGNYDSIRGEFNQVEQRINMLADRIDDVTDVWSYNAKL
LVLLENDKTLDMHDANVRNLHDQVRRALKTN AIDEGNGCFELLHKCNDSCMETIR
NGTYNHTEYEEESKLKRQEIEGIKLSDDSVYKALSIYSCIASSIVLVGLILTFI
MWACSSGNCRFNICI (SEQ ID NO: 72)

图41B