



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년08월28일

(11) 등록번호 10-1548436

(24) 등록일자 2015년08월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 15/44 (2006.01) A61K 39/145 (2006.01)

C12N 7/01 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-7010121(분할)

(22) 출원일자(국제) 2006년10월19일

심사청구일자 2013년04월19일

(85) 번역문제출일자 2013년04월19일

(65) 공개번호 10-2013-0048800

(43) 공개일자 2013년05월10일

(62) 원출원 특허 10-2008-7011965

원출원일자(국제) 2006년10월19일

심사청구일자 2011년10월19일

(86) 국제출원번호 PCT/US2006/041061

(87) 국제공개번호 WO 2007/047938

국제공개일자 2007년04월26일

(30) 우선권주장

11/409,416 2006년04월21일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

P. C. Crawford 등. Science. 310(5747), 페이지 482-485 (Published Online 2005.09.29.)*

WO2004057021 A2*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

코넬 리서치 화운데이션, 인크.

미국, 14850 뉴욕, 이타카, 스위트 105, 쏘우드 드라이브 20

더 거버먼트 오브 더 유나이티드 스테이츠 오브 아메리카, 애즈 레프리젠티드 바이 더 세크러터리, 디파트먼트 오브 헬스 앤드 휴먼 서비시즈, 센터스 포 디지즈 컨트롤 앤드 프리벤션

미국 조지아 30341 아틀란타 엠에스 케이-79 부포드 하이웨이 4770 테크놀로지 트랜스퍼 오피스

(뒷면에 계속)

(72) 발명자

크라우포드, 페티, 씨.

미국, 플로리다 32607, 게인스빌, 210 엔더블유 79번 드라이브

킵스, 폴, 제이.

미국, 플로리다 32605, 게인스빌, 3650 엔더블유 30번 플레이스

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

허용록

전체 청구항 수 : 총 12 항

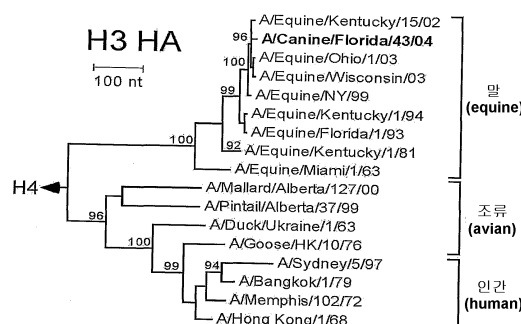
심사관 : 최준호

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

(57) 요약

당해 발명은 개과 동물들을 감염시키고 개과 동물에게서 호흡기 질병을 유발시킬 수 있는 분리된 인플루엔자 바이러스에 관한 것이다. 당해 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스에 대항하여 면역 반응을 유도하는 조성물들과 방법들에 관한 것이기도 하다. 당해 발명은 본 발명의 바이러스를 확인하고 본 발명의 바이러스로 동물의 감염을 진단하는 조성물들과 방법들에 관한 것이기도 하다.

대표도 - 도1a



(73) 특허권자

인터벳 인터내셔널 비.브이.

네덜란드 안 북스메어 5831 빔 데 쿠퍼페어슈트라
아트 35

**유니버시티 오브 플로리다 리서치 파운데이션, 인
크.**

미국 32611-5500 플로리다 가이네스빌 그린터 홀
223

(72) 발명자

두보비, 에드워드, 제이.

미국, 뉴욕 14850-1087, 이타카, 33 헬시즈 워크

도니스, 루벤, 오.

미국, 조지아 30307, 아틀란타, 429 이모리 드라이브
브 엔이

켓츠, 제클린

미국, 조지아 30307, 아틀란타, 447 하텐도르프 에
비뉴. 엔.이.

크리모브, 알렉산더, 아이.

미국, 조지아 30345, 아틀란타, 3197 엠블우드 씨
티

렉쉬멘안, 날라카누, 피.

미국, 텔라웨어 19966, 밀스보로, 피.오. 박스 318

럼, 멜리사, 엔

미국, 텔라웨어 19966, 밀스보로, 피.오. 박스 318

구벨츠, 다니엘, 기스레나, 에미엘

네덜란드, 5831 에이엔 박스미르, 워 데 코르벨스
트라트

멜렌캠프, 마크, 윌리엄

미국, 캔사스 66018, 데소토, 35500 웨스트 91번
스트리트

케스트레멘, 윌리엄, 엘.

미국, 플로리다 32608, 게인스빌, 4330 에스더블유
77번 스트리트

코스, 낸시, 제이.

미국, 조지아 30307, 아틀란타, 857 오크달 로드

(30) 우선권주장

60/728,449 2005년10월19일 미국(US)

60/754,881 2005년12월29일 미국(US)

60/759,162 2006년01월14일 미국(US)

60/761,451 2006년01월23일 미국(US)

60/779,080 2006년03월03일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

적어도 하나의 H3 인플루엔자 바이러스 항원, 및

적어도 하나의 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 개과 인플루엔자 백신에 있어서,

상기 적어도 하나의 H3 인플루엔자 바이러스 항원은 서열번호: 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76 또는 78 중 어느 하나의 아미노산 서열로 이루어진 폴리펩티드를 포함하는 것을 특징으로 하는 개과 인플루엔자 백신.

청구항 5

삭제

청구항 6

제 4 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 H3 인플루엔자 바이러스 항원은 canine/Jax/05로 명명된 개과 인플루엔자 바이러스 분리체로부터 유래된 것을 특징으로 하는 개과 인플루엔자 백신.

청구항 7

삭제

청구항 8

제 4 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 H3 인플루엔자 바이러스 항원은 canine/Jax/05로 명명된 개과 인플루엔자 바이러스 분리체인 것을 특징으로 하는 개과 인플루엔자 백신.

청구항 9

제 4 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 H3 인플루엔자 바이러스 항원은 서열번호: 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 또는 77 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열로 이루어진 폴리뉴클레오티드를 포함하는 것을 특징으로 하는 개과 인플루엔자 백신.

청구항 10

제 4 항에 있어서,

상기 적어도 하나의 H3 인플루엔자 바이러스 항원은 재조합 바이러스 벡터 또는 폴리뉴클레오티드 벡터에서 제공된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되는 것을 특징으로 하는 개과 인플루엔자 백신.

청구항 11

제 9 항 또는 제 10 항에 있어서,

상기 폴리뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 서열은 재조합 바이러스 벡터 또는 폴리뉴클레오티드 벡터에서 제공되는 것을 특징으로 하는 개과 인플루엔자 백신.

청구항 12

제 11 항에 있어서,

상기 재조합 바이러스 벡터는 아데노바이러스, 헤르페스바이러스, 우두바이러스, 카나리아두 바이러스(canarypox virus), 엔토모폭스(entomopox) 바이러스, 돈두 바이러스(swinepox virus), 또는 서 나일 바이러스(West Nile virus)로부터 유래된 것을 특징으로 하는 개과 인플루엔자 백신.

청구항 13

제 11 항에 있어서,

상기 재조합 바이러스 벡터는 카나리아두 바이러스 벡터인 것을 특징으로 하는 개과 인플루엔자 백신.

청구항 14

제 4 항에 있어서,

상기 폴리펩티드는 서열번호: 78의 아미노산서열, 또는 그의 성숙형을 포함하며, 이때 상기 성숙형은 아미노산서열 중의 위치 82에서 세린, 위치 221에서 류신, 위치 327에서 트레오닌, 및 위치 482에서 트레오닌을 포함하는 것을 특징으로 하는 개과 인플루엔자 백신.

청구항 15

제 11 항에 있어서,

상기 재조합 바이러스 벡터 또는 상기 폴리뉴클레오티드 벡터는 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하되, 상기 폴리펩티드는 서열번호: 78의 아미노산서열, 또는 그의 성숙형을 포함하며, 이때 상기 성숙형은 아미노산서열 중의 위치 82에서 세린, 위치 221에서 류신, 위치 327에서 트레오닌, 및 위치 482에서 트레오닌을 포함하는 것을 특징으로 하는 개과 인플루엔자 백신.

청구항 16

제 14 항에 있어서,

상기 성숙형은 아미노산서열 중의 위치 491에서 리신을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 개과 인플루엔자 백신.

청구항 17

제 15 항에 있어서

상기 성숙형은 아미노산서열 중의 위치 491에서 리신을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 개과 인플루엔자 백신.

명세서

기술분야

[0001]

본 출원은 2006년 4월 21일에 출원된 U.S. Serial No. 11/409,416의 일부 계속 출원이며; 본 출원은 2005년 10월 19일에 출원된 U.S. Serial No. 60/728,449; 2005년 12월 29일에 출원된 60/754,881; 2006년 1월 14일에 출원된 60/759,162; 2006년 1월 23일에 출원된 60/761,451; 및 2006년 3월 3일에 출원된 60/779,080에 우선권을 주장하며, 상기 각각의 개시는 임의의 간단한 요약, 본 발명의 상세한 설명, 예, 청구항, 요약, 도면, 표, 핵산서열, 아미노산 서열 및 그림을 포함하여 여기에 그대로 참고로 포함된다.

배경기술

[0002]

"개 기관지염(kennel cough)" 또는 전염성 기관기관지염(infectious tracheobronchitis: ITB)은 주로 기침에 의해 특징되는 개의 급성, 전염성 호흡기 감염이다(Ford *et al*, 1998). 개 기관지염은 전세계적으로 가장 널리 퍼진 개의 전염성 호흡기 질병들 중 하나로 여겨지고, 발병하면 개들이 사육장과 같은 고밀집 개체 환경에 수용

시에 풍토병 수준에 이를 수 있다. 대부분의 발병은 호흡기 분비물이 직접적인 1:1(dog-to-dog) 접촉에 의하거나 분무주입(aerosolization)에 기인한 것이다(Ford *et al.*, 1998). 임상 징후는 상기도 및 하기도의 상피에 박테리아 및 바이러스 병원체(viral agent)들 중 하나 또는 그 조합으로 감염에 의해 유발된다. 개 파라인플루엔자 바이러스(CPiV) 및 보르데텔라속 브론치셉티카(*Bordetella bronchiseptica*) 박테리아는 감염된 개들로부터 분리시킨 가장 흔한 유기체들이지만, 연쇄상구균, 파스튜렐라균 및 대장균과 같은 박테리아와 함께 개 홍역 바이러스(canine distemper virus: CDV), 개 아데노바이러스-1 및 -2(canine adenoviruses-1 and -2: CAV-1, CAV-2)와 같은 다수의 다른 바이러스들이 임상경과 및 결과에 영향을 미칠 수 있다(Ford *et al.*, 1998). 발병은 높은 이병률(morbidity)을 지닌 고밀도 개체군에서 매우 효과적으로 급속히 생기는 반면에, 호흡기 합병 감염 및 사망은 흔하지 않다. 생명을 위협하는 2차 세균성 폐렴으로 발전할 수 있지만, 대부분의 ITB 증세는 자기 제한적(self-limiting)이며 어떠한 치료 없이도 해결된다(Ford *et al.*, 1998).

[0003] 1992년 7월에, "개 기관지염"으로 추정된 호흡기 감염은 뉴 잉글랜드(New England), 플로리다(Florida), 웨스트 버지니아(West Virginia), 위스콘신(Wisconsin), 캔자스(Kansas), 콜로라도(Colorado), 오클라호마(Oklahoma) 및 아리조나(Arizona) 주의 몇몇 그레이하운드 경주장에서 유행하게 되었다. 수의사들에 따르면, 병에 걸린 개들 대부분은 경미한 기침을 앓아서 해결되었지만, 수십 마리 이상의 그레이하운드들은 급성 출혈성 폐렴으로 발전하여 급사하게 되었다(Greyhound Daily News, 1999).

[0004] 1998년 말에서 1999년 초에, 전국에 걸친 그레이하운드 경주 사육장에서 발생한 "개 기관지염"의 몇몇 발병 사례들로 인해 미국에서 수주 동안 경주장의 강제 폐쇄(mandatory closure) 및 모든 경주용 그레이하운드들의 격리 조치로 이어졌다(Greyhound Daily News, 1999). 플로리다 주의 한 경주장(Palm Beach Kennel Club)에서, 단 하루에만 개 개체군의 거의 40 %가 기침을 한 것으로 기록되었다(Personal communication from Dr. William Duggar). 1992년의 발병과 유사하게, 기침은 대부분의 그레이하운드들에게서는 해결되었지만, 플로리다에서 10 마리의 개들이 "개 기관지염"의 특징이 없는 출혈성 폐렴 증후군(hemorrhagic pneumonia syndrome)으로 죽었다(Putnam, 1999).

[0005] 2003년 3월-4월에, 또 다른 "개 기관지염" 발병 사례가 미국 동부의 그레이하운드 경주장들에서 발생하였다. 상기 발병은 플로리다 주 소재 4개 경주장의 사육장에서 기원했다고 믿어지며 거의 3 주 동안 경주가 중단되었고 개들을 격리하게 되었다. 웨스트 팜 비치(West Palm Beach)의 경주장에 있는 개들의 거의 25 %는 병을 앓게 되었고, 세인트 피터스버그(St. Petersburg)의 더비 레인(Derby Lane)에서 1400 마리의 개들 중 거의 50 %가 기침으로 발전하였다. 다시 대부분의 개들이 회복되었지만, 몇몇 개들은 호흡기 감염으로 죽었다. 더비 레인 경주장 한 군데에서만 호흡기 발병으로 추산되는 경제적 손실은 2백만 달러였다.

[0006] 1992년, 1998년-1999년 또는 2003년에 경주용 그레이하운드 사육장들에서 "개 기관지염" 병원 또는 임상병리학을 기록한 출판된 보고서들은 없다. 상기 감염은 개 기관지염의 가장 흔한 2 가지 원인인 개 파라인플루엔자 바이러스(CPiV) 및 보르데텔라속 브론치셉티카(*B. bronchiseptica*)에 기인한 것이었다고 추측하고 있다. 웹 사이트들과 같은 입증되지 않은 통신 매체들은 몇몇 기침하는 개들에서 보고된 치명적인 출혈성 폐렴 사례들을 베타-용혈성 말연쇄상구균 아형 주에피데미커스(β -hemolytic *Streptococcus equi* subspecies zooepidemicus)에 의한 감염으로 원인을 돌리고 있으며, 그러한 증후군을 가리켜 "개 연쇄상구균 독성 충격(canine streptococcal toxic shock)"이라고 칭한다.

[0007] 한 숙주로부터 다른 숙주로의 바이러스 전염은 인플루엔자 바이러스의 생태와 역학의 중요한 특징이다(Webster, 1998). 인플루엔자 바이러스의 종간 전염(interspecies transmission)의 2 가지 기본적인 메커니즘이 가능하다(Webster *et al.*, 1992; Lipatov *et al.*, 2004). 한 가지는 근본적으로 변하지않은 바이러스가 한 종(species)으로부터 다른 종으로 직접 전염되는 것이다. 이러한 메커니즘의 예들은 조류 인플루엔자 바이러스의 H5N1 아형(subtype)에 의한 최근의 인간 감염 사례들(Subbarao *et al.*, 1998; Peiris *et al.*, 2004; Guan *et al.*, 2004) 및 아마도 스페인 독감으로 알려진 1918년의 전세계적인 유행병을 포함한다. 제 2 메커니즘은 인플루엔자 게놈의 세그먼트된 특성의 결과이다. 다른 종들로부터 온 바이러스들로 숙주를 동시에 감염시키면(co-infection) 세그먼트된 바이러스 유전자의 재조합(reassortment) 및 다른 종들을 감염시키는 능력을 지닌 재조합체(recombinant)를 발생시킬 가능성이 있다. 예를 들어, 조류 및 인간 인플루엔자 바이러스들 사이의 유전자 재조합에 의해 발생된 신규한 바이러스들은 1957년과 1968년에 전세계적인 인간 인플루엔자 유행병을 일으켰다(Webster *et al.*, 1992; Lipatov *et al.*, 2004; Kawaoka *et al.*, 1989).

[0008] 변하지 않은 바이러스들이 자연적인 숙주 종으로부터 다른 종들로의 직접적인 전염의 대부분은 새로운 종의 개체들 사이에 지속적인(sustained) 전염이 일어나지 않기 때문에 최종 단계(terminal event)이다. 다양한 바이러

스-숙주 상호작용들은 복제 및 수평 전염(horizontal transmission)에 필요하며, 새로운 숙주에서의 인플루엔자 바이러스들의 영속화(perpetuation)에 가공할만한 장애를 제공한다(Webby *et al.*, 1992; Lipatov *et al.*, 2004). 따라서, 인플루엔자 바이러스의 새로운 숙주-특이적 혈통을 정착시키기가 흔한 경우가 아니며 단지 가끔, 양돈, 말 및 인간에게서만 발생하여 왔다(Webster *et al.*, 1992; Lipatov *et al.*, 2004).

[0009] 인플루엔자 바이러스 감염의 심각한 특성 때문에, 인플루엔자 바이러스에 의한 감염의 진단, 예방 및 치료의 방법에 대한 요구가 존재한다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명은 개과 동물을 감염시키고 개과 동물의 호흡기 질병을 발생시킬 수 있는 분리된(isolated) 인플루엔자 바이러스에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스에 대한 면역 반응을 유도하는 조성물들과 방법들에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 발명의 바이러스를 확인하고 발명의 바이러스로 동물 감염을 진단하는 조성물들과 방법들에 관한 것이다.

[0011] 본 발명의 일 태양은 개 인플루엔자로부터 개들을 보호하는 백신들과 방법들, 그러한 백신들을 포함하는 키트들 및 그러한 백신들을 사용하는 방법들에 관한 것이다. 이러한 보호는 상기 인플루엔자 및/또는 하나 이상의 증세들(통상적으로는 둘 이상)의 방지, 발생 위험 감소, 발병 지연, 확산 감소, 개선, 억제 및/또는 박멸을 포함한다. 본 발명의 백신들, 키트들 및 방법들은 일반적으로 개들에게 사용하기에 적절하다고 여겨진다. 개과 동물은 늑대, 코요테 및 여우와 같은 야생, 동물원 및 사육(domestic)견들이다. 개과 동물은 개, 예를 들어, 순종 및/또는 잡종 반려견(companion dog), 쇼견(show dog), 사역견(working dog), 목양견(herding dog), 수렵견(hunting dog), 호위견(guard dog), 경찰견(police dog), 경주견(racing dog) 및/또는 실험견(laboratory dog)과 같은 개들, 특히 사육견도 포함한다.

[0012] 본 발명은 또한 부분적으로는 인플루엔자 감염으로부터 개를 보호하는 방법에 관한 것이다(즉, 인플루엔자 바이러스 감염의 방지, 발생 위험 감소, 발병 지연, 억제, 개선 또는 박멸). 상기 방법은 적어도 하나의 말 인플루엔자 바이러스 항원, 적어도 하나의 H3 인플루엔자 바이러스 항원 및/또는 적어도 하나의 H7 인플루엔자 바이러스 항원을 포함하는 백신의 치료적 유효량의 투여를 포함한다.

[0013] 본 발명은 또한 부분적으로는 개 인플루엔자 바이러스에 의해 유발된 호흡기 병변(respiratory lesions)으로부터 개를 보호하는 방법에 관한 것이다(즉, 호흡기 병변의 방지, 발생 위험 감소, 발병 지연, 억제, 개선 또는 박멸). 상기 방법은 적어도 하나의 말 인플루엔자 바이러스 항원, 적어도 하나의 H3 인플루엔자 바이러스 항원 및/또는 적어도 하나의 H7 인플루엔자 바이러스 항원을 포함하는 백신의 치료적 유효량을 개로의 투여를 포함한다.

[0014] 본 발명은 또한 부분적으로는 개 인플루엔자 바이러스 감염에 의해 유발되는 비강 또는 구강 분비물 내에 개 인플루엔자 바이러스로부터 개를 보호하는 방법에 관한 것이다(즉, 비강 또는 구강 분비물 내의 개 인플루엔자 바이러스의 방지, 발생 위험 감소, 발병 지연, 억제, 개선 또는 박멸). 상기 방법은 적어도 하나의 말 인플루엔자 바이러스 항원, 적어도 하나의 H3 인플루엔자 바이러스 항원 및/또는 적어도 하나의 H7 인플루엔자 바이러스 항원을 포함하는 백신의 치료적 유효량을 개로의 투여를 포함한다.

[0015] 본 발명은 또한 부분적으로 개 인플루엔자 백신에 관한 것이다. 몇몇 실시예들에서, 예를 들어, 상기 백신은 적어도 하나의 말 인플루엔자 바이러스 항원, 적어도 하나의 H3 인플루엔자 바이러스 항원 및/또는 적어도 하나의 H7 인플루엔자 바이러스 항원의 치료적 유효량을 포함한다.

[0016] 본 발명은 또한 부분적으로 인플루엔자 바이러스 감염으로부터 개를 보호하는 키트에 관한 것이다. 상기 키트는 적어도 하나의 말 인플루엔자 바이러스 항원, 적어도 하나의 H3 인플루엔자 바이러스 항원 및/또는 적어도 하나의 H7 인플루엔자 바이러스 항원을 포함하는 백신의 치료적 유효량을 포함한다. 또한, 상기 키트는 적어도 하나의 하기 요소들을 포함한다:

[0017] 상기 백신을 상기 개에게 투여하는 장치,

[0018] 상기 백신을 상기 개에게 투여하는 때에 이를 보조하는 약학적으로 허용가능한 부형제,

[0019] 상기 백신에 상기 개의 면역 반응을 증진시키는 약학적으로 허용가능한 부형제,

- [0020] 상기 백신과 동시에 상기 개에 의하여 소비되는 식품, 및/또는
- [0021] 상기 백신과 동시에 상기 개에 의하여 소비되는 향음(treat).
- [0022] 출원자 발명의 다른 이익은 본 명세서를 숙독하는 당업자에게 명백할 것이다.
- [0023] 서열의 간단한 설명
- [0024] 서열 번호: **1**은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 PB2 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(플로리다/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0025] 서열 번호: **2**는 서열 번호: 1에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0026] 서열 번호: **3**은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 PB1 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(플로리다/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0027] 서열 번호: **4**는 서열 번호: 3에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0028] 서열 번호: **5**는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 PA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(플로리다/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0029] 서열 번호: **6**은 서열 번호: 5에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0030] 서열 번호: **7**은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 NS 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(플로리다/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0031] 서열 번호: **8**은 서열 번호: 7에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0032] 서열 번호: **9**는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 NP 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(플로리다/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0033] 서열 번호: **10**은 서열 번호: 9에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0034] 서열 번호: **11**은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 NA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(플로리다/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0035] 서열 번호: **12**는 서열 번호: 11에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0036] 서열 번호: **13**은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 MA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(플로리다/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0037] 서열 번호: **14**는 서열 번호: 13에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0038] 서열 번호: **15**는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 HA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(플로리다/43/04)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0039] 서열 번호: **16**은 서열 번호: 15에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0040] 서열 번호: **17**은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 PB2 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0041] 서열 번호: **18**은 서열 번호: 17에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0042] 서열 번호: **19**은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 PB1 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0043] 서열 번호: **20**은 서열 번호: 19에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0044] 서열 번호: **21**은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 PA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0045] 서열 번호: **22**는 서열 번호: 21에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0046] 서열 번호: **23**은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 NS 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.

- [0047] 서열 번호: 24는 서열 번호: 23에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0048] 서열 번호: 25는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 NP 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0049] 서열 번호: 26은 서열 번호: 25에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0050] 서열 번호: 27은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 NA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0051] 서열 번호: 28은 서열 번호: 27에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0052] 서열 번호: 29는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 MA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0053] 서열 번호: 30은 서열 번호: 29에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0054] 서열 번호: 31은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 HA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(FL/242/03)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0055] 서열 번호: 32는 서열 번호: 31에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0056] 서열 번호: 33은 N-말단 16 아미노산 신호 서열이 제거된 서열 번호: 16에 제시되어 있는 HA 단백질의 성숙형이다.
- [0057] 서열 번호: 34는 N-말단 16 아미노산 신호 서열이 제거된 서열 번호: 32에 제시되어 있는 HA 단백질의 성숙형이다.
- [0058] 서열 번호: 35는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0059] 서열 번호: 36은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0060] 서열 번호: 37은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0061] 서열 번호: 38은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0062] 서열 번호: 39는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0063] 서열 번호: 41은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0064] 서열 번호: 42는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0065] 서열 번호: 43은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0066] 서열 번호: 44는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0067] 서열 번호: 45는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0068] 서열 번호: 46은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0069] 서열 번호: 47은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 PB2 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(마이애미/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0070] 서열 번호: 48은 서열 번호: 47에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0071] 서열 번호: 49는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 PB1 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(마이애미/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0072] 서열 번호: 50은 서열 번호: 49에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0073] 서열 번호: 51은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 PA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(마이애미/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0074] 서열 번호: 52는 서열 번호: 51에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0075] 서열 번호: 53은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 NS 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(마이애미/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.

- [0076] 서열 번호: 54는 서열 번호: 53에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0077] 서열 번호: 55는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 NP 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(마이애미/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0078] 서열 번호: 56은 서열 번호: 55에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0079] 서열 번호: 57은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 NA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(마이애미/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0080] 서열 번호: 58은 서열 번호: 57에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0081] 서열 번호: 59는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 MA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(마이애미/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0082] 서열 번호: 60은 서열 번호: 59에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0083] 서열 번호: 61은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 HA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(마이애미/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0084] 서열 번호: 62는 서열 번호: 61에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0085] 서열 번호: 63은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 PB2 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(잭슨빌/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0086] 서열 번호: 64는 서열 번호: 63에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0087] 서열 번호: 65는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 PB1 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(잭슨빌/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0088] 서열 번호: 66은 서열 번호: 65에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0089] 서열 번호: 67은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 PA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(잭슨빌/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0090] 서열 번호: 68은 서열 번호: 67에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0091] 서열 번호: 69는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 NS 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(잭슨빌/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0092] 서열 번호: 70은 서열 번호: 69에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0093] 서열 번호: 71은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 NP 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(잭슨빌/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0094] 서열 번호: 72는 서열 번호: 71에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0095] 서열 번호: 73은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 NA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(잭슨빌/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0096] 서열 번호: 74는 서열 번호: 73에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0097] 서열 번호: 75는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 MA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(잭슨빌/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0098] 서열 번호: 76은 서열 번호: 75에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0099] 서열 번호: 77은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 HA 단백질을 엔코딩하는 개 인플루엔자 바이러스(잭슨빌/2005)의 뉴클레오티드 서열이다.
- [0100] 서열 번호: 78은 서열 번호: 77에 의해 엔코딩되는 아미노산 서열이다.
- [0101] 서열 번호: 79는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0102] 서열 번호: 80은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

- [0103] 서열 번호: 81은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0104] 서열 번호: 82는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0105] 서열 번호: 83은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0106] 서열 번호: 84는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0107] 서열 번호: 85는 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0108] 서열 번호: 86은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0109] 서열 번호: 87은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.
- [0110] 서열 번호: 88은 본 발명에 따라 사용될 수 있는 올리고뉴클레오티드이다.

도면의 간단한 설명

- [0111] **도 1a와 1b**는 적혈구응집소 유전자들 간의 계통발생적 관계를 도시한다. **도 1a**는 A/Budgerigar/Hokkaido/1/77 (H4)를 외군으로 포함하는 대표적인 개, 인간, 조류, 돼지 및 말 분리체들로부터 유래한 HA 유전자들의 계통수를 도시한다. **도 1b**는 A/Duck/Ukraine/63 (H3)를 외군으로 이용하여, 현대와 고대 말 HA 유전자들과 개 인플루엔자 바이러스 HA 유전자들의 계통수를 도시한다. 계통수들은 이웃 연결법(neighbor joining method)에 의한 뉴클레오티드 서열들로부터 추론되었고 90 % 이상의 부트스트랩(bootstrap) 분석 수치들이 표기되어 있다. 막대는 수평 나무 가지들의 단위 길이당 뉴클레오티드 변화의 숫자를 나타낸다.

도 2a와 2b는 폐 인플루엔자 H3 항원의 면역조직화학적 검출을 도시한다. 폐 조직 절편을 H3 적혈구응집소에 쥐 단일클론 항체로 탐지(probe)하였으며 면역과산화효소 반응으로 결합을 검출하였다(갈색 침전). **도 2a**는 자연 질병을 앓고 있는 그레이하운드의 기관지 상피를 도시한다. 기관지 상피 세포 세포질과 기도 내강 내와 폐포강 내의 소식세포 내에서 바이러스 H3 항원이 검출되었다. **도 2b**는 A/canine/Florida/43/2004 (H3N8)로 접종한 후 5 일째 되는 날의 개의 기관 상피를 도시한다. 바이러스 H3 항원은 기관지 상피 세포 세포질 내에서 검출되었다. 스케일 바, 66 μ m.

도 3은 인플루엔자 바이러스 감염과 관련된 출혈성 폐렴으로 죽은 그레이하운드들의 기관지를 도시한다. 상기 조직들은 H&E로 염색된다. 상부 패널: 섬모 상피 세포들, 점막 세포들 및 기저 세포들이 있는 정상 기관지. 하부 패널: 자발성 인플루엔자를 앓는 그레이하운드의 기관지. 상기 기관지 섬모 상피 세포들의 괴사와 마식(erosion)이 있다. 스케일 바, 100 μ m.

도 4a와 4b는 H3 적혈구응집소 유전자들 간의 계통발생적 관계를 도시한다. **도 4a**는 현대와 고대 말 HA 유전자들과 개 인플루엔자 바이러스 HA 유전자들의 계통수를 도시한다. **도 4b**는 현대와 고대 HA와 개 인플루엔자 바이러스 HA 단백질의 계통수를 도시한다. 계통수들은 이웃 연결법에 의한 유전자 또는 아미노산 서열들로부터 추론되었고 80 % 이상의 부트스트랩(bootstrap) 분석 수치들이 표기되어 있다. 막대는 수평 나무 가지들의 단위 길이당 뉴클레오티드 변화의 숫자를 나타낸다.

도 5는 인플루엔자 바이러스 감염과 관련된 폐렴으로 죽은 개들의 폐에서의 기관지와 기관지샘의 상피 세포들 내의 인플루엔자 바이러스 H3 단백질을 도시한다. 상부 패널: 기관지 내의 섬모 기관지 상피 세포들의 마식. 조직들은 H&E로 염색되었다. 하부 패널: 기관지(왼쪽) 및 기관지샘(오른쪽) 상피 세포들의 세포질 내에서의 인플루엔자 바이러스 H3 단백질. 인플루엔자 H3에 대한 단일클론 항체로 조직들을 염색하고 면역과산화효소 반응으로 검출하고(갈색 침전) 헤마톡실린으로 대비염색하였다.

도 6a 내지 6d는 10-배 계열적으로 희석된 시험관 내 전사된 RNA 표준들의 증폭으로부터 구한 H3와 매트릭스 유전자들의 증폭 플롯들을 도시한다(**도 6a와 도 6b**). H3와 매트릭스 유전자들의 표준 곡선들(**도 6c와 도 6d**)은 각각의 희석에서 구한 역치 주기(Ct)에 대한 초기 RNA 농도들의 로그값을 플롯팅하여 구성되었다.

도 7은 디렉티젠 플루(Directigen Flu) A의 감도를 A/Wyoming/3/2003과 A/canine/FL/242/2003을 포함하는 10-배 계열적으로 희석된 바이러스 스톱들로 시험하였다는 것을 도시한다. 자주색 삼각형은 양성 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0112] 당해 발명은 개과 동물을 감염시키고 호흡기 질병을 유발시킬 수 있는 분리된 인플루엔자 바이러스에 관한 것이다. 일 실시예에서, 본 발명의 인플루엔자 바이러스는 하기 서열 번호들 중 어느 하나의 아미노산 서열을 가지

는 단백질을 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76이나 78 또는 그 기능적 및/또는 번역원성 단편이나 변이체. 특이적 일 실시예에서, 하기 서열 번호들 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열을 포함한다: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75나 77 또는 그 단편이나 변이체. 본 발명의 인플루엔자 바이러스는 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8 및 H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 또는 H16의 HA 아형이나 N1, N2, N3, N4, N5, N6, N7, N8 또는 N9의 NA 아형을 가질 수 있다. 특정한 일 실시예에서, 본 발명의 인플루엔자 바이러스는 아형 H3이다. 바이러스는 감염된 개들로부터 분리되어 여기에 기술된 방법들에 따라 세포 또는 난자에서 배양될 수 있다. 예시적인 일 실시예에서, 인플루엔자 바이러스는 인플루엔자 A 바이러스이다.

[0113]

당해 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 유전자나 유전자들 또는 게놈 절편의 전부 또는 일부를 포함하는 폴리뉴클레오티드들에 관한 것이기도 하다. 일 실시예에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 인플루엔자 적혈구응집소(HA) 유전자, 뉴라미니다제(NA) 유전자, 핵단백질(NP) 유전자, 매트릭스 단백질(MA 또는 M) 유전자, 폴리머라제 염기성(PB) 단백질 유전자, 폴리머라제 산성(PA) 단백질 유전자, 비-구조성(NS) 단백질 유전자나 이러한 유전자들 중 어느 하나의 기능적 단편이나 변이체를 포함한다. 다른 일 실시예에서, 상기 HA 유전자는 하기들 중 하나 이상을 가지는 적혈구응집소 단백질을 엔코딩한다: 말 H3 보존 서열(consensus sequence)의 아미노산 서열에 대한 83 위치에서의 세린; 222 위치에서의 류신; 328 위치에서의 트레오닌; 및/또는 483 위치에서의 트레오닌. 일 실시예에서, 상기 HA 유전자는 하기 서열 번호들에서 보이는 아미노산 서열을 가지는 폴리펩티드들 엔코딩한다: 16, 32, 62나 78 또는 그 기능적 및/또는 번역원성 단편이나 변이체. 특이적인 일 실시예에서, 상기 HA 유전자는 서열 번호: 15, 31, 61 또는 77에 보이는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0114]

일 실시예에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 하기 서열 번호들 중 어느 하나에서 보이는 아미노산 서열을 가지는 폴리펩티드를 엔코딩한다: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 74, 76이나 78 또는 그 기능적 및/또는 번역원성 단편이나 변이체. 특이적인 일 실시예에서, 서열 번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76 또는 78에서 보이는 아미노산 서열을 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드는 서열 번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75 또는 77 각각을 또는 서열 번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76 또는 78 중 어느 하나의 기능적 및/또는 번역원성 단편이나 변이체를 엔코딩하는 서열을 포함한다. 따라서, 당해 발명은 서열 번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75나 77 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열 또는 서열 번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75나 77 중 어느 하나의 퇴화 변이체를 포함하는 단편이나 변이체를 포함하는 폴리뉴클레오티드 서열들에 관한 것이다. 다른 특이적 실시예에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 하기를 포함할 수 있다: 서열 번호: 3의 뉴클레오티드들 1-2271; 서열 번호: 5의 뉴클레오티드들 1-2148; 서열 번호: 7의 뉴클레오티드들 1-657; 서열 번호: 9의 뉴클레오티드들 1-1494; 서열 번호: 11의 뉴클레오티드들 1-1410; 서열 번호: 13의 뉴클레오티드들 1-756; 서열 번호: 15의 뉴클레오티드들 1-1695; 서열 번호: 19의 뉴클레오티드들 1-2271; 서열 번호: 21의 뉴클레오티드 1-2148 ; 서열 번호: 23의 뉴클레오티드들 1-657 ; 서열 번호: 25의 뉴클레오티드들 1-1494; 서열 번호: 29의 뉴클레오티드들 1-756; 서열 번호: 31의 뉴클레오티드들 1-1695; 서열 번호: 47의 뉴클레오티드들 1-2277; 서열 번호: 49의 뉴클레오티드들 1-2271; 서열 번호: 51의 뉴클레오티드들 1-2148; 서열 번호: 53의 뉴클레오티드들 1-690; 서열 번호: 55의 뉴클레오티드들 1-1494; 서열 번호: 57의 뉴클레오티드들 1-1410; 서열 번호: 59의 뉴클레오티드들 1-756; 서열 번호: 61의 뉴클레오티드들 1-1695; 서열 번호: 63의 뉴클레오티드들 1-2277; 서열 번호: 65의 뉴클레오티드들 1-2271; 서열 번호: 67의 뉴클레오티드들 1-2148; 서열 번호: 69의 뉴클레오티드들 1-690; 서열 번호: 71의 뉴클레오티드들 1-1494; 서열 번호: 73의 뉴클레오티드들 1-1410; 서열 번호: 75의 뉴클레오티드들 1-756; 및 서열 번호: 77의 뉴클레오티드들 1-1695. 본 발명의 범위 내에서 고찰되는 바이러스 폴리뉴클레오티드와 폴리펩티드 서열들의 뉴클레오티드 및 아미노산 서열들도 유전자 은행에 등록 번호 DQ124147에서 DQ124161까지 그리고 DQ124190으로 기탁되어 있으며, 각각의 개시물은 여기에 참고로 포함된다.

[0115]

당해 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 폴리뉴클레오티드들에 의하여 엔코딩되는 폴리펩티드들에 관한 것이기도 하다. 당해 발명은 당해 폴리펩티드들의 기능적 및/또는 번역원성 단편들과 변이체들에 관한 것이기도 하다. 고찰되는 폴리펩티드들은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 HA 단백질, NA 단백질, NS 단백질, 핵단백질,

폴리머라제 염기성 단백질, 폴리머라제 산성 단백질 및 매트릭스 단백질을 포함한다. 예시적인 일 실시예에서, 본 발명의 폴리펩티드는 하기 서열 번호들 중 어느 하나의 아미노산 서열을 가진다: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76 이나 78 또는 그 기능적 및/또는 면역원성 단편이나 변이체.

[0116]

당해 발명은 본 발명의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 발현 구조체(expression construct)들에 관한 것이기도 하다. 일 실시예에서, 본 발명의 발현 구조체는 하기 서열 번호들 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76이나 78 또는 그 기능적 및/또는 면역원성 단편이나 변이체. 특이적인 일 실시예에서, 서열 번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76 또는 78에서 보이는 아미노산 서열을 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드는 서열 번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75 또는 77 각각을 또는 서열 번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76 또는 78 중 어느 하나의 기능적 및/또는 면역원성 단편이나 변이체를 엔코딩하는 서열을 포함한다. 따라서, 당해 발명은 서열 번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75 나 77 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열 또는 서열 번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75나 77 중 어느 하나의 퇴화 변이체를 포함하는 단편이나 변이체를 포함하는 폴리뉴클레오티드 서열들을 포함하는 발현 구조체들에 관한 것이다. 바람직한 일 실시예에서, 본 발명의 발현 구조체는 본 발명의 실시가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드의 과잉발현을 제공한다.

[0117]

본 발명의 발현 구조체들은 발현 구조체가 발현되는 의도된 숙주 세포 내에서 기능적인 조절 인자(regulatory element)들을 일반적으로 포함한다. 따라서, 당업자는 예를 들어, 인간 숙주 세포들, 포유류 숙주 세포들, 곤충 숙주 세포들, 효모 숙주 세포들, 박테리아 숙주 세포들 및 식물 숙주 세포들에 사용되는 조절 인자들을 선별할 수 있다. 일 실시예에서, 상기 조절 인자들은 개 세포들 내에서 기능성이 있는 인자들이다. 조절 인자들은 프로모터들, 전사 종결 서열들, 번역 종결 서열들, 인핸서(enhancer)들 및 폴리아데닐화 인자들을 포함한다. 여기에 사용된 "발현 구조체"는 실시가능하게 연결된 핵산 서열의 전사를 제공하는 핵산 서열들의 조합을 의미한다. 여기에 사용된 "실시가능하게 연결된"이라는 용어는 구성성분들이 그 의도된 방식으로 작용하도록 하는 관계에 있는 구성성분들의 근위(juxtaposition)를 의미한다. 일반적으로, 실시가능하게 연결된 구성성분들은 인접 관계에 있다.

[0118]

본 발명의 발현 구조체는 본 발명의 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열에 실시가능하게 연결된 프로모터 서열을 포함할 수 있다. 업계에 알려진 표준 기법들을 이용하여 폴리뉴클레오티드로 프로모터들이 혼입될 수 있다. 프로모터들이나 다중 프로모터들의 다중 복제(multiple copies)를 본 발명의 발현 구조체에 사용할 수 있다. 바람직한 일 실시예에서, 자연적인 유전자 환경 내에서의 전사 개시 사이트로부터와 거리와 발현 구조체 내의 전사 개시 사이트로부터의 동일한 거리에 프로모터가 위치될 수 있다. 프로모터 활성화에 실질적인 감소 없이 이 거리에 있는 몇몇 변형이 허용된다. 전사 개시 사이트가 일반적으로 발현 구조체 내에 포함된다. 바람직하게는, 본 발명의 발현 구조체와 관련된 프로모터는 본 발명의 실시가능하게 연결된 폴리뉴클레오티드의 과잉발현을 제공한다.

[0119]

본 발명의 발현 구조체로 진핵 세포들 내에서 사용되는 프로모터들은 바이러스성 또는 세포성 기원일 수 있다. 바이러스성 프로모터들은 사이토메갈로바이러스(CMV) 유전자 프로모터들, SV40 초기 또는 말기 프로모터들 또는 로우스 육종 바이러스(RSV) 유전자 프로모터들을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 세포성 기원의 프로모터들은 데스민 유전자 프로모터와 액틴 유전자 프로모터를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 본 발명의 발현 구조체로 효모 세포들 내에서 사용되기에 적절한 프로모터들은 3-인산글리세린산염 키나아제 프로모터, 글리세르알데히드-3-인산염 탈수소효소 프로모터, 메탈로티오네인 프로모터, 알코올 탈수소효소-2 프로모터 및 헥소키나아제 프로모터를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다.

[0120]

만약 발현 구조체가 식물 세포 내에 제공되거나 식물 세포 내로 도입되거나 한다면, 예를 들어, 꽃양배추 모자이크 바이러스(CaMV) 35S(증진된 CaMV 35S 프로모터 포함(예를 들어, U.S. Patent No. 5,106,739와 An, 1997 참조)) 또는 CaMV 19S 프로모터와 같은 식물성 바이러스 프로모터들이 사용될 수 있다. 식물들 내의 발현 구조체들로 사용될 수 있는 다른 프로모터들은 예를 들어, 프로리페라(prolifera) 프로모터, Ap3 프로모터, 열 충격

프로모터, *A. tumefaciens*의 T-DNA 1'- 또는 2'-프로모터, 폴리갈락투로나제 프로모터, 페츄니아의 칼콘 신타제 A(CHS-A) 프로모터, 담배 PR-1a 프로모터, 유비퀴틴 프로모터, 액틴 프로모터, alcA 유전자 프로모터, pin2 프로모터(Xu *et al.*, 1993), 옥수수 WipI 프로모터, 옥수수 trpA 유전자 프로모터(U.S. Patent No. 5,625,136), 옥수수 CDPK 유전자 프로모터 및 RUBISCO SSU 프로모터(U.S. Patent No. 5,034,322)를 포함한다. U.S. Patent No. 6,455,760 또는 U.S. Patent No. 6,696 또는 공개 U.S. patent application Nos. 20040078841; 20040067506; 20040019934; 20030177536; 20030084486; 또는 20040123349에 기술된 프로모터 서열들 중 어느 하나와 같은 뿌리-특이적 프로모터들은 본 발명의 발현 구조체와 사용될 수 있다. 구조성 프로모터들(CaMV, 유비퀴틴, 액틴 또는 NOS 프로모터 등), 발달-조절된 프로모터들 및 유도성 프로모터들(열, 빛, 호르몬이나 화학 물질에 의하여 유도될 수 있는 그러한 프로모터들)도 본 발명의 폴리뉴클레오티드 발현 구조체들과의 사용에 고려된다. 조직-특이적 프로모터들은 예를 들어, 토마토의 E8 프로모터(등록 번호: AF15784; Good *et al.*(1994))와 같은 과일-특이적 프로모터들도 사용될 수 있다. β -과세올린 유전자(예를 들어, 강낭콩의) 또는 글리시닌 유전자(예를 들어, 대두) 및 기타와 같은 종자-특이적 프로모터들도 사용될 수 있다.

[0121] 원핵 시스템들 내에서의 발현에 대하여, 본 발명의 발현 구조체는 예를 들어, 알칼라인 포스파타아제 프로모터, 트립토판(trp) 프로모터, 람다 P_L 프로모터, β -락타마제 프로모터, phoA 프로모터, T3 프로모터, T7 프로모터 또는 tac 프로모터와 같은 프로모터들을 포함할 수 있다(de Boer *et al.*, 1983).

[0122] 본 발명의 발현 구조체들은 전사 종결 서열, 번역 종결 서열, 신호 펩티드를 엔코딩하는 서열 및/또는 인헨서 인자들을 선택적으로 포함할 수 있다. 전사 종결 영역들은 통상적으로 진행 또는 바이러스 유전자 서열의 3' 번역되지 않은 영역으로부터 구해될 수 있다. 전사 종결 서열들은 효율적인 종결을 제공하는 코딩 서열의 하류로 위치될 수 있다. 신호 펩티드 서열은 특이적인 세포소기관 구획(organelle compartment)에서 단백질 작용과 세포외 환경의 사이트들에 이르기까지 광범위한 번역 후 세포 목적지들에 실시가능하게 연결된 성숙한 폴리펩티드의 재배치의 원인이 되는 단백질의 아미노 말단에 통상적으로 존재하는 짧은 아미노산 서열이다. 실시가능하게 연결된 신호 펩티드 서열의 사용을 통한 의도된 세포 및/또는 세포의 목적지에 유전자 생성물들의 표적은 본 발명의 폴리펩티드들과의 사용에 고려된다. 고전적인 인헨서들은 유전자 전사를 증가시키고 발현 구조체 내에 포함될 수도 있는 시스-작용 인자(cis-acting element)들이다. 고전적인 인헨서 인자들은 업계에 알려져 있으며, CaMV 35S 인헨서 인자, 사이토메갈로바이러스(CMV) 초기 프로모터 인헨서 인자 및 SV40 인헨서 인자를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 유전자 발현을 증진시키는 인트론-매개 인헨서 인자들도 업계에 알려져 있다. 이러한 인자들은 전사된 영역 내에 존재하여야 하며 배향 의존적이다.

[0123] 발현 구조체로부터 전사된 mRNA의 폴리아데닐화를 지시하는 DNA 서열들은 발현 구조체 내에 포함될 수 있으며, 옥토핀 신타제나 노팔린 신타제 신호를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다.

[0124] 발현 구조체들은 예를 들어 변형된 세포들의 선별용인 항생제 내성 및/또는 제초제-내성을 엔코딩하는 유전자들을 포함하는 하나 이상의 우세한 선별가능한 표지 유전자들을 포함할 수도 있다. 항생제-내성 유전자들은 하나 이상의 하기 항생제들에 대해 내성을 제공할 수 있다: 하이그로마이신, 카나마이신, 블레오마이신, G418, 스트렙토마이신, 파로모마이신, 네오마이신 및 스펙티노마이신. 카나마이신 내성은 네오마이신 포스포트랜스페라제(NPT II)에 의하여 제공될 수 있다. 제초제-내성은 포스포노트리신 아세틸트랜스페라제 또는 글리포세이트에 내성을 제공할 수 있다. 세포 변형 스크리닝에 사용되는 다른 표지들은 베타-글루쿠코니다아제(GUS), 베타-갈락토시다아제, 루시페라아제, 노팔린 신타제, 클로람페니콜 아세틸트랜스페라제(CAT), 녹색 형광 단백질(GFP) 또는 증진된 GFP를 엔코딩하는 유전자들을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다(Yang *et al.*, 1996).

[0125] 당해 발명은 본 발명의 폴리펩티드를 엔코딩하는 본 발명의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 벡터들에도 관한 것이다. 독특한 제한 효소 사이트들이 본 발명의 발현 구조체나 폴리뉴클레오티드의 5'와 3' 말단에 포함되어 폴리뉴클레오티드 벡터로 삽입될 수 있게 한다. 여기에 사용된 "벡터"라는 용어는 예를 들어, 적절한 제어 인자들과 관련될 경우 복제할 수 있으며 세포들 사이에 폴리뉴클레오티드 서열들을 전이할 수 있는 플라스미드들, 코스미드들, 염색체들, 파지, 바이러스 등을 포함하는 임의의 유전 인자를 의미한다. 벡터들은 벡터가 선별된 숙주 세포 내에서 복제하게 하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 수많은 벡터들이 발현 및/또는 클로닝에 유용하며, pBR322, pUC 계열, M13 계열, pGEM 계열 및 pBLUESCRIPT 벡터들을 포함하지만 여기에 한정되지 않는다(Stratagene, La Jolla, CA and Promega, Madison, WI).

[0126] 당해 발명은 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 코딩이나 비-코딩 서열에 혼성화할 수 있는 폴리머라제 연쇄 반응(PCR) 프라이머들과 같은 올리고뉴클레오티드 프로브들과 프라이머들에 관한 것이기도 하다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드 프로브들은 인플루엔자 바이러스 핵산 서열들을 검출하는 방법들에 사용될 수 있다. 본 발명의 올

리고뉴클레오타이드 프라이머들은 PCR 방법들과 핵산 증폭에 관계된 다른 방법들에 사용될 수 있다. 바람직한 일 실시예에서, 본 발명의 프로브나 프라이머는 엄격한 조건하에서 본 발명의 폴리뉴클레오타이드와 혼성화할 수 있다. 본 발명의 프로브들과 프라이머들은 형광 분자들, 효소들, 방사능 모이어티 등과 같은 검출가능한 라벨이나 보고 분자를 선택적으로 포함할 수 있다. 본 발명의 프로브들과 프라이머들은 이러한 것들이 채용되는 방법이나 분석에 적절한 길이를 가지는 것일 수 있다. 통상적으로, 본 발명의 프로브들과 프라이머들은 길이가 10 내지 500 이상의 뉴클레오타이드들일 것이다. 길이가 10 내지 20, 21 내지 30, 31 내지 40, 41 내지 50, 51 내지 60, 61 내지 70, 71 내지 80, 81 내지 90, 91 내지 100 또는 101 이상인 뉴클레오타이드들은 본 발명의 범위 내에서 고려된다. 일 실시예에서, 프로브들과 프라이머들은 길이가 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30 중 어느 하나이다. 본 발명의 프로브들과 프라이머들은 폴리뉴클레오타이드 서열과 완전한(100 %) 뉴클레오타이드 서열 동일성 또는, 서열 동일성이 100 % 미만일 수 있다. 예를 들어, 프로브나 프라이머 및 서열 사이의 서열 동일성은 프로브나 프라이머가 엄격한 조건하에서 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 뉴클레오타이드 서열과 혼성화할 수 있지만 하다면 99 %, 98 %, 97 %, 96 %, 95 %, 90 %, 85 %, 75 %, 70 % 또는 어느 하나의 다른 백분율 서열 동일성을 가질 수 있다. 본 발명의 예시적인 프로브들과 프라이머들은 서열 번호: 35, 서열 번호: 36, 서열 번호: 37, 서열 번호: 38, 서열 번호: 39, 서열 번호: 40, 서열 번호: 41, 서열 번호: 42, 서열 번호: 43, 서열 번호: 44, 서열 번호: 45, 및 서열 번호: 46 또는 서열 번호들: 35 내지 46 중 어느 하나의 기능적 단편이나 변이체에서 보인 뉴클레오타이드 서열을 가지는 프로브들과 프라이머들을 포함한다.

[0127]

여기에 사용된 "핵산", "폴리뉴클레오타이드" 및 "올리고뉴클레오타이드"라는 용어는 단일- 또는 이중-가닥 중 어느 하나의 형태인 디옥시리보뉴클레오타이드, 리보뉴클레오타이드 또는 혼합된 디옥시리보뉴클레오타이드 및 리보뉴클레오타이드 중합체를 의미하며, 달리 제한하지 않으면, 자연발생적 뉴클레오타이드들과 유사한 방식으로 기능할 수 있는 자연 뉴클레오타이드들의 알려진 유사체들이 이 범주에 들 것이다. 폴리뉴클레오타이드 서열들은 RNA로 전사될 수 있는 DNA 가닥 서열과 단백질로 번역될 수 있는 상기 RNA 가닥을 포함한다. 본 발명의 임의의 핵산, 폴리뉴클레오타이드 또는 올리고뉴클레오타이드의 상보적 서열도 본 발명의 범위 내에서 고려된다. 폴리뉴클레오타이드 서열들은 전장 서열들에서 유래한 길이가 더 짧은 서열들뿐만 아니라 전장 서열들 양쪽 모두도 포함한다. 당해 발명은 여기에 개시된 폴리뉴클레오타이드들과 서열상 상보적인 그러한 폴리뉴클레오타이드들도 포함한다. 본 발명의 폴리뉴클레오타이드들과 폴리펩티드들은 정제되거나 분리된 형태로 제공될 수 있다.

[0128]

유전자 코드의 축퇴(degeneracy)로 인하여, 상이한 폴리뉴클레오타이드 서열들은 본 발명의 폴리펩티드를 엔코딩할 수 있다. 가능한 모든 트리플렛 코돈들(그리고 U도 T를 나타낸다)과 각각의 코돈에 의해 엔코딩되는 아미노산을 보여주는 표가 Lewin(1985)에 기술되어 있다. 또한, 당해 발명의 동일하거나 본질적으로 동일한 폴리펩티드들을 엔코딩하는 다른 폴리뉴클레오타이드 서열들을 발생시키는 것은 상당히 당업자의 기술 내에 존재한다. 이러한 축퇴 변이체와 다른 폴리뉴클레오타이드 서열들은 당해 발명의 범위 내에 있다. 여기에 사용된 "본질적으로 동일함" 서열에 대한 언급은 본 발명의 폴리뉴클레오타이드들에 의하여 엔코딩되는 폴리펩티드의 기능적 및/또는 면역원성 활성을 구체적으로 변경하지 않는 아미노산 치환, 결실, 부가 또는 삽입을 엔코딩하는 서열들을 의미한다.

[0129]

당해 발명은 본 발명의 폴리펩티드들을 엔코딩하는 본 발명의 폴리펩티드들의 변이체들에 관한 것이기도 하다. 변이 서열들은 서열의 하나 이상의 뉴클레오타이드들이 치환, 결실 및/또는 삽입되는 그러한 서열들을 포함한다. DNA의 자연 뉴클레오타이드들로 치환될 수 있는 뉴클레오타이드들은 이노신, 5-플루오로우라실, 5-브로모우라실, 하이포크산틴, 1-메틸구아닌, 5-메틸시토신 및 트리틸화된 염기들을 포함하지만 여기에 한정되지 않는 염기성 모이어티를 가진다. 서열에서 뉴클레오타이드의 당 모이어티는 변형될 수도 있으며 아라비노스, 자일룰루스(xylulose) 및 핵소스를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 또한, 상기 뉴클레오타이드들의 아데닌, 시토신, 구아닌, 티민 및 우라실 염기들은 아세틸, 메틸 및/또는 티오 기들로 변형될 수 있다. 뉴클레오타이드 치환, 결실 및/또는 삽입을 포함하는 서열들은 업계에 알려진 표준 기법들을 이용하여 제제되고 검정될 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드에서 특이적으로 예시적이거나 자연적으로 존재하는 것들이 아닌 아미노산들의 치환은 본 발명의 범위 내에서 고려되기도 한다. 예를 들어, 비-자연적 아미노산들은 치환된 아미노산들을 가지는 폴리펩티드가 아미노산들이 치환되지 않은 폴리펩티드와 동일한 기능적 활성을 실질적으로 유지하는 한, 폴리펩티드의 아미노산들과 치환될 수 있다. 비-자연적 아미노산들의 예들은 오르니틴, 시트룰린, 히드록시프롤린, 호모세린, 페닐글리신, 타우린, 요오티로신, 2,4-디아미노부틸산, 알파-아미노 이소부틸산, 4-아미노부틸산, 2-아미노 부틸산, 감마-아미노부틸산, 엡실론-아미노헥산산(ϵ -amino hexanoic acid), 6-아미노헥산산, 2-아미노 이소부틸산, 3-아미노 프로피온산, 노르류신, 노르발린, 사르코신, 호모시트룰린, 시스테인산, 타우-부틸글리신(τ -butylglycine), 타우-부틸알라닌, 페닐글리신, 사이클로헥실알라닌, 베타-알라닌, 플루오로-아미노산들, 베타-

메틸 아미노산들, 카본-메틸 아미노산들(C-methyl amino acids), 질소-메틸 아미노산들 및 일반적인 아미노산 유사체들과 같은 설계자 아미노산들을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 비-자연 아미노산들은 유도된 측쇄(side group)들을 가지는 아미노산들도 포함한다. 또한, 단백질 내의 아미노산들 중 임의의 것은 D(우선성) 형태거나 L(좌선성) 형태일 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드의 단백질 서열의 알레릭 변이체(allelic variant)들도 본 발명의 범위에 포함된다.

[0130] 아미노산들은 일반적으로 하기의 종류로 분류될 수 있다: 비극성, 무전하 극성, 염기성 및 산성. 한 종류의 아미노산을 가지는 본 발명의 폴리펩티드는 동일한 종류의 다른 아미노산과 치환되는 보존성 치환은 치환을 가지는 폴리펩티드가 치환을 가지지 않는 폴리펩티드와 실질적으로 동일한 기능적 활성을 여전히 유지하는 한, 당해 발명의 범위 내에 속한다. 서열 내에서 하나 이상의 아미노산 치환들을 가지는 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리펩티드들은 본 발명의 범위 내에서 고려된다. 하기 표 11은 각각의 종류에 속하는 아미노산의 예들을 수록한 것이다. 단일한 문자의 아미노산 약어들은 표 12에 정의되어 있다.

[0131] 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 폴리펩티드들의 단편들과 변이체들은 업계에 알려진 표준 방법들을 이용하여 발생되고 업계에 알려진 표준 기법들을 이용하여 기능이나 면역원성의 존재 여부에 대하여 검정될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 뉴라미니다제 폴리펩티드의 단편들 및/또는 변이체들을 검정하기 위하여, 효소 활성을 분석할 수 있다. 따라서, 당업자는 본 발명의 폴리펩티드의 단편들과 변이체들을 용이하게 제제하고 시험할 수 있으며 상기 단편이나 변이체가 전장 또는 비-변이 폴리펩티드에 대하여 활성을 유지하는지의 여부를 결정할 수 있다.

[0132] 본 발명의 범위 내에서 고려되는 폴리뉴클레오티드들과 폴리펩티드들도 여기에 특이적으로 예시된 본 발명의 그러한 서열들 내에서 좀 더 특정한 동일성 및/또는 유사성 범위의 측면에서 정의될 수도 있다. 서열 동일성은 통상적으로 60 %를 초과할 것이며, 바람직하게는 75 % 초과할 것이며, 더 바람직하게는 80 % 초과할 것이며, 더욱더 바람직하게는 90 % 초과할 것이며, 95 %를 초과할 수 있다. 서열의 동일성 및/또는 유사성은 여기에 예시된 서열들과 비교하여 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99% 일 수 있다. 달리 특정하지 않으면, 여기에 사용된 두 서열들의 퍼센트 서열 동일성 및/또는 유사성은 Karlin과 Altschul(1993)에서 변형된 Karlin과 Altschul(1990)의 알고리즘을 이용하여 측정될 수 있다. 그러한 알고리즘은 Altschul *et al.*(1990)의 NBLAST와 XBLAST 프로그램들에 포함된다. BLAST 검색은 스코어 = 100, 글자수 = 12의 NBLAST 프로그램으로 실행되어 원하는 퍼센트의 서열 동일성을 지닌 서열들을 얻을 수 있다. 비교 목적의 갭된 정렬(gapped alignment)을 구하기 위하여, Gapped BLAST를 Altschul *et al.*(1997)에 기술된 바와 같이 사용할 수 있다. BLAST와 Gapped BLAST 프로그램들을 이용할 경우에, 각각의 프로그램들(NBLAST와 XBLAST)의 설정 파라미터들(default parameters)을 사용할 수 있다. NCBI/NIH 웹사이트 참조.

[0133] 당해 발명은 여기에 예시된 폴리뉴클레오티드 서열들과 충분히 동일한 서열들을 가지는 그러한 폴리뉴클레오티드 분자들도 고려하여 표준적인 엄격한 조건들과 표준 방법들 하에서 그러한 서열과 혼성화가 일어나게 한다(Maniatis *et al.*, 1982). 여기에 사용된 혼성화에 대한 "엄격한" 조건이란 6x SSPE, 5x 덴하르트 용액(Denhardt's solution), 0.1 % SDS, 0.1 mg/ml 변성된 DNA 내에서 DNA 잡종의 녹는점(T_m) 미만인 20 내지 25 °C에서 하룻밤 동안 통상적으로 실행되는 조건을 의미한다. 녹는점 T_m은 하기의 공식들로 기술된다(Beltz *et al.*, 1983):

[0134]
$$T_m = 81.5\text{ }^{\circ}\text{C} + 16.6 \text{ Log}[\text{Na}^+] + 0.41(\%G + C) - 0.61(\% \text{ 포름아미드}) - 600/\text{염기 쌍들}$$
 내에서의 듀플렉스의 길이.

[0135] 하기와 같이 세척을 통상적으로 실시한다:

[0136] (1) 1x SSPE, 0.1 % SDS 내에서 15 분 동안 상온에서 2 회(저 강도 세척(low stringency wash)).

[0137] (2) 0.2x SSPE, 0.1 % SDS 내에서 15 분 동안 T_m - 20 °C에서 1 회(중 강도 세척).

[0138] 당해 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 유전자들에 의하여 엔코딩되는 바이러스 단백질들과 펩티드들에 관한 것이기도 하다. 일 실시예에서, 바이러스 단백질은 성숙한 HA 단백질이다. 특이적인 일 실시예에서, 성숙한 HA 바이러스는 하기 중 하나 이상을 포함한다: 82 위치의 세린; 221 위치의 류신; 327 위치의 트레오닌; 및/또는 482 위치의 트레오닌. 예시적인 일 실시예에서, 성숙한 HA 단백질은 서열 번호: 33 또는 서열 번호: 34에 보인 아미노산 서열 또는 서열 번호: 33 또는 서열 번호: 34의 기능적 및/또는 면역원성 단편 또는 변이체를 가

진다. 다른 실시예에서, 상기 바이러스 단백질은 NA 단백질, NS 단백질, PB 단백질, PA 단백질 또는 MA 단백질이다. 본 발명의 바이러스 단백질들과 펩티드들은 단백질 또는 펩티드와 특이적으로 결합하는 항체들을 발생시키는 데 사용될 수 있다. 본 발명의 바이러스 단백질들과 펩티드들은 면역원으로서 그리고 백신 조성물에 사용될 수도 있다.

[0139]

당해 발명은 감수성 숙주 동물을 감염시키고 호흡기 질병을 유발시킬 수 있는 인플루엔자 바이러스에 대한 면역 반응을 유도하는 조성물들과 방법들에 관한 것이기도 하다. 본 발명은 감수성 숙주 동물 내의 임의의 아형인 인플루엔자 바이러스에 대한 면역 반응을 유도하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 인플루엔자 바이러스는 H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H15 또는 H16의 HA 아형 및 N1, N2, N3, N4, N5, N6, N7, N8 또는 N9의 NA 아형일 수 있다. 일 실시예에서, 상기 HA 아형은 H3 또는 H5이다. 다른 일 실시예에서, 상기 NA 아형은 N7 또는 N8이다. 특이적인 일 실시예에서, 면역 반응은 H3N8 아형의 인플루엔자 바이러스에 대항하여 유도된다. 일 실시예에서, 상기 숙주 동물은 개과 동물이다. 개과 동물은 늑대, 코요테 및 여우와 같은 야생, 동물원 및 사육견들이다. 개과 동물은 개, 예를 들어, 순종 및/또는 잡종 반려견, 쇼견, 사역견, 목양견, 수렵견, 호위견, 경찰견, 경주견 및/또는 실험견과 같은 개들, 특히 사육견들도 포함한다. 특이적인 일 실시예에서, 상기 숙주 동물은 그레이하운드와 같은 길들여진 개이다. 일 실시예에서, 동물에게 본 발명의 인플루엔자 바이러스에 대항하는 면역 반응을 유도하기에 충분한 본 발명의 면역원성 조성물의 유효량이 투여된다. 상기 면역 반응은 체액성 및/또는 세포성 면역 반응일 수 있다. 특이적인 일 실시예에서, 상기 면역 반응은 면역화 이후에 수반하는 일정한 시간 동안 면역화된 숙주 동물 내에서 바이러스 감염을 방지하거나 최소화할 수 있는 보호 면역 반응이다. 따라서, 당해 발명은 백신접종된 동물에 본 발명의 바이러스에 대한 보호 면역 반응을 제공할 수 있는 백신 조성물들과 방법들에 관한 것이기도 하다.

[0140]

여기에 사용된 당해 발명의 백신 또는 면역원성 조성물들은 서브비리온 입자들(바이러스 지질들 모두나 일부를 제거하기 위하여 비리온이 처리되는 "분할 백신" 포함), 바이러스 단백질들(개별 단백질들과 다중 단백질들의 거대 분자 복합체들 포함), 폴리펩티드 및 펩티드들뿐만 아니라 바이러스 감염된 세포 계통들이나 이러한 것들 중 임의의 것의 조합을 포함하는 약독화되거나 비활성화된 바이러스나 그러한 바이러스의 부분들을 포함하는 무세포 전체 바이러스를 포함할 수 있다. 바이러스-감염 세포 계통들을 포함하는 백신 또는 면역원성 조성물들은 상이한 바이러스 균주로 각각 감염된 다중 세포 계통들을 포함할 수 있다.

[0141]

본 발명의 일 실시예에서, 하나 이상의 비활성화된(즉, 사균) 및/또는 생약독화 인플루엔자 바이러스 백신들이나 하나 이상의 바이러스 분리체들로부터 인플루엔자 바이러스 항원들의 하나 이상의 다중성을 포함하는 백신들로 면역화될 수 있다. 일 실시예에서, 상기 인플루엔자 바이러스는 개 인플루엔자 바이러스이다. 다른 실시예에서, 상기 인플루엔자 바이러스는 개 인플루엔자 바이러스 폴리펩티드와 적어도 약 90 %, 또는 적어도 약 95 % 또는 적어도 약 96 % 또는 97 % 또는 98 % 또는 99 % 이상의 아미노산 서열 동일성을 가진 폴리펩티드를 엔코딩하거나 발현시키는 말 인플루엔자 바이러스이다. 일 실시예에서, 본 발명의 백신에 사용되는 인플루엔자 항원은 개 인플루엔자 바이러스의 HA 항원 및/또는 NA 항원과 적어도 약 96 % 서열 동일성을 가진다.

[0142]

비활성화된 백신의 예는 EQUICINE IITM으로서, Intervet Inc.(Millsboro, DE, USA)가 액체 백신으로 시판하고 있는 제품이다. EQUICINE IITM는 비활성화된 A/펜실바니아/63 인플루엔자 바이러스("A/Pa/63")와 카보폴과의 A/equine/Kentucky/93 인플루엔자 바이러스("A/KY/93")(즉, HAVLOGEN[®](Intervet Inc.))를 포함한다. 더 구체적으로는, EQUICINE IITM의 투여량은 하기를 포함한다: $10^{6.0}$ EID₅₀에서의 비활성화된 A/Pa/63, $10^{6.7}$ EID₅₀에서 비활성화된 A/KY/93, 부피비 0.25 %인 카보폴 및 총 부피 1 mL을 만들기 충분한 PBS.

[0143]

비활성화된 백신의 다른 예는 말 인플루엔자 바이러스 A/equine/Ohio/03("오하이오 03")이다. 몇몇 실시예들에서, 그러한 백신은 MVP Laboratories, Inc.(Ralston, NE)에서 상용 구입가능한 유화된 중합체-계열 보조제인 CARBIGENTM을 포함한다. 그러한 백신들 내에서, 투여량 단위는 통상적으로 바이러스의 적어도 약 250 HA 단위들, 바이러스의 약 250 내지 12,500 HA 단위들 또는 바이러스의 약 1000 내지 6200 HA 단위들을 포함한다. CARBIGENTM의 권장 농도는 (질량비) 약 5 내지 약 30 %이다.

[0144]

생약독화 백신의 예는 물로 재구성될 수 있는 동결 건조 백신 형태의 변형된 살아있는 equine/Kentucky/91("A/KY/91") 인플루엔자이다. 몇몇 실시예들에서, 이러한 재구성은 백신 투여를 총 1 mL 부피로 하기에 충분한 백신 급 물을 사용하여 실시된다. 그러한 백신들의 태양들은 예를 들어, 본 특허에 그대로 참고로 포함된 U.S. Patent Nos. 6,436,408; 6,398,774; 및 6,177,082에서 다루어진다. 재구성되는 경우에, 그

러한 백신의 투여량은 예를 들어, $\text{mL당 } 10^{7.2}$ TCID₅₀에서의 A/KY/91, $\text{mL당 } 0.015$ 그램의 N-Z AMINE ASTM, $\text{mL당 } 0.0025$ 그램의 젤라틴 및 $\text{mL당 } 0.04$ 그램의 D 락토오스를 포함할 수 있다. N-Z AMINE ASTM는 카제인의 효소 가수분해로 생성되는 아미노산들과 펩티드들의 세련된 소스이다. N-Z AMINE ASTM는 Kerry Bio-Science(Norwich, NY, USA)가 시판한다.

- [0145] 바람직한 일 실시예에서, 백신은 예를 들어 canine/New Market/79 균주와 같은 HA 코딩 서열들 내의 Florida/43/2004와 적어도 약 93 % 상동성을 가지는 H3 인플루엔자 항원을 포함한다. 바람직한 상동성은 예를 들어, equine/Alaska/1/91 및 equine/Santiago/85 균주들과 같이 적어도 약 96 %이다. 하기의 예들에서, equine/Kentucky/91, equine-2/Kentucky/93, equine-1/Pennsylvania/63 및 Ohio/03 인플루엔자 항원들이 백신들로 혼입되었다. 바람직한 백신들은 equine/Wisconsin/03, equine/Kentucky/02, equine/Kentucky/93과 equine/New Market/2/93을 포함하는 백신들도 포함한다. 하기 예들에서, H3N8 바이러스들이 사용되었다. 그러나, 다른 H3 인플루엔자 바이러스들은 본 발명에 따라서 사용될 수 있는 것으로 여겨진다.
- [0146] 생약독화 백신들은 통상적인 수단들에 의하여 제제될 수 있다. 그러한 수단들은 예를 들어, 시험관 내 계대(in vitro passaging)에 의한 병원성 균주들의 변화, 한랭 적응, 유전자 조작에 의한 생물체의 병원성 변형, 키메라들의 제제, 항원들의 바이러스 벡터로의 삽입, 비-독성 야생종 균주들 등을 일반적으로 포함한다.
- [0147] 몇몇 실시예들에서, 생약독화 바이러스 균주는 야생종 바이러스를세포 배양, 실험, 실험 동물들, 비-숙주 동물들 또는 난자들을 거쳐 연속적인 계대에 의하여 유도된다. 그러한 계대(들)을 거치는 동안에 유전자 돌연변이의 축적은 통상적으로 오리지널 숙주에 대한 상기 생물체의 독성의 점진적인 상실로 이어진다.
- [0148] 몇몇 실시예들에서, 생약독화 바이러스 균주는 허용되는(permissible) 세포들을 약독화된 돌연변이 바이러스와 병원성 바이러스로 동시 감염시켜 제제된다. 원하는 결과의 재조합 바이러스는 병원성 바이러스로부터 보호성 항원들을 코딩하는 유전자들을 지닌 약독화된 바이러스의 안전성을 가진다.
- [0149] 몇몇 실시예들에서, 생약독화 바이러스 균주는 한랭 적응에 의하여 제제된다. 한랭-적응된 바이러스는 상기도 내에서의 온도에서만 복제하는 이점이 있다. 한랭-적응된 말 인플루엔자 바이러스의 발생 방법은 U.S. Patent No. 6,177,082에 기술되어 있다. 원하는 결과의 한랭-적응된 바이러스는 하나 이상의 하기 표현형들을 부여한다: 한랭 적응, 온도 민감성, 우성 간섭(dominant interference) 및/또는 약독화.
- [0150] 몇몇 실시예들에서, 생약독화 바이러스 균주는 점 돌연변이, 결실 또는 삽입과 같은 분자적 수단에 의하여 제제되어 오리지널 숙주의 보호 특성을 유지하면서, 병원성 바이러스를 오리지널 숙주와 비교하여 비-병원성이거나 병원성이 약한 바이러스로 변환시킨다.
- [0151] 몇몇 실시예들에서, 생약독화 바이러스는 보호성 항원들의 유전자들의 후보를 비-병원성 또는 병원성이 약한 바이러스나 다른 생물체의 계놈으로 클로닝시켜 제제된다.
- [0152] 비활성화된(즉, "사균") 바이러스 백신들은 통상적인 방법들을 이용하여 바이러스를 비활성화시켜 제제될 수 있다. 통상적으로, 그러한 백신들은 백신들에 통상적으로 사용되는 다른 부형제들뿐만 아니라, 면역 반응을 증진시킬 수 있는 부형제들을 포함한다. 예를 들어, 하기의 예들에서, EQUICINE IITM은 HAVLOGEN[®]을 포함한다. 바이러스의 비활성화는 바이러스를 비활성화 화학물질들(예컨대, 포르말린, 베타 프로피올락톤("BPL"), 브로모에틸아민("BEA") 및 이원성 에틸렌이민(binary ethylenimine("BEI"))으로 처리하거나 바이러스의 복제 능력을 불능화하는 비화학적 방법들(예컨대, 열, 동결/해동 또는 음파 처리)에 의하여 실행될 수 있다.
- [0153] 하기 예들에서, equine/오하이오/03을 공격 바이러스로 사용하였다. 플로리다/43/04 분리체들과 약 99 % 상동성을 가지는 것으로 알려져 있으며, 개들에게서 감염과 혈청전환의 징후들을 유도하는 것을 보였다. 예 18은 개들에게 말 인플루엔자 백신의 효능을 예증 하는데, 이는 CARBIGENTM 부형제를 포함하는 백신 조성물 내에 비활성화된 오하이오 03 항원으로 백신접종된 개들에게서 적혈구 응집반응 억제(또는 "HI" 또는 "HAI") 역가들이 관찰된다는 것을 보여준다. 표 29는 감염 후뿐만 아니라 사전-백신접종, 사후-백신접종 및 사후-2차 백신접종의 역가들을 보여준다. 상기 결과들은 백신접종된 개들에 대한 각각의 단계의 사후-백신접종에서의 HI 역가들을 나타내며, 대조군과 비교하여 증가가 거의 없거나 증가가 없음을 보여준다. 표 30은 동일한 연구로부터 임상 징후, 바이러스 분리 및 조직병리학 결과들을 보여주지 않았다. 비록 감염된 동물들이 임상 징후, 감염 기간(virus shedding) 또는 양성 조직병리학을 보여주지 않는다 하더라도, 양성 HI 역가들(표 29)은 면역화된 동물들 내에서 상당한 항체 역가들을 나타낸다.

- [0154] 다른 H3 인플루엔자 바이러스 항원 백신들도 본 발명의 범주에 든다. 본 명세서와 하기 예들에 기술된 백신들은 본 발명과 그 바람직한 실시예들을 예시하고 청구된 발명의 범위를 한정하지 않도록 제공된다.
- [0155] H3 인플루엔자 바이러스 항원들과는 다른 인플루엔자 항원들을 본 발명에 따라 사용될 수 있음을 더 유의하여야 한다. 그러한 항원들은 예를 들어, 말 A1 아형(H7N7)인 equine/PA/63으로부터 유래한 항원들을 포함한다. 하나 이상의 그러한 항원들을 하나 이상의 H3 인플루엔자 항원들의 존재하에 또는 부재하여 사용될 수 있음을 고려한다.
- [0156] 일반적으로, 백신은 치료적 유효량으로 투여된다. "치료적 유효량"은 표적 바이러스에 대항하여 개 환자의 보호 반응을 유도하기에 충분한 양이다. 통상적으로, 투여량이 인플루엔자나 하나 이상(통상적으로 둘 이상)의 그 징후들을 예방, 그러한 위험의 감소, 발병의 지연, 확산 방지, 개선, 억제 또는 박멸하는 경우 이를 "치료적으로 유효하다"라고 한다. 일반적인 인플루엔자 증세들은 예를 들어, 열병(개에 대해서는, 통상적으로 $\geq 103.0^{\circ}\text{F}$; $\geq 39.4^{\circ}\text{C}$), 기침, 재채기, 조직병리학적 병변, 눈물, 콧물, 구토, 설사, 우울증, 체중 감소, 구역질, 각혈 및/또는 청진상 수포음(audible rales)을 포함한다. 다른 흔한 더 심각한 징후들은 예를 들어, 폐, 종격(mediastinum) 또는 흉강 내 출혈; 기관염; 기관지염; 세기관지염; 보조적 기관지폐렴(supportive bronchopneumonia); 및/또는 상피 내막(epithelial lining)과 폐의 기도 내강(airway lumens)을 호중구(neutrophils)들 및/또는 대식세포들로 침윤을 포함할 수 있다.
- [0157] 백신은 병용 요법, 즉, 백신 그 자체에 더하여 하나 이상의 다른 활성 작용제들, 보조제들, 요법들 등의 투여를 포함하는 요법의 일 부분으로 투여될 수 있다. 그러한 경우에, "치료적으로 유효한" 양을 구성하는 백신의 양은 백신 단독으로 투여된다면 "치료적으로 유효한" 양을 구성하는 백신의 양 미만일 수 있다는 것을 인식하여야 할 것이다. 다른 요법들은 예를 들어, 항-바이러스 약제, 진통제, 해열제, 거담제, 소염제, 항히스타민제, 인플루엔자 바이러스 감염으로부터 유래한 박테리아 감염을 치료하는 항생제, 휴식 및/또는 유체 투여와 같은 업계에 알려진 요법들을 포함할 수 있다. 몇몇 실시예들에서, 본 발명의 백신은 보르데텔라속 백신, 아데노바이러스 백신 및/또는 파라인플루엔자 바이러스 백신과 병용하여 투여된다.
- [0158] 몇몇 실시예들에서, 예를 들어, 생약독화 백신에 대한 통상적인 투여량은 개 한 마리당 적어도 약 10^3 pfu; 더 통상적으로는 개 한마리당 약 10^3 내지 약 10^9 pfu이다. 본 특허에서, "pfu"는 "단위체(unit)들을 형성하는 플라크(plaque)"를 의미한다. 몇몇 실시예들에서, 생약독화 백신에 대한 통상적인 투여량은 개 한 마리당 적어도 약 10^3 TCID₅₀이며, 더 통상적으로는 개 한 마리당 약 10^3 내지 약 10^9 EID₅₀이다. 몇몇 실시예들에서, 사균 백신에 대한 통상적인 투여량은 적어도 약 40 HA 단위체들, 통상적으로 약 40 내지 약 10,000 HA 단위체들 및 더 통상적으로는 약 500 내지 약 6200 HA 단위체들이다. 몇몇 실시예들에서, 상기 투여량은 약 6100 내지 약 6200 HA 단위체들이다.
- [0159] 몇몇 바람직한 실시예들에서, 백신은 면역원성 수준을 초과하는 개 한 마리당 적어도 약 $10^{0.5}$ pfu인 농도의 생약독화 백신을 포함한다. 몇몇 실시예들에서, 백신은 면역원성 수준을 초과하는 개 한 마리당 적어도 약 $10^{0.5}$ TCID₅₀인 농도의 생약독화 백신을 포함한다. 몇몇 바람직한 실시예들에서, 백신은 면역원성 수준을 초과하는 개 한 마리당 적어도 약 $10^{0.5}$ EID₅₀인 농도의 생약독화 백신을 포함한다.
- [0160] 면역원성 수준은 업계에 일반적으로 알려진 감염 투여량 적정 연구 기법들에 의하여 실험적으로 결정될 수 있다. 그러한 기법들은 통상적으로 수많은 개들을 상이한 투여량의 백신으로 백신접종을 포함하며, 이후에 독성 바이러스로 상기 개들을 감염시켜 최소 보호 투여량을 결정한다.
- [0161] 바람직한 투여 방법에 영향을 주는 인자들은 예를 들어, 유형(예컨대, 종 및 혈통), 연령, 체중, 성별, 식사, 활성, 폐 크기 및 피검자의 상태; 투여 경로; 사용된 특정 백신의 효능, 안정성 및 면역 프로파일의 지속기간; 전달 시스템의 사용 여부; 및 백신 약물 및/또는 백신 병용의 일부로서 투여되는 지의 여부를 포함할 수 있다. 따라서, 실제 채용되는 투여량은 특이적인 동물들에 대하여 변할 수 있다, 그러므로 상술한 통상적인 투여량들에서 벗어날 수 있다. 그러한 투여량 조정의 결정은 일반적으로 통상적인 수단을 이용하는 당업자의 기술 범위 내에 있다. 생약독화 바이러스들은 일반적으로 자전(self-propagating)하며; 따라서, 그러한 바이러스가 투여되는 특이적인 양은 반드시 중요하다고 할 수 없다는 것을 더 주목하여야 한다.
- [0162] 백신이 일, 주, 월 또는 년에 걸쳐서 1 회; 또는 다르게는 2 회 이상으로 개 환자에게 투여될 수 있음을 고려한다. 몇몇 실시예들에서, 백신은 적어도 2 회 투여된다. 몇몇 그러한 실시예들에서, 예를 들어, 백신은 2 회 투

여되면서, 제 2 투여(예컨대, 추가면역)는 제 1 투여 이후 적어도 약 2 주 후에 투여된다. 몇몇 실시예들에서, 백신은 2 회 투여되며 제 2 투여는 제 1 투여 이후 적어도 8 주 정도 후에 투여된다. 몇몇 실시예들에서, 상기 제 2 투여는 제 1 투여 이후 약 2 주 내지 약 4 년 후에 투여되거나 제 1 투여 이후 약 2 내지 약 8 주 후 투여되거나 제 1 투여 이후 약 3 내지 약 4 주 후에 투여된다. 몇몇 실시예들에서, 제 2 투여는 제 1 투여 이후 약 4 주 후에 투여된다. 상기 실시예들에서, 제 1 및 후속 투여는 예를 들어, 그 양 및/또는 형태 면에서 달라질 수 있다. 그러나, 때때로 투여는 양과 형태가 동일하다. 단독 투여만이 투여되는 경우에, 그러한 투여량 단독의 백신 투여량은 일반적으로 백신의 치료적 유효량을 포함한다. 그러나, 1 투여량을 초과하여 투여되는 경우에, 그렇게 함께 투여되는 백신의 양들은 치료적 유효량을 구성할 수 있다.

[0163] 몇몇 실시예들에서, 백신은 개 수용자가 인플루엔자에 감염되기 이전에 투여된다. 그러한 실시예들에서, 백신은 예를 들어, 인플루엔자 또는 하나 이상의(통상적으로 둘 이상의) 인플루엔자 징후들의 방지, 위험 감소 또는 발병의 지연을 위하여 투여될 수 있다.

[0164] 몇몇 실시예들에서, 백신은 개 수용자가 인플루엔자에 감염된 이후에 투여된다. 그러한 실시예들에서, 백신은 예를 들어, 인플루엔자 또는 하나 이상의(통상적으로 둘 이상의) 인플루엔자 징후들을 개선, 억제 또는 박멸할 수 있다.

[0165] 백신의 바람직한 조성물은 예를 들어, 백신이 비활화된 백신, 생약독화 백신 또는 양쪽 모두의 여부에 의존한다. 그것은 백신의 투여 방법에도 의존한다. 백신은 하나 이상의 통상적인 약학적으로 허용가능한 담체, 보조제, 다른 면역 반응 증진제 및/또는 운반체(집합적으로 "부형제"라 부름)를 포함할 것이라는 것을 고려한다. 그러한 부형제들은 백신 내의 활성 성분(들)과 용화하는 것으로 일반적으로 선별된다. 부형제들의 사용은 일반적으로 당업자에게 알려져 있다.

[0166] "약학적으로 허용가능한"이라는 용어는 변형된 명사가 의약품의 사용에 적절하다는 것을 의미하는 형용사적으로 쓰인다. 예를 들어, 의약 백신으로 부형제를 기술하는 데 사용되는 경우, 상기 부형제가 조성물의 다른 성분들과 용화하며 의도된 수용자 개에게 불리하게 해롭지 않다는 것을 특징으로 한다.

[0167] 백신들은 예를 들어, 점막 투여(비강 내, 구강, 기관 내 및 눈과 같은) 및 장관외성 투여를 포함하는 통상적인 수단에 의하여 투여될 수 있다. 점막 투여는 생약독화 백신들에 대하여 종종 특정하게 이점이 있다. 장관외성 투여는 비활성화된 백신들에 대하여 종종 특정하게 이점이 있다.

[0168] 점막 백신들은 예를 들어, 약학적으로 허용가능한 유탕액, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭서제들과 같은 액체 투여 형태일 수 있다. 그러한 백신들에 적합한 부형제들은 예를 들어, 물, 식염수, 포도당, 글리세롤, 젖당, 설탕, 녹말 가루, 알칸산의 셀룰로오스 에스테르류, 셀룰로오스 알킬 에스테르류, 활석, 스테아르산, 마그네슘 스테아레이트, 마그네슘 산화물, 인산과 황산의 나트륨과 칼슘염류, 젤라틴, 아카시아 검, 알긴산 나트륨, 폴리비닐피롤리돈 및/또는 폴리비닐 알코올과 같이 업계에서 흔히 사용되는 비활성 희석제들을 포함한다. 부형제들은 다양한 습윤제, 유화제, 현탁제, 향미료(예컨대, 감미료) 및/또는 방향제들도 포함할 수 있다.

[0169] 구강 점막 백신들은 예를 들어, 투여의 편의를 위하여 정제화되거나 캡슐화될 수도 있다. 그러한 캡슐들이나 정제들은 서방형 제형을 포함할 수 있다. 캡슐, 정제 및 알약의 경우에, 투여 형태들은 소듐 사이트레이트 또는 마그네슘 또는 칼슘 카보네이트나 바이카보네이트와 같은 완충제들도 포함할 수 있다. 정제들과 알약들은 또한 장용성 코팅들로 제제될 수 있다.

[0170] 백신은 개 환자의 음료수 및/또는 음식을 통하여 투여될 수 있음을 고려한다. 백신은 향음이나 완구의 형태로 투여될 수 있음을 더 고려한다.

[0171] "장관외성 투여"는 피하 주사, 점막하 주사, 정맥내 주사, 근육내 주사, 흉골내 주사, 경피성 주사 및 주입을 포함한다. 주사용 제제들(예컨대, 살균 주사용 수용액이나 유성 현탁액)은 운반체, 용매, 분산제, 습윤제, 유화제 및/또는 현탁제와 같은 적절한 부형제들을 사용하는 업계에 알려진 방법에 따라서 제형될 수 있다. 이러한 것들은 예를 들어, 물, 식염수, 포도당, 글리세롤, 에탄올, 옥수수 기름, 목화씨 기름, 낙화생 기름, 참기름, 벤질 알코올, 1,3-부탄디올, 링거액, 등장성 염화 나트륨 용액, 완화성 지방유(예컨대, 합성 모노- 또는 디글리세라이드), 지방산(예컨대, 올레산), 디메틸 아세트아미드(dimethyl acetamide), 계면활성제(예컨대, 이온 및 비이온 세제류), 프로필렌 글리콜 및/또는 폴리에틸렌 글리콜류를 통상적으로 포함한다. 부형제들은 pH 완충제와 같은 다른 보조 물질들을 소량 포함할 수도 있다.

[0172] 백신은 개 환자의 면역 반응을 증진시키는 하나 이상의 부형제들을 포함하여(항체 반응, 세포 반응 또는 양쪽 모두를 포함할 수 있는) 백신의 유효성을 증가시킨다. 그러한 부형제들(또는 "보조제들")의 사용은 비활성화된

백신을 사용할 경우에 특히 유용할 수 있다. 보조제(들)은 개 환자의 면역계의 세포들에 미치는 직접(예컨대, 시토카인 또는 결핵 예방 접종(Bacille Calmette-Guerin: "BCG") 또는 간접적인 효과(리포솜)를 가진 물질일 수 있다. 보조제로서 흔한 적절한 예들은 기름(예컨대, 광유), 금속염류(예컨대, 수산화 알루미늄 또는 인산 알루미늄), 박테리아 구성요소(예컨대, 박테리아 지질당류, 프로인드 보조액(Freund's adjuvants) 및/또는 MDP), 식물 구성요소(예컨대, Quil A) 및 담체 효과를 가지는 하나 이상의 물질들(예컨대, 벤토나이트, 라텍스 입자, 리포솜 및/또는 Quil A, ISCOM)을 포함한다. 상술한 바와 같이, 보조제들은 예를 들어, CARBIGENTM과 카보폴을 포함하기도 한다. 본 발명은 임의의 보조제를 포함하지 않는 백신들뿐만 아니라 보조제(들)을 포함하는 백신들 양쪽 모두를 포함한다는 것을 인식하여야 한다.

[0173] 백신은 저장을 위해 동결-건조될 수 있으며(또는 액체 부피 내에서 감소됨) 이후 투여 전 또는 투여시에 액체 내에서 재구성될 수 있음을 고려한다.

[0174] 본 발명은 상술한 방법들의 실행에 이용되기에 적절한 키트들을 더 포함한다. 상기 키트는 상술한 백신을 포함하는 투여 형태를 포함한다. 상기 키트는 적어도 하나의 추가 구성요소 및 통상적으로는 추가 구성요소(들)과 함께 백신을 이용하는 지시사항들도 포함한다. 상기 추가 구성성분(들)은 예를 들어, 투여 전 또는 투여 도중에 백신과 혼합될 수 있는 하나 이상의 다른 성분들(예를 들어, 상술한 하나 이상의 부형제들, 음식 및/또는 향음)일 수 있다. 상기 추가 구성요소(들)은 또한(또는 추가로) 개 환자에게 백신을 투여하는 하나 이상의 장치들을 포함할 수 있다. 그러한 장치는 예를 들어, 주사기, 흡입기, 분무기, 피펫, 집게 또는 의학적으로 수용가능한 전달 운반체일 수 있다. 몇몇 실시예들에서, 상기 장치는 백신의 피하 투여에 적절하다. 몇몇 실시예들에서, 상기 장치는 백신의 비강 내 투여에 적절하다.

[0175] 제약 또는 생물체제 업계에 알려진 다른 부형제들과 방식들도 이용될 수 있다.

[0176] 당해 발명의 백신 또는 면역원성 조성물들은 예를 들어, HA 단백질, NA 단백질, 핵단백질, 폴리머라제 염기성 단백질, 폴리머라제 산성 단백질 및/또는 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 매트릭스 단백질을 엔코딩하는 유전자를 포함할 수 있는 재조합 바이러스 벡터 기반 구조체들도 포함한다. 재조합 벡터/바이러스 구조체를 제제하는 데 사용될 수 있는 임의의 적절한 바이러스 벡터는 당해 발명과 이용에 고려된다. 예를 들어, 아데노바이러스, 아비폭스(avipox), 헤르페스바이러스, 우두, 카나리아두, 엔토모폭스(entomopox), 돈두, 서 나일 바이러스 및 업계에 알려진 다른 바이러스들로부터 유래한 바이러스 벡터들이 본 발명의 조성물들과 방법들과 함께 사용될 수 있다. 구성요소들을 엔코딩하고 발현시키는 재조합 폴리뉴클레오티드 벡터들은 업계에 알려진 유전 공학 기법들을 이용하여 제작될 수 있다. 또한, 여기에 기술된 다양한 백신 조성물들은 독립적으로 그리고 서로 병용하여 사용될 수 있다. 예를 들어, 동물의 1차 면역화는 단독 또는 다중 균주 성분들을 가지는 재조합 벡터 기반 구조체들을 사용할 수 있으며, 이후 비활성화된 바이러스나 비활성화된 바이러스 감염 세포 계통들을 포함하는 백신 조성물들로 2차 추가면역을 할 수 있다. 본 발명의 백신 조성물들과 다른 면역화 프로토콜들은 당업자에게 명백하며 본 발명의 범위 내에서 고려된다.

[0177] 당해 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 적어도 하나의 유전자 또는 게놈 세그먼트와 본 발명의 다른 인플루엔자 바이러스에서 유래하거나 본 발명의 바이러스와는 다른 인플루엔자에서 유래한 바이러스 유전자 또는 게놈 세그먼트들의 나머지를 포함하는 재조합 바이러스에 관한 것이기도 하다. 재조합 바이러스는 본 발명의 기증자 인플루엔자 바이러스의 핵산과 수증자 인플루엔자 바이러스의 핵산과의 유전자 재조합과 이후 상기 기증자 바이러스의 핵산을 포함하는 재조합 바이러스의 선별에 의하여 생성될 수 있다. 재조합 바이러스의 생성과 분리 방법들은 업계에 잘 알려져 있다(Fields *et al.*, 1996). 일 실시예에서, 본 발명의 재조합 바이러스는 인간, 조류, 돼지 또는 말 인플루엔자 바이러스의 유전자들 또는 게놈 세그먼트들을 포함한다. 본 발명의 재조합 바이러스는 재조합 바이러스가 본 발명의 기증자 인플루엔자 바이러스로부터 유래한 적어도 하나의 유전자 또는 게놈 세그먼트를 포함하는 한, 기증자와 수증자 인플루엔자 바이러스로부터 유래한 핵산의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 수증자 인플루엔자 바이러스는 말 인플루엔자 바이러스일 수 있다.

[0178] 바이러스 단백질들의 자연, 재조합 또는 합성 폴리펩티드들과 그 펩티드 단편들도 당해 방법들에 따라 백신 조성물들로 사용될 수도 있다. 일 실시예에서, 백신 조성물은 개 인플루엔자 바이러스의 폴리뉴클레오티드나 폴리펩티드를 포함한다. 일 실시예에서, 백신 조성물은 서열 번호들: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76이나 78 중의 어느 하나 또는 그 기능적 및/또는 면역원성 단편 또는 변이체에서 보여지는 아미노산 서열을 가지는 폴리펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 특이적인 일 실시예에서, 서열 번호들: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76

이나 78에서 보여지는 아미노산 서열을 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드는 각각 서열 번호들: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75나 77에서 보여지는 뉴클레오티드 서열 또는 서열 번호들: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76이나 78 중 어느 하나의 것의 기능적 및/또는 면역원성 단편 또는 변이체를 엔코딩하는 서열을 포함한다. 특이적인 다른 실시예에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 서열 번호: 3의 뉴클레오티드들 1-2271; 서열 번호: 5의 뉴클레오티드들 1-2148; 서열 번호: 7의 뉴클레오티드들 1-657; 서열 번호: 9의 뉴클레오티드들 1-1494; 서열 번호: 11의 뉴클레오티드들 1-1410; 서열 번호: 13의 뉴클레오티드들 1-756; 서열 번호: 15의 뉴클레오티드들 1-1695; 서열 번호: 19의 뉴클레오티드들 1-2271; 서열 번호: 21의 뉴클레오티드들 1-2148; 서열 번호: 23의 뉴클레오티드들 1-657; 서열 번호: 25의 뉴클레오티드들 1-1494; 서열 번호: 29의 뉴클레오티드들 1-756; 서열 번호: 31의 뉴클레오티드들 1-1695; 서열 번호: 47의 뉴클레오티드들 1-2277; 서열 번호: 49의 뉴클레오티드들 1-2271; 서열 번호: 51의 뉴클레오티드들 1-2148; 서열 번호: 53의 뉴클레오티드들 1-690; 서열 번호: 55의 뉴클레오티드들 1-1494; 서열 번호: 57의 뉴클레오티드들 1-1410; 서열 번호: 59의 뉴클레오티드들 1-756; 서열 번호: 61의 뉴클레오티드들 1-1695; 서열 번호: 63의 뉴클레오티드들 1-2277; 서열 번호: 65의 뉴클레오티드들 1-2271; 서열 번호: 67의 뉴클레오티드들 1-2148; 서열 번호: 69의 뉴클레오티드들 1-690; 서열 번호: 71의 뉴클레오티드들 1-1494; 서열 번호: 73의 뉴클레오티드들 1-1410; 서열 번호: 75의 뉴클레오티드들 1-756; 및 서열 번호: 77의 뉴클레오티드들 1-1695를 포함할 수 있다. 다른 실시예에서, 백신 조성물은 서열 번호들: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76이나 78 중의 어느 하나의 것 또는 그 기능적 및/또는 면역원성 단편 또는 변이체에서 보여지는 아미노산 서열을 가지는 폴리펩티드를 포함한다. 다른 실시예에서, 백신 조성물은 말 인플루엔자 바이러스의 폴리뉴클레오티드나 폴리펩티드를 포함하며, 상기 폴리뉴클레오티드나 폴리펩티드는 말 인플루엔자 폴리뉴클레오티드나 폴리펩티드와 적어도 약 90 %, 또는 적어도 약 95 % 또는 적어도 약 96 %, 또는 97 % 또는 98 % 또는 99 % 이상의 서열 동일성을 가진다. 일 실시예에서, 다중 균주들로부터 유래한 바이러스 폴리펩티드들은 백신 조성물 내에서 조합될 수 있으며 숙주 동물을 백신접종하는 데 사용된다. 예를 들어, 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 적어도 2 가지의 상이한 균주들로부터 유래한 바이러스 HA 단백질에 기반한 폴리펩티드들은 백신 내에서 조합될 수 있다. 폴리펩티드들은 그 아미노산 서열이 적어도 2 개의 상이한 균주들로부터 유래한 폴리펩티드들을 합치거나 연결하여 유도된 "잡종(hybrid)" 또는 "키메라" 폴리펩티드들을 포함할 수 있다. 바이러스 폴리펩티드들을 제조하는 절차들은 업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 바이러스 폴리펩티드들과 펩티드들은 고체상 합성 방법들(Merrifield, 1963)을 이용하여 생성될 수도 있다. 바이러스 폴리펩티드들과 펩티드들은 재조합 DNA 기법들을 이용하여 생성될 수도 있으며, 바이러스 단백질이나 펩티드를 엔코딩하는 폴리뉴클레오티드 분자는 박테리아, 효모 또는 포류류 세포 계통과 같은 숙주 세포 내에서 발현되며, 업계의 표준 기법들을 이용하여 발현 단백질을 정제된다.

[0179]

본 발명의 백신 조성물들은 나출된(naked) 핵산 조성물들도 포함한다. 일 실시예에서, 핵산은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 HA 및/또는 NA 단백질을 엔코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 핵산 백신접종의 방법들은 업계에 알려져 있으며 예를 들어, U.S. Patent Nos. 6,063,385와 6,472,375에 기술되어 있다. 핵산은 플라스미드나 유전자 발현 카세트(cassette)의 형태일 수 있다. 일 실시예에서, 핵산은 리포솜 내에서 캡슐화되어 동물에게 투여되는 형태로 제공된다.

[0180]

본 발명에 따라서 사용될 수 있는 폴리펩티드들과 핵산들과 같은 백신 조성물들과 면역원들은 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제와 함께 제공될 수 있다. 당해 발명에 유용한 화합물들과 조성물들은 약학적으로 유용한 조성물들을 제조하는 알려진 방법들에 따라서 제형될 수 있다. 제형들은 잘 알려진 수많은 소스들에서 상세히 기술되어 있으며 당업자가 용이하게 이용할 수 있다. 예를 들어, E.W Martin, Easton Pennsylvania, Mack Publishing Company가 출판한 *Remington's Pharmaceutical Science* 19th ed., 1995는 당해 발명과 연계하여 사용될 수 있는 제형들을 기술한다. 일반적으로, 당해 발명의 조성물들은 상기 조성물의 유효한 투여를 용이하게 하기 위하여 면역원의 유효량이 적절한 담체와 조합되도록 제형될 것이다. 본 방법들에 사용된 조성물들은 다양한 형태들일 수도 있다. 이러한 것들은 예를 들어, 정제, 알약, 분말, 액체 용액 또는 현탁액, 좌약, 주사용 및 주입용 용액과 스프레이와 같은 고체, 반고체 및 액체 투여 형태들을 포함한다. 바람직한 형태들은 투여와 치료 응용의 의도된 방식에 의존한다. 상기 조성물들은 당업자에게 알려진 통상적인 약학적으로 허용가능한 담체들과 희석제들도 바람직하게는 포함한다. 당해 펩티드모방체들(peptidomimetics) 사용을 위한 담체들이나 희석제들의 예들은 물, 식염수, 광유를 포함하는 오일류, 에탄올, 디메틸 술폰, 젤라틴, 사이클로덱스트란류, 마그네슘 스테아레이트, 포도당, 셀룰로오스, 당류, 탄산 칼슘, 글리세롤, 알루미나, 전분 및 동등 담체들과 희석제들 또는 이러한 것들 중 어느 하나의 것의 혼합물들을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 본 발명의 면역원의 제

형들은 현탁제들, 보호제, 윤활액, 완충액, 보존제 및 안정화제도 포함할 수 있다. 원하는 치료 처리를 위해 그러한 투여량의 투여를 제공하기 위하여, 본 발명의 약학적 조성물들은 담체 또는 희석제를 포함하는 총 조성물의 중량을 기준으로 면역원이나 면역원들의 비중의 약 0.1 % 내지 45 % 및 특히 1 내지 15 %를 유리하게는 포함할 것이다.

[0181] 당해 발명의 백신과 면역원 조성물들은 업계에 잘 알려진 절차들에 의하여 제제될 수 있다. 예를 들어, 백신이나 면역원들은 예컨대, 액체 용액이나 현탁액과 같은 주사액으로 통상적으로 제제된다. 백신이나 면역원들은 투여 제형과 융합될 수 있는 방식과 수증자에게서 치료적으로 유효하고 면역원성인 그러한 양으로 투여된다. 특정한 백신이나 면역원 제형을 위한 최적 투여량과 투여 패턴들은 당업자에 의하여 용이하게 결정될 수 있다.

[0182] 본 발명의 펩티드들 및/또는 폴리펩티드들은 다중 항원 펩티드(MAP) 구조체의 형태로 제공될 수도 있다. MAP 구조체들의 제제는 Tam(1988)에 기술되어 있다. MAP 구조체들은 면역원의 다중 카피들이 합성되는 라이신 잔기들의 중심 매트릭스를 이용한다(Posnett *et al.*, 1988). 동일하거나 상이한 면역원들을 각각 포함하는 다중 MAP 구조체들은 본 발명의 방법들에 따라 백신 조성물 내에서 제제되고 투여될 수 있다. 일 실시예에서, MAP 구조체는 하나 이상의 보조제들과 함께 제공되고/되거나 투여된다. 본 발명의 인플루엔자 폴리펩티드들은 하나 이상의 폴리펩티드들을 포함하는 거대분자 단백질 구조들로서 생성되고 투여될 수도 있다. 공개된 U.S. Patent Application US2005/0009008은 인플루엔자 바이러스에 대한 백신으로서 바이러스-유사 입자들을 생성하는 방법들을 기술한다.

[0183] 당해 발명의 방법들에 따라, 여기에 기술된 백신과 면역원성 조성물들은 통상적으로는 개과 동물이며 더 통상적으로는 길들여진 개들인 감수성 숙주들에게 바이러스에 의한 숙주의 이후 항원투여나 감염에 대항하는 보호성 면역을 유도하는 유효량과 방식으로 투여된다. 일 실시예에서, 상기 숙주 동물은 개과 동물이다. 개과 동물은 늑대, 코요테 및 여우와 같은 야생, 동물원 및 사육견들이다. 개과 동물은 개, 예를 들어, 순종 및/또는 잡종 반려견, 쇼견, 사역견, 목양견, 수렵견, 호위견, 경찰견, 경주견 및/또는 실험견과 같은 개들, 특히 사육견들도 포함한다. 특이적인 일 실시예에서, 상기 동물은 그레이하운드와 같은 길들여진 개이다. 백신들이나 면역원들은 통상적으로 장관외성으로, 예를 들어, 피하, 복강내 또는 근육내 주사에 의하여 투여된다. 다른 적절한 투여 방식들은 구강 또는 비강 투여를 포함한다. 주로, 백신들이나 면역원들은 각각의 투여 사이에 1 주 이상의 간격을 두고 적어도 2 회 동물에게 투여된다. 그러나, 백신 또는 면역원들의 1차 및 2차 투여를 위한 다른 요법들이 고려되며, 의료인의 판단과 치료되는 특정 숙주 동물에 따라 변할 수 있다.

[0184] 백신 제형에서의 바이러스와 바이러스-감염 세포들은 업계에 알려진 방법들을 이용하여 비활성되거나 약독화될 수 있다. 예를 들어, 전 바이러스(whole virus)와 감염된 세포들은 과라포름알데히드, 포르말린, 베타 프로피올락톤(BPL), 브로모에틸아민(BEA), 이원 에틸렌아민(BEI), 페놀, UV 광선, 고온, 동결 해동, 음파처리(초음파처리 포함) 등에 노출시켜 비활성화되거나 약독화될 수 있다. 백신 내에서의 무세포 전 바이러스의 양은 약 0.1 mg 내지 약 5 mg 내에 있으며, 주로 약 0.2 mg 내지 약 2 mg의 범위 내에 있을 수 있다. 바이러스-감염된 세포 계통들을 포함하는 백신 제형들에 대한 투여량은 주로 투여량 당 약 10^6 내지 약 10^8 개의 세포들을 포함하며 주로 약 5×10^6 내지 약 7.5×10^7 개의 세포들을 포함할 것이다. 동물에 대한 투여량에서의 단백질 또는 펩티드 면역원의 양은 투여량을 받는 동물의 크기, 연령, 나이 등에 따라 약 0.1 μg 내지 10000 μg 또는 약 1 μg 내지 5000 μg 또는 약 10 μg 내지 1000 μg 또는 약 25 μg 내지 750 μg 또는 약 50 μg 내지 500 μg 또는 100 μg 내지 250 μg 으로 다양할 수 있다.

[0185] 바이러스나 바이러스 감염된 세포들 또는 바이러스 단백질들이나 펩티드들과 같은 본 발명의 면역원성 또는 백신 조성물은 통상적으로 투여 직전에 보조제와 조합될 수 있다. 백신 제형들에의 사용에 고려되는 보조제들은 트레오닐 류라밀 디펩티드(MDP)(Byars *et al.*, 1987), 사포닌, *Cornebacterium parvum*, 프로인드의 완전 보조제 및 프로인드의 비완전 보조제, 알루미늄 또는 이러한 것들 중 어느 하나의 것의 혼합물을 포함한다. 당해 발명의 방법들과 백신들과 사용에 적합한 알룸과 같은 다양한 보조제들은 업계에 알려져 있으며 당해 발명과의 사용에 고려된다.

[0186] 당해 발명은 본 발명의 단백질이나 펩티드와 특이적으로 결합하는 항체들에 관한 것이기도 하다. 당해 발명의 항체들은 모노클론성 및 다클론성 항체 조성물들을 포함한다. 바람직하게는, 당해 발명의 항체들은 단일클론성 항체들이다. 전 항체들과 그것의 단편들과 결합하는 항원은 본 발명 내에서 고려된다. 따라서, 예를 들어, 적절한 항원 결합 단편들은 Fab₂, Fab 및 Fv 항체 단편들을 포함한다. 본 발명의 항체들은 형광 분자(예컨대, 플루오로세린이나 효소)와 같은 검출가능한 모이어티로 라벨될 수 있다.

- [0187] 당해 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 검출과 동정을 위한 방법들과 조성물들과 본 발명의 인플루엔자 바이러스로 동물의 감염 여부 진단을 위한 방법들과 조성물들에 관한 것이기도 하다. 본 발명의 방법들은 동물에서 유래한 생물학적 표본에서의 개 인플루엔자의 존재 검출을 포함한다. 표본 내에서의 개 인플루엔자의 검출은 동물 내의 개 인플루엔자 진단에 유용하다. 차례로 이러한 정보는 시간에 걸쳐서 존재하는 개 인플루엔자 수준의 구별에 근거하여 동물의 예후를 결정하는 능력을 제공할 수 있으며, 동물에 대한 치료제와 치료법의 선별에 보조할 수 있으며, 요법의 모니터링을 보조할 수 있다. 상기 방법은 검정되는 동물 내에서 개 인플루엔자의 존재를 입증하는 능력도 제공한다.
- [0188] 동물 내에서의 개 인플루엔자 검출 능력은 상이한 지역적 위치들에서의 개 인플루엔자의 발병의 평가를 가능하게 한다. 이러한 정보는 감염된 동물들이 격리될 수 있도록 조기 검출로 질병의 유포를 제한하게 하고 치료 옵션을 위한 조기 개입을 가능하게 한다. 또한, 이러한 정보를 활용가능하게 하면 의료용품들의 조립과 필요하다면 백신을 포함하여, 질병을 앓고 있는 수많은 동물들의 치료에 준비하는 목적의 지침을 의료요원에게 제공할 수 있다.
- [0189] 일 실시예에서, 본 발명의 방법은 개와 같은 시험 동물로부터 유래한 생물학적 표본의 채집을 포함한다. 상기 생물학적 표본은 세포, 조직, 모발, 전형, 혈청, 혈장, 유두 흡인물, 폐 세척물(lung lavage), 뇌척수액, 타액, 발한 및 눈물을 포함하는 임의의 생물학적 물질일 수 있다.
- [0190] 상기 동물 시험 표본은 상기 동물이 질병 징후들을 보이거나 여부에 상관없이 개 인플루엔자 바이러스를 가진 것으로 의심되는 동물로부터 유래할 수 있다. 대조 표본들은 개 인플루엔자가 없는 것으로 알려진 동물들로부터 제공되거나 채집될 수도 있다. 예컨대, 위양성(false positive) 및 위음성 결과들을 감소시키고 분석법에서의 시약들이 활발하게 개 인플루엔자 A 바이러스를 검출하고 있음을 확인하기 위하여 다른 대조물들이 제공될 수 있다.
- [0191] 생물학적 표본 내에서의 개 인플루엔자 바이러스의 존재 또는 부재의 검출에 더하여, 본 발명에 사용되는 검출 방법들은 환경, 약물 처리, 유전자 조작 또는 돌연변이, 상해, 식사의 변화, 노화 또는 임의의 동물의 다른 특징(들)로부터 발생할 수 있는 핵산 서열에서의 변화와 같은 개 인플루엔자 바이러스에서의 돌연변이들을 검출할 수 있다. 돌연변이들로 인하여 개 인플루엔자 A가 이전에는 효능이 있었던 약물에 내성을 가지게 유발할 수 있거나 바이러스가 상이한 동물 종 또는 인간에게서 감염 및 전파가 될 수 있도록 할 수 있다. 예를 들어, 조류 인플루엔자 A 바이러스는 다른 동물들과 인간들을 감염시킨다고 보여지고 있다.
- [0192] 동물에게서 인플루엔자 바이러스를 검출하는 일 실시예에서, 실험실 시험 이전에 고품질 시료들의 채집, 시험 시설로의 신속한 수송 및 적절한 저장에 의하여 진단이 용이하게 된다. 바이러스는 감염된 세포들과 분비물들을 포함하는 시료들에서 최상으로 검출된다. 일 실시예에서, 바이러스 항원들의 직접적인 검출 및/또는 세포 배양액 내에서의 핵산 및/또는 바이러스 분리를 위한 시료들은 임상 징후들이 발생한 후 최초 3일 동안에 채집된다. 수많은 유형의 시료들이 비강 면봉, 비인두 면봉, 비인두 흡인물, 비강 세척물과 인후 면봉을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는 상기도의 바이러스 감염을 진단하기에 적절하다. 면봉 이외에, 조직이나 혈청 표본들을 채집할 수 있으며, 침습 절차들도 실시할 수 있다.
- [0193] 일 실시예에서, 호흡기 시료들을 채집하여 1 내지 5 ml의 바이러스 수송 배지 내에 담겨 수송된다. 광범위한 바이러스들의 채집에 만족할 만한 수많은 배지들은 상용 구입가능하다. 임상 시료들이 수송 배지에 첨가된다. 비강 또는 비인두 면봉들도 바이러스 수송 배지 내에 담겨서 수송될 수 있다. 수송 배지의 일례는 10 gm의 송아지 주입 육즙(infusion broth)과 2 gm의 우 알부민 분획(bovine albumin fraction) V로서, 살균된 증류수에 첨가되어 400 m로 된다. 0.8 ml 젠타마이신 황산염 용액(50 mg/ml)와 3.2 ml 암포테리신 B(250 µg/ml)과 같은 항생제들도 첨가될 수 있다. 상기 배지는 바람직하게는 여과법에 의하여 살균된다. 살균 식염수(0.85 % NaCl)과 같은 비강 세척물들도 호흡기 바이러스들의 시료 채집에 사용될 수 있다.
- [0194] 일 실시예에서, 임상 징후들이 발병한 직후 및 바람직하게는 7일 이하의 기간에서 급성기 동물로부터 채취한 전형 1 내지 5 ml의 양으로 혈청이 채집된다. 예를 들어 징후 발생 후 약 14일이 지난 시점의 회복기에 있는 혈청 시료도 채집될 수 있다. 혈청 시료들은 중성화 시험에서의 호흡기 바이러스들에 대항하는 항체들의 검출에 유용할 수 있다.
- [0195] 몇몇 예들에서, 일정 기간의 시간에 걸쳐서(예컨대, 일당 1회, 주당 1회, 월당 1회, 2년에 1회 또는 매년) 개별 동물들로부터 표본들이 채집될 수 있다. 일정 시간에 걸쳐서 개별 동물로부터 수많은 표본들을 획득하면 조기 검출의 결과들을 확인하기 위하여 사용되고/되거나 특이적인 처리, 예컨대, 선별된 치료 약물들의 반응이나 내

성을 동정하기 위하여 사용될 수 있다.

- [0196] 본 발명의 방법들은 동물로부터 유래한 시험 표본에서의 하나 이상의 병리학적 작용제들의 존재 및 각각의 병리학적 작용제의 수준을 검출하기 위하여 사용될 수 있다. 효소 결합 면역흡수 분석법(ELISA), 간접 형광 항체(IFA) 시험법, 적혈구응집반응, 적혈구응집반응 억제(HI) 분석법 및 웨스턴 블롯(Western blot)을 포함하는 항체 분석법들을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는 병원성 작용제를 검출하는 임의의 방법이 사용될 수 있다. 알려진 세포-배양 방법들도 이용될 수 있다. 세포 배양액의 면역형광법 또는 세포 배양 배지(상청액)의 HI 분석법을 이용하여 양성 배양액이 더 동정될 수 있다.
- [0197] 또한, 핵산(DNA 또는 RNA)이나 단백질을 검출하는 방법들이 이용될 수 있다. 그러한 방법들은 폴리머라제 연쇄반응(PCR), 역전사효소(RT) PCR 시험들 및 실시간 시험들 및 정량적 뉴클레아제 보호 분석법들을 포함하지만 여기에 한정되지 않는다. 이러한 분석법들을 실행하는 데 이용될 수 있는 상용 구입가능한 시험 키트들이 있다. 예를 들어, QIAGEN(Valencia, CA)은 1 단계 RT-PCR 키트와 바이러스 RNA 추출 키트를 판매한다.
- [0198] 일 실시예에서, 상기 방법은 본 발명의 바이러스나 바이러스 단백질에 특이적인 항체를 이용한다. 특이적인 일 실시예에서, 본 발명의 바이러스의 HA 단백질에 특이적인 항체가 이용된다. 다른 실시예에서, 본 발명의 바이러스의 NP 단백질에 특이적인 항체가 이용된다. 비강 또는 비인두 영역으로부터 유래한 적절한 표본은 동물로부터 구해지며 바이러스나 바이러스 단백질은 그것으로부터 분리된다. 상기 바이러스 구성요소들은 이후 본 발명의 바이러스의 HA나 NP와 같은 단백질에 특이적인 항체의 결합 여부에 대하여 스크리닝된다. 다른 실시예에서, 혈청 표본(또는 표본을 포함하는 다른 항체)이 동물로부터 구해지며 본 발명의 바이러스의 단백질에 결합하는 항체의 존재 여부에 대하여 혈청이 스크리닝된다. 예를 들어, 상기 플레이트 벽들이 HA 및/또는 NP 단백질을 가지거나 그 벽에 그것들의 펩티드 단편이 부착된 곳에 ELISA 분석법이 실시될 수 있다. 이후 상기 플레이트 벽이 시험 동물로부터 유래한 혈청이나 항체와 접촉하게 된다. 동물 내에서 HA 및/또는 NP 단백질과 특이적으로 결합하는 항체의 존재는 상기 시험 동물이 감염되거나 본 발명의 인플루엔자 바이러스와 감염되었음을 나타내는 것이다.
- [0199] 일 실시예에서, 병리학적 작용제의 존재는 생물학적 표본 내에서 상기 작용제에 대항하는 항체들의 존재 또는 부재를 결정하여 검출된다. 항체들이 혈액 시험에서 검출될 수 있기 전에 동물이 감염된 이후 어느 정도의 시간(예컨대, 몇 개월)이 걸릴 수 있다. 일단 형성되면, 항체들은 심지어 질병을 치료한 이후, 보통 수년 동안 지속한다. 개 인플루엔자 A에 대한 항체들을 찾아도 그 감염이 최근에 일어난 것인지 과거의 어느 때에 있었는지를 드러내지 못할 수 있다.
- [0200] 항체 시험은 유체(들) 상에 실시될 수도 있다. 항체 분석법은 효소 결합 면역흡수 분석법(ELISA), 간접 형광 항체(IFA) 시험법 및 웨스턴 블롯을 포함한다. 바람직하게는, 예를 들어 ELISA나 IFA와 같은 다중 분석법을 이용한 이후에 웨스턴 블롯을 이용하여 항체 시험이 실시된다. ELISA는 IFA보다 더 신뢰할만하고 정확한 분석법으로 여겨지지만, ELISA를 이용할 수 없으면 IFA가 이용될 수 있다. 상기 웨스턴 블롯 시험(좀더 특이적인 시험)은 특히, ELISA나 IFA 분석법에서 양성이나 경계 양성(불확실)으로 검사된 것들과 같은 모든 동물들 내에서 실시될 수도 있다.
- [0201] 인플루엔자 바이러스 검출에 사용될 수 있는 다른 항체-기반 시험들은 적혈구응집반응 억제 분석법들을 포함한다. 적혈구응집반응 활성은 기술된 바와 같이(Burleson *et al.*, 1992)와 Kendal *et al.*, 1982) 닭이나 칠면조 적혈구 세포들을 사용하여 동물로부터 유래한 생물학적 표본 내에서 검출될 수 있다. 일 실시예에서, 본 발명의 인플루엔자 또는 HA 단백질이나 펩티드는 혈청 또는 항체를 포함하는 시험 표본과 접촉된다. 이후 새와 같은 동물로부터 유래한 적혈구 세포들(RBC)이 첨가된다. HA에 대한 항체가 존재한다면, 그 RBC는 응집하지 않을 것이다. HA에 대한 항체가 존재하지 않으면, 그 RBC는 HA가 존재시에 응집할 것이다. 표준 적혈구응집반응 억제 분석법들에 대한 변형 및 수정은 업계에 알려져 있으며 본 발명의 범위 내에서 고려된다.
- [0202] 동물 감염은 비강 또는 비인두 면봉과 같은 표본으로부터 바이러스의 분리에 의하여 결정될 수도 있다. 바이러스 분리는 세포 배양 및 난자 접종을 포함하는 표준 방법들을 이용하여 바이러스 분리가 실시될 수 있다.
- [0203] 다른 실시예에서, 핵산-계열 분석법은 본 발명의 바이러스의 검출을 위하여 이용될 수 있다. 일 실시예에서, 핵산 표본은 동물로부터 구해지며 상기 핵산 표본은 본 발명의 인플루엔자 바이러스에 특이적인 서열을 포함한다면 증폭 생성물을 발생시킬 프라이머들을 사용한 PCR을 거치게 된다. 특이적인 일 실시예에서, RT-PCR은 피검체 바이러스에 대한 분석법에 이용된다. 예시적인 일 실시예에서, 실시간 RT-PCR은 본 발명의 인플루엔자 바이러스에 대한 분석에 이용된다. PCR, RT-PCR 및 실시간 RT-PCR 방법들은 업계에 알려져 있으며 U.S. Patent Nos.

4,683,202; 4,683,195; 4,800,159; 4,965,188; 5,994,056; 6,814,934; 및 Saiki *et al.* (1985); Sambrook *et al.* (1989); Lee *et al.* (1993); 및 Livak *et al.* (1995)에 기술되어 있다. 일 실시예에서, 상기 PCR 분석법은 인플루엔자 매트릭스(MA) 유전자 및/또는 HA 유전자에 특이적인 올리고뉴클레오타이드들을 사용한다. 증폭 생성물은 상기 생성물이 본 발명의 인플루엔자 바이러스의 서열을 가지는지의 여부를 결정하기 위하여 서열화될 수도 있다. 다른 핵산 기반 분석법들은 본 발명의 바이러스에 의한 바이러스 감염의 검출과 진단에 이용될 수 있으며 그러한 분석법들은 본 발명의 범위 내에서 고려된다. 일 실시예에서, 핵산을 포함하는 표본은 전진 및 역전사 프라이머들이 바이러스 폴리뉴클레오타이드나 유전자 서열에 특이적인 그러한 프라이머들을 사용하는 PCR-기반 증폭을 거치게 된다. 만약 표본 내의 핵산이 RNA이라면, RT-PCR이 실시될 수 있다. 실시간 PCR에 대하여, 검출성 프로브가 프라이머들과 이용된다. 순환하는 수많은 인플루엔자 바이러스들의 적혈구응집소(HA) 유전자에 특이적인 프라이머 세트들이 알려져 있으며, 계속적으로 개발중에 있다. 상기 인플루엔자 바이러스 게놈은 단일-가닥 RNA이며 DNA 카피(cDNA)는 역전사(RT) 폴리머라제를 사용하여 제작되어야 한다. 예를 들어, RT-PCR을 이용하는 RNA 게놈의 증폭은 통상적으로 인플루엔자 A 아형들의 알려진 HA 서열과 뉴라미니다제(NM)-1을 기반으로 설계된 올리고뉴클레오타이드 프라이머들의 쌍을 필요로한다. 상기 프라이머들은 유일한 바이러스 아형의 RNA를 특이적으로 증폭시키도록 프라이머들이 선별될 수 있다. 아형-특이적 프로이머들을 이용하여 발생하는 DNA들은 순서결정과 같은 분자 유전자 기법들에 의하여 더 분석될 수 있다. 상기 시험은 바람직하게는 양성 대조로 실행되거나 생성물들이 순서결과 알려진 서열들과의 비교에 의하여 확인된다. 표적 PCR 생성물들의 부재(즉, "음성" 결과)는 바이러스의 존재를 배제하지 않을 수 있다. 이후 임상 면봉들이나 감염된 세포 배양액들 중 어느 하나로부터 몇 시간 이내에 결과들을 낼 수 얻을 수 있다. 인플루엔자 A 바이러스에 대한 PCR과 RT-PCR 시험법들은 Fouchier *et al.*, 2000과 Maertzdorf *et al.*, 2004에 의하여 기술되어 있다.

[0204] 당해 발명은 본 발명의 바이러스에 대하여 항바이러스 활성을 가지는 화합물들이나 약물들에 대한 스크리닝하는 방법들에 관한 것이기도 하다. 일 실시예에서, 본 발명의 바이러스에 감염된 세포들은 시험 화합물이나 약물과 접촉된다. 접촉 이후의 바이러스 또는 바이러스 활성의 양은 이후에 측정된다. 항바이러스 활성을 보이는 그러한 화합물들이나 약물들은 더 평가될 수 있도록 선별될 수 있다.

[0205] 당해 발명은 본 발명의 인플루엔자 바이러스에 감염된 분리된 세포들에 관한 것이기도 하다. 일 실시예에서, 상기 세포는 개 신장 상피 세포들과 같은 개 세포이다.

[0206] 당해 발명은 본 발명의 폴리펩티드를 엔코딩하는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드와 형질전환되는 세포들에 관한 것이기도 하다. 바람직하게는, 폴리뉴클레오타이드 서열은 본 발명의 발현 구조체 내에 제공된다. 더 바람직하게는, 상기 발현 구조체는 본 발명의 실사가가능하게 연결된 폴리뉴클레오타이드의 세포 내에서 과잉발현을 제공한다. 일 실시예에서, 상기 세포는 서열 번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76이나 78 중 어느 하나의 것 또는 그 기능적 단편 또는 변이체 내에서 보이는 아미노산 서열을 엔코딩하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열로 형질전환된다. 특이적인 일 실시예에서, 상기 세포는 서열 번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76이나 78에서 보이는 아미노산 서열을 엔코딩하는 폴리뉴클레오타이드로 형질전환된 세포는 각각 서열 번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75나 77에서 보이는 뉴클레오타이드 서열 또는 서열 번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76이나 78중 어느 하나의 것에서 보이는 기능적 단편이나 변이체를 엔코딩하는 서열을 포함한다. 따라서, 당해 발명은 서열 번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75나 77 중 어느 하나의 것 또는 서열 번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75나 77 중 어느 하나의 것의 축퇴 변이체를 포함하는 단편 또는 변이체에서 보이는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 서열로 형질전환된 세포들에 관한 것이다.

[0207] 상기 형질전환된 세포는 예를 들어, 원형질체들을 포함하는 식물 세포인 진핵 세포일 수 있거나 상기 형질전환된 세포는 예를 들어, *E. coli* 또는 *B. subtilis*와 같은 원핵 세포일 수 있다. 동물 세포들은 인간 세포, 포유류 세포, 부분적 개 세포, 조류 세포 및 곤충 세포를 포함한다. 식물 세포들은 쌍자엽, 단자엽 및 침엽수 세포를 포함하지만 여기에 한정되지 않는다.

[0208] 당해 발명은 본 발명의 바이러스 단백질 또는 폴리펩티드를 발현하고 생성시키는 형질전환 식물들을 포함하는 식물들에 관한 것이기도 하다. 식물, 식물 조직 및 본 발명의 폴리뉴클레오타이드로 형질전환된 식물 세포 또는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드를 포함하여 길러진 식물 세포는 본 발명에 의하여 고려된다. 바람직하게는, 본 발

명의 폴리뉴클레오티드는 식물, 식물 조직 또는 식물 세포 내에서 과잉발현된다. 식물들은 본 발명의 인플루엔자 백신 조성물들을 생성하는 데 사용될 수 있으며 상기 백신들은 상기 식물의 소모를 통하여 투여될 수 있다 (예를 들어, U.S. Patent Nos. 5,484,719 및 6,136,320 참조).

[0209] 당해 발명은 바이러스를 검출하거나 본 발명의 바이러스에 의한 감염을 진단하는 키트들에 관한 것이기도 하다. 일 실시예에서, 키트는 본 발명의 인플루엔자 바이러스 또는 그것의 항원 부분과 특이적으로 결합하는 본 발명의 항체를 포함한다. 다른 실시예에서, 키트는 본 발명의 하나 이상의 폴리펩티드들 또는 펩티드들을 포함한다. 특이적인 일 실시예에서, 상기 폴리펩티드들은 서열 번호: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 33, 34, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76이나 78 중 어느 하나의 것이나 그 기능적 및/또는 면역원성 단편 또는 변이체 내에서 보이는 아미노산 서열을 가진다. 다른 실시예에서, 키트는 본 발명의 하나 이상의 폴리뉴클레오티드들 또는 올리고뉴클레오티드들을 포함한다. 특이적인 일 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오티드들은 서열 번호: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75나 77 중 어느 하나의 것이나 그 단편 또는 변이체에서 보이는 뉴클레오티드 서열을 가진다. 키트는 하나 이상의 대조 항체, 대조 폴리펩티드 또는 펩티드 및/또는 대조 폴리뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드를 선택적으로 포함할 수 있다. 상기 키트의 항체, 폴리펩티드들, 펩티드들, 폴리뉴클레오티드들 및/또는 올리고뉴클레오티드들은 적절한 용기나 패키지로 제공될 수 있다.

[0210] 당해 발명은 인플루엔자 바이러스의 감염과 발병과정에 대한 모델로서 잡종견들의 이용에 관한 것이기도 하다. 일 실시예에서, 잡종견에게 본 발명의 개 인플루엔자 바이러스와 같은 인플루엔자 바이러스로 접종시킨다. 선택적으로, 상기 개에게 접종 이후에 치료제들을 투여할 수 있다. 상기 개는 바이러스로 접종되기 전에 인플루엔자 바이러스에 대항하는 면역 반응을 발생시키는 조성물이 투여되기도 한다. 조직, 혈액, 혈청 및 다른 생물학적 표본들은 접종 전후에 구해질 수 있으며, PCR, RT-PCR, 핵산 서열결정 및 면역조직화학을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는 업계에 알려진 방법들을 이용하여 바이러스의 존재와 조직의 발병과정에 대하여 시험될 수 있다.

[0211] 개 인플루엔자 바이러스 균주들("A/canine/Florida/43/2004"와 "A/canine/Florida/242/2003"으로 지정됨)은 2006년 10월 9일에 미국 미생물 보존 센터(American Type Culture Collection: ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108에 기탁되었다. 개 인플루엔자 바이러스 균주들("canine/Jax/05"와 "canine/Miami/05"로 지정됨)은 2006년 10월 17일에 미국 미생물 보존 센터(ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108에 기탁되었다. 당해 바이러스 균주들은 본 특허 출원이 37 CFR 1.14 및 35 U.S.C. 122 하에서 미국 특허청장에 의하여 특허권으로의 결정으로 계류하는 동안에 상기 배양물에 대한 접근이 가능할 수 있게 하는 조건 하에서 기탁되었다. 상기 기탁물은 당해 출원 또는 그 후속물의 부분들이 제출되는 국가들의 외국 특허법에 의하여 요청이 있는 경우에 이용가능할 수 있다. 그러나, 기탁물의 유용성은 정부의 조치에 의하여 부여되는 특허권의 훼손에 당해 발명을 실시하는 허가를 구성하지 않음을 이해하여야 한다.

[0212] 또한, 당해 바이러스 기탁물들은 미생물 기탁에 관한 부다페스트 조약의 조항에 따라 저장되고 공중에 이용가능하게 될 것이다, 즉, 기탁 표본이 제공되도록 가장 최근의 요청이 있는 후 적어도 5 년의 기간 동안, 그리고 임의의 경우에 기탁일 이후 적어도 30 년의 기간 동안 또는 배양물을 개시하도록 발행할 수 있는 임의의 특허의 강행가능한(enforceable) 기간 동안 생존가능하고 오염되지 않은 상태를 유지하는 데 필요한 모든 주의를 다하여 저장될 것이다. 상기 기탁자는 기탁의 상태로 인하여 요청받은 경우에 표본을 상기 기탁자가 제공하지 못한다면 상기 기탁물을 교체하는 의무를 인정한다. 당해 배양 기탁물의 공중으로의 유용성에 가해지는 모든 제한조치들은 이를 개시하는 특허의 양도가 있을 시에 변경할 수 없이 제거될 것이다.

[0213] 표 57은 canine/Florida/242/2003 분리체 뿐만 아니라 H3N8 말 분리체와 A/canine/Florida/43/2004로 확인된 개 인플루엔자 바이러스 적혈구응집소(또는 "HA"), 뉴라미니다제(또는 "NA") 및 핵단백질(NP) 유전자들로 엔코딩되는 아미노산 서열들 간의 유사성들을 예시하고 있다.

[0214] 여기에 개시된 임의의 실시예의 임의의 구성요소는 여기에 개시된 임의의 다른 구성요소 또는 실시예와 조합될 수 있으며 그러한 조합들은 본 발명의 범위 내에서 특이적으로 고려된다.

[0215] 여기에 언급되거나 인용된 모든 특허, 특허 출원, 가 출원 및 출간물들은 본 명세서의 명시적인 가르침과 모순되지 않는 정도로 모든 도면들과 표들을 포함하여 그대로 참고로 포함된다.

[0216] 예1 내지 6에 대한 물질들과 방법들

[0217] 그레이하운드의 혈액과 비강 면봉 채집

- [0218] 급성 및 회복중인 혈액 표본들은 호흡기 질병의 발병을 경험하는 경주장의 사육장들에 있는 임상적으로 병들거나 정상인 그레이하운드들로부터 경부 정맥 천자(jugular venipuncture)에 의하여 채집된다. 회복중인 표본들은 급성 표본 이후 4 내지 12 주에 채집되었다. 혈청을 채집하여 -80 °C에서 저장하였다. 비강 면봉들은 채집되고 목탄(Becton Dickinson Biosciences)과 함께 Amies 수송 배지 내에 두어 박테리아 분리 목적으로 제출 계류중에 있다.
- [0219] 그레이하운드들의 검사
- [0220] 플로리다의 한 경주장에서 2004년 1월에 발병하여 죽은 8 마리의 그레이하운드들 중 5 마리에 대하여 University of Florida College of Veterinary Medicine(UF CVM)의 Anatomic Pathology Service가 전체 검사를 실시하였다. 다른 개의 검사는 조직 병리학적 진단을 위해 UF CVM에 조직들이 제출된 상태로 한 개인 가축 병원에서 실시되었다. 조직들은 10 % 중성 완충된 포르말린에서 고정시켜, 파라핀에 넣어두고 5- μ m 절편들 조직 병리학적 진단을 위해 헤마톡실린과 에오신으로 염색하거나 상술한 바와 같이 조직병리화학을 위해 처리하였다. 고정되지 않은 조직들은 박테리아 배양용으로 제출되었고 또한 -80 °C에서 저장되었다.
- [0221] 개 바이러스 호흡기 병원체들에 대한 혈청학적 시험
- [0222] 짝을 이룬 급성과 회복중인 혈청 표본들은 개 홍역 바이러스, 아데노바이러스 유형 2 및 파라인플루엔자 바이러스에 대항하는 혈청 중화 분석을 위하여 Cornell University College of Veterinary Medicine의 Animal Health Diagnostic Laboratory(AHDL)에 제출되었다. 세포 배양액의 바이러스 감염을 억제하는 혈청의 마지막 희석으로 항체 역가들이 표시되었다. 급성 및 회복중 표본 사이에서 항체 역가가 4 배 이상의 증가로 정의된 혈청전환은 바이러스 감염을 나타내었다. 이러한 바이러스 병원체들에 대한 어떠한 혈청전환들도 검출되지 않았다.
- [0223] 개 박테리아 호흡기 병원체들에 대한 미생물 검정
- [0224] 짝을 이룬 비강 면봉들과 검사 조직들은 박테리아 분리와 동정을 위하여 UF CVM의 Diagnostic Clinical Microbiology/Parasitology/Serology Service에 제출되었다. 상기 표본들은 보르데텔라속(*Bordetella*) 중 (Regan-Lowe; Remel)과 마이코플라즈마(*Mycoplasma*) 중(Remel)에 선별적인 배지뿐만 아니라 비선별 배지 상에서 배양되었다. 모든 배양물들은 아무런 성장을 보고하지 않기 전인 21일 동안 두었다. 몇몇 그레이하운드들로부터 유래한 비강 면봉들도 박테리아 배양을 위하여 Kansas State University College of Veterinary Medicine의 Department of Diagnostic Medicine/Pathobiology에 제출되었다. 임상적으로 병든 것으로 검정된 70 마리 중에서, 보르데텔라 브론키셉티카(*Bordetella bronchiseptica*)는 개 1 마리의 비강으로부터 분리된 반면에, 마이코플라즈마(*Mycoplasma spp.*)는 33 마리 개들의 비강으로부터 채집되었다. 파스튜렐라 물토시다(*Pasteurella multocida*)는 화농성 비루가 있는 개들의 비강으로부터 흔히 채집되었다. 2004년 1월의 발병에서 죽은 개들 중 2 마리는 폐 검사에서 에스체리치아 콜리(*Escherichia Coli*)의 성장이 부족하였는데, 한 마리는 에스체리치아 콜리와 스트렙토코쿠스 카니스(*Streptococcus canis*)의 성장이 부족하였고 다른 한 마리는 수도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)와 효모의 성장이 부족하였다. 죽은 개들의 기관지나 폐로부터 보르데텔라 브론키셉티카도 마이코플라즈마도 분리되지 않았다.
- [0225] 검사 조직들로부터 바이러스 분리
- [0226] 동결된 조직들을 해동시켜 0.5 % 우 혈청 알부민(bovine serum albumin: BSA) 및 항생제들로 보충된 최소 기본 배지(MEM)의 10 부피들로 균질화시켰다(homogenized). 고체 파편들은 원심 분리법으로 제거되었고 상청액들이 배양 세포 및 10일 부화된 달걀들(10-day old embryonated chicken eggs)에 접종되었다.
- [0227] 죽은 그레이하운드들의 조직 균질체(homogenate)는 광범한 범위의 바이러스 병원체들의 복제를 지지하였던 다양한 세포 배양액들에 접종되었다. 세포 배양액들은 Vero(아프리카 녹색 원숭이 신장 상피 세포, ATCC No. CCL-81), A-72(개 중앙 섬유 아세포(CRL-1542)), HRT-18(인간 직장 상피 세포, CRL-11663), MDCK(개 신장 상피 세포, CCL-34), 제1 개 신장 상피 세포(primary canine kidney epithelial cells)(AHDL, Cornell University), 제1 개 폐 상피 세포(AHDL) 및 제 1 소 고환 세포(AHDL)를 포함한다. MDCK 및 HRT 세포들은 2.5 ug/ml TPCK-처리된 트립신(시그마)으로 보충된 MEM에서 배양되었다; 나머지 세포계들은 10 % 태아 송아지 혈청과 항생제들로 보충된 MEM에서 배양되었다. 세포들은 37 °C, 5 % 이산화탄소를 포함하는 습기찬 대기에서 25 cm² 플라스크들에서 성장되었다. 대조 배양액은 보충된 MEM으로 접종되었다. 상기 배양액들은 형태적 변화를 위해 매일 관찰되었고 접종 후 5 일째 되는 날에 수거되었다. 수거된 유체와 세포들은 원심 분리법에 의하여 맑게 되었고 최초 접종을 위해 서술된 바와 같이 신선한 세포들로 접종되었다; 블라인드 계대 접종(blind passage)이 2회 실시되었다. 맑게 된 상청액들에서 적혈구응집소 형성은 기술된 바와 같이 닭 또는 칠면조 적혈구 세포들을 이용하

여 측정되었다(Burleson *et al.*, 1992; Kendal *et al.*, 1982). 닭 배아에서의 바이러스 분리를 위해, 조직 균일체 0.1 mL이 요막낭에 접종되었고 35 °C에서 48 시간 동안 배양되었다. 블라인드 계대 접종 2회 후에, 상기 요막액에서의 적혈구응집소 활성은 기술된 바와 같이 측정되었다(Burleson *et al.*, 1992; Kendal *et al.*, 1982).

[0228] RT-PCR, 뉴클레오티드 서열결정 및 계통발생적 분석

[0229] 제조자 지시사항에 의하여 RNeasy 키트(Qiagen, Valencia, CA)를 이용하여 조직 배양 상청액 또는 요막액으로부터 전체 RNA가 추출되었다. 상기 전체 RNA(10 ng)는 제조자 지시사항에 의하여 1-단계 RT-PCR Kit(Qiagen, Valencia, CA)를 이용하여 cDNA로 역전사되었다. 상기 cDNA에서의 8 개 인플루엔자 바이러스 유전자들의 코딩 영역의 PCR 증폭은 보편적인 유전자-특이적 프라이머 세트들을 이용하여 상기에 기술된 바와 같이 실시되었다. 그 결과로 생긴 DNA 앰플리콘들(amplicons)이 사이클 서열화 염료 종결자 화학(ABI)을 이용하여 Applied Biosystems 3100 자동 DNA 시퀀서(sequencer) 상에서 자동 서열결정을 위한 주형으로 사용되었다. GCG Package[®] Version 10.0 (Accelrys)(Womble, 2000)을 이용하여 뉴클레오티드 서열들이 분석되었다. Phylogeny Inference Package[®] Version 3.5가 이용되어 계통 발생을 추정하였고 뉴클레오티드 서열들로부터 부스트랩(bootstrap) 수치들을 계산하였다(Felsenstein, 1989). 계통발생학적 트리들이 MEGA[®] 프로그램(Kumar *et al.*, 2004)에서 실행된 Tamura-Nei 감마(gamma)를 지닌 이웃-연결(neighbor-joining) 분석에 의해 발생된 계통발생학적 트리들과 비교되었으며 PAUP[®] 4.0 베타 프로그램(Sinauer Associates)에 의하여 확인되었다.

[0230] 개의 실험적 접종

[0231] 6 개월된 특이적 병원체가 없는 비글(beagle) 중 4 마리[2 마리는 수컷이고 2 마리는 암컷(Liberty Research)]를 사용하였다. 전혈 세포 계측/감별, 혈청 화학 패널 및 요검사를 포함한 물리적 검사 및 기본 혈액 검사를 실시하여 상기 동물들이 건강하다는 판정을 내렸다. 이들은 Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care가 공인한 BSL-2 향상된 시설에 함께 수용하였다. 기본 직장(rectal) 온도는 7일 동안 하루 2회씩 기록되었다. 상기 개들은 기관내관으로 삽관법(intubation)을 위해 프로포폴(propofol)(Diprivan[®] Zeneca Pharmaceuticals, 효과 발생에는 0.4 mg/신체 중량 kg)의 정맥 주입에 의해 마취되었다. 각각의 개에게 A/Canine/Florida/43/2004(Canine/FL/04)(H3N8) 바이러스의 총 $10^{6.6}$ 중간 조직 배양 전염성 투여량(median tissue culture infectious doses)(TCID₅₀)으로 접종시켰으며, 투여량의 절반은 기관내관을 통해 말단 기관(distal trachea)에 투여되었고, 나머지 절반은 도관(catheter)을 통해 깊은 비강 통로(deep nasal passage)에 투여되었다. 접종 후(복강 내 접종) 14일 동안 매일 2 회씩 물리적 검사 및 직장 온도 기록을 실시하였다. 접종 후 0, 3, 5, 7, 10 및 14일에 경부 정맥 천자에 의해 혈액 표본들(4 mL)이 채집되었다. 폴리에스테르 면봉(Fisher Scientific)으로 각각의 개로부터 비강 및 비인두 시료들을 복강 내 접종 후 0 내지 5, 7, 10 및 14일에 채집하였다. 상기 면봉들을 바이러스 수송 배지(Reme1)에 옮겨 넣어 -80 °C에 저장하였다. 검사를 위해 개 2 마리(1 마리는 수컷이고 1 마리는 암컷)를 복강 내 접종 후 5일에 Beuthanasia-D[®] 용액(5 kg 체중당 1 mL; Schering-Plough Animal Health Corp)을 정맥 접종에 의해 안락사 시켰고(euthanate) 나머지 2 마리는 14일 되는 날에 안락사시켰다. 조직학적인 분석을 위해 조직들을 기술된 바와 같이 처리하였다. 바이러스 배양을 위한 조직들은 -80 °C에서 저장되었다. 본 연구를 University of Florida Institutional Animal Care and Use Committee에서 승인하였다.

[0232] 실험적으로 접종된 개들로부터 바이러스 증식(virus shedding)

[0233] 원심 분리법에 의해 면봉 수송 배지를 정화시켜서 제조한 폐 균질물과 면봉 추출물들의 연속 희석물들이 0.5 % BSA 및 항체들로 보충된 MEM 내에 제공되었다. 6-웰(well) 조직 배양 플레이트들에 MDCK 세포들의 단일층들을 이용하여 플라크 시험법(plaque assay)이 기술된 바와 같이(Burleson *et al.*, 1992) 실시되었다. 접종된 세포 단일층들이 0.8 % 아가로스 및 1.5 ug/mL TPCK-트립신을 포함하는 보충된 MEM으로 덮여졌다. 고정시켜 크리스탈 바이올렛(crystal violet)으로 염색하기 전에 5 % 이산화탄소를 포함하는 습기찬 대기에서 37 °C의 온도로 72 시간 동안 세포가 배양되었다. 바이러스 농도는 조직 그램 당 또는 면봉 당 플라크 형성 단위(plaque forming units: PFU)로 표시되었다.

[0234] 면역조직화학(Immunohistochemistry)

- [0235] 그레이하운드 및 비글에서 파라핀을 제거하고 수분을 보충시킨 5- μ m 패 조직 절편들을 Bond-RiteTM 슬라이드 (Richard-Allan Scientific, Kalamazoo, MI) 상에 장착하고 프로테이나제 K(DakoCytomation, Carpinteria, CA)로 후속 처리하였고 이후 과산화효소 차단 시약(Dako[®] EnVisionTM Peroxidase Kit, Dako Corp.)을 사용하였다. 상기 절편들을 개 홍역 바이러스(VMRD, Inc.), 개 아데노바이러스 유형 2(VMRD, Inc.), 개 인플루엔자 바이러스(VMRD, Inc.) 또는 인플루엔자 A H3(Chemicon International, Inc.)에 단일 클론성 항체의 500:1 희석물로 상온에서 2 시간 동안 배양시켰다. 대조 비교는 동일한 절편들을 쥐 IgG(1 mg/mL, Serotec, Inc.)으로 배양 과정 및 단일 클론성 항체들을 정상적인 개 폐 절편들과의 배양 과정을 포함한다. 제 1 항체들로 처리한 후, 제조사 지시사항에 의하여 상기 절편들을 제 2 면역과산화효소 및 과산화효소 기질 시약들(Dako[®] EnVisionTM Peroxidase Kit, Dako Corp.)로 배양시켰다. 상기 절편들은 헤마톡실린(hematoxylin)으로 대비염색되었고, 클레리파이어(Clarifier) #2 및 블루잉 시약(Bluing Reagent)(Richard-Allan Scientific, Kalamazoo, MI)로 처리하였고, 탈수시키고, 커버슬립(coverslip)을 퍼마운트(Permount)(ProSciTech)로 도포하였다.
- [0236] 적혈구응집반응 억제(HI) 분석법.
- [0237] 혈청 표본들을 56 °C에서 60 분 동안 가열 비활성화(heat inactivation)시키기 전에 37 °C에서 16 시간 동안 수용체 파괴 효소(RDE, Denka)(1 part serum: 3 parts RDE)로 배양하였다. Influenza A/Canine/FL/04(H3N8) 바이러스는 37 °C에서 36 내지 48 시간 동안 MDCK 세포에서 성장시켰다. 바이러스 배양 상청액들을 수거하여, 원심 분리법으로 정화시키고 -80 °C에서 저장하였다. 상기 HI 분석법은 이전에 기술된 바와 같이(Kendal *et al.*, 1982) 실시되었다. 간단히 말해서, 25 μ l에 바이러스 4 개의 적혈구응집소 단위들이 마이크로역가 웰들(wells)에서 동일한 부피의 계열적으로 희석된 혈청에 첨가되었고 상온에서 30 분 동안 배양되었다. 동일한 부피의 0.5 % v/v 칠면조 적혈구들이 첨가되고 적혈구응집반응 역가들이 30 분 후에 눈으로 추정되었다. 종말점(endpoint) HI 역가는 적혈구응집반응을 완전히 억제하는 혈청의 최종 희석으로 정의된다. 혈청전환은 급성 및 회복중인 쌍을 이루는 표본들 사이의 HI 역가에서 4 배 이상 증가로 정의된다. 단일 표본의 혈청양성은 HI 항체 역가 $\geq$ 1:32로 정의된다.
- [0238] 미세중화(microneutralization: MN) 분석법.
- [0239] A/Canine/FL/04(H3N8)에 대한 혈청 항체 반응의 중성화는 개 혈청이 분석 전에 상기에서 기술된 바와 같이 RDE-처리되었던 점을 제외하고는 상기에서 기술된 바와 같이 MN 분석법에 의해 검출되었다. 종말점 역가는 바이러스의 100 TCID₅₀을 50 % 중성화시켰던 혈청의 최고 희석으로 정의된다. 혈청전환은 급성 및 회복중인 쌍을 이루는 표본들 사이의 MN 역가의 4-배 이상의 증가로 정의된다. 단일 표본의 혈청양성은 MN 역가 $\geq$ 1:80으로 정의된다.
- [0240] 하기는 본 발명을 실시하는 절차를 예시하는 예들이다. 이러한 예들은 한정적으로 해석되지 않아야된다. 달리 특별한 언급이 없으면 모든 백분율은 중량에 의한 것이고 모든 용매 혼합물 비율은 부피에 의한다.
- [0241] 예 1
- [0242] 2004년 1월에, 플로리다 경주장 2 개 사육장들과 이 사육장들에 개들을 공급하던 지역 농장에서 수용된 22 마리의 경주용 그레이하운드들에게서 호흡기 질병이 발생하였다. 각 사육장 건물에는 대략 60 마리의 개와 상기 농장에는 300 마리의 개들이 있었다. 상기 발병은 6-일간의 기간에 걸쳐 발생하였고, 이후 어떠한 새로운 발병 건도 확인되지 않았다. 상기 22 마리 개들 중 14 마리가 39.5 내지 41.5 °C의 열병을 앓았으며, 10 내지 14일 동안 경증으로 숨막힐 만큼의 기침을 하였으며 결국 회복하였다. 나머지 8 마리 중에서 6 마리의 겉으로 보기에 건강한 개들이 입과 코에서 출혈을 일으키며 돌연히 죽었다. 다른 2 마리는 입과 코에서 출혈을 시작한 지 24 시간 내에 급속한 악화로 인하여 안락사시켰다. 이들 개는 양쪽 모두 41 °C의 열병을 앓았다. 죽은 8 마리 중 4 마리는 사육장 건물에서 발생하였고 4 마리는 농장에서 발생하였다. 죽은 개들 중 50 퍼센트는 발병 한 지 3일에 발생하였다. 상기 22 마리는 태어난 지 17개월에서 4 살에 이르렀지만 73 %는 17 내지 33 개월 된 것이었다.
- [0243] 2 건의 임상 증세들은 차이가 뚜렷하였다: 초기 열병 이후 10 내지 14 일간의 기침 이후에 회복하였거나 호흡기에 출혈과 관련된 과급성(peracute) 사망(8 마리 개는 사망률 36 %). 치사(fatal)한 8 마리 건 중 6 마리에 대하여 검사를 실시하였다. 모든 개들에게 폐, 종격 및 흉막강에 광범한 출혈이 있었다. 기도를 조직학적으로 검사하면 폐출혈 이외에, 모든 개들이 기관염(tracheitis), 기관지염(bronchitis), 세기관지염(bronchiolitis) 및 화농성 기관지폐렴(suppurative bronchopneumonia)(도 3)을 앓은 것으로 드러났다. 이런 조직들에서 상피 내막 및 기도 루멘들은 호중구(neutrophil) 및 소식세포(microphage)들에 의해 침투되었다. 이러한 개들에서 준비

된 폐 균일체들은 바이러스 배양을 위해 광범위하게 원숭이, 인간, 소 및 개 세포계들에 접종되었다. 개 1 마리의 폐 균일체는 트립신이 존재한 곳에서 배양시킨 Madin-Derby 개 신장 상피 세포(MDCK)에 세포변형 효과를 유발시켰고, 상기 세포 배양 상층액은 닭 적혈구 세포들을 응집시켰다. 인플루엔자 A 형 바이러스의 예비적 증거는 인플루엔자 A 및 B 바이러스들의 핵단백질 검출을 위해 상용 ELISA 및 인플루엔자 A 바이러스들의 매트릭스 유전자에 특이적인 프라이머들을 이용한 PCR 분석에 의하여 제공되었다. 또한, 적혈구응집반응 활성은 인간 인플루엔자 A 아형 H1-H11 및 H13(표 3)에 특이적인 항혈청에 의해서가 아니라, 말 인플루엔자 A H3 아형에 기준 항혈청에 의해 억제된다. 바이러스의 분자적 특성을 특성화하기 위하여, 우리는 바이러스 게놈의 8개의 상기 RNA 세그먼트들의 뉴클레오타이드 서열들을 결정하였다. 알려진 인플루엔자 바이러스와의 서열 비교 및 계통발생적 분석을 통해 개 분리체(isolate) 8개 유전자들은 현대 말 인플루엔자 A(H3N8) 바이러스로부터 유래한 것과 매우 유사하며 96 내지 97 % 이상의 서열 동일성을 공유하는 것으로 나타났다(도 1 A, 표 4). 이에 비하여, 조류, 돼지 및 인간 인플루엔자 A 분리체들로부터 유래한 대표적인 유전자들은 개 분리체와 94 % 이하의 동일성을 가졌다(표 4). 이러한 데이터는 개 분리체 A/Canine/Florida/43/04(Canine/FL/04)를 말 인플루엔자 바이러스들의 현대적 혈근(lineage)과 밀접하게 관련된 인플루엔자 A H3N8 바이러스로 확인하였다. 개 분리체의 모든 유전자들은 말 인플루엔자 바이러스 기시(origin)였기 때문에, 우리는 말 인플루엔자 바이러스의 전체 게놈이 개에게 전해졌다는 결론을 내렸다.

[0244] 예 2

[0245] 그레이하운드들에게서 임상 및 병리적 관찰에 Canine/FL/04의 역할을 조사하기 위하여, 우리는 인플루엔자 A H3에 단일 클론성 항체를 이용하여 폐 조직들에 대한 면역조직화학적 염색(IHC)을 실시하였다. 바이러스 H3 항원은 기관지 및 세기관지 상피 세포, 기관지 샘 상피 세포 및 기도 루멘들과 폐포강(alveolar space)들에서의 대식 세포(macrophage)들의 세포질에서 일관되게 검출되었다(도 2a). 이러한 데이터는 많은 개들에서 H3 아형의 인플루엔자 바이러스로 폐 감염의 진단을 지지한다.

[0246] 예 3

[0247] 호흡기 질병 발병의 병인에 Canine/FL/04-유사 바이러스의 포함 여부를 결정하기 위해, 우리는 11 마리의 병든 개들과 적혈구응집반응 억제(HI) 및 미세중화(MN)에 의한 16 건의 무증세반응 접촉으로부터 쌍을 이루는 급성 및 회복중인 혈청들을 분석하였다. 급성에서 회복중인 상태로 Canine/FL/04에 항체 역가의 4-배 증가로 정의된 혈청전환은 양쪽 분석법들에서 11 마리의 병든 개들 중 8 마리에서(73 %) 발생하였다(표 1). 혈청전환은 HI 분석법에서는 16 건의 무증세반응 접촉 중 6 건(38 %)에서 발생하였던 반면에, MN 분석법에서는 16 건 중 8 건(50 %)이 혈청전환되었다(표 1). 상기 혈청전환 데이터는 대부분의 동물들에서 호흡기 질병의 시작과 일시적으로 일치하는 Canine/FL/04 유사 바이러스로 개들이 감염되었음을 실증하였다. 단일 혈청 표본들은 병든 개들과 함께 수용된 46 마리의 다른 무증세반응 개들로부터 발병이 일어난 지 3 개월 후에 채집되었다. 이들 중에, 43 마리(93 %)는 양쪽 시험법들 모두에서 혈청양성이 되었다. 전체 73 마리의 시험된 개체군에 대해서, 병든 개의 82 %(9/11) 및 건강한 접촉군의 95 %(59/62)를 포함하여 93 %가 혈청양성이었다. 호흡기 질병의 병력이 없는 개들에게서 높은 혈청학적발현율(seroprevalence)은 대부분의 개 인플루엔자 바이러스에의 감염은 무증상(subclinical)이며 개들 사이에서 바이러스가 효과적으로 퍼지는 것을 나타낸다. 무증상 감염이 바이러스의 유포에 공헌하는지의 여부는 알려져 있지 않다.

[0248] 예 4

[0249] 개들을 감염시키는 Canine/FL/04 바이러스의 능력을 좀 더 잘 이해하기 위하여, 6 개월된 목적-번식시킨(purpose-bred) 4 마리의 비글종들에게 $10^{6.6}$ 중간 조직 배양 전염성 투여량(TCID₅₀)으로 기관 내 및 비강 내 경로에 의해 각각 접종시켰다. 모든 개들은 접종 후(복강 내 접종) 최초 2일 동안 열병(직장 온도 $\geq 39^{\circ}\text{C}$)으로 발전하였지만, 아무도 14일의 관찰 기간에 걸쳐서 기침 또는 비루와 같은 호흡기 증후군들을 보이지 않았다. 비강 및 비인두 면봉들에서의 바이러스 정량화에 의해 바이러스 증식이 검사되었다. 4마리 개들 중 2 마리만 검출할 수 있는 만큼의 바이러스 양을 증식하였다. 1 마리 개는 복강 내 접종 후 1일 및 2일에 바이러스를 증식한 반면에(면봉 당 1.0-2.5 log₁₀ PFU) 다른 1 마리는 접종 후 연속 4일 동안 바이러스를 증식하였다. 접종 후 5일에 2 마리를 검사하여 괴사(necrotizing) 및 그레이하운드들에서의 자발성 질병에 발견되는 것과 유사한 과형성 기관염(hyperplastic tracheitis), 기관지염 및 세기관지염을 가진 것을 드러냈지만 폐 출혈 또는 기관지폐렴(bronchopneumonia)은 없었다. 바이러스 H3 항원은 면역조직화학적 염색(IHC)에 의해 기관지, 세기관지 및 기관지 샘들의 상피 세포의 세포질에서 검출되었다(도 2b). 감염성 바이러스는 상기 개들 중 한 마리의 폐 조직으로

부터 회수되었다. 복강 내 접종 후 14일에 남아있는 2 마리 개들을 검사하면 호흡기 조직에서 최소한의 조직학적인 변화를 보였고, IHC에 의한 어떠한 바이러스 H3 항원도 없었고, 폐 균질체로부터 바이러스의 어떠한 회수도 없었다. 복강 내 접종 후 7일까지 MN 분석법에서 이러한 2 마리 개들의 혈청전환이 검출되었고, 14일까지 항체 역가에서 2 내지 3 배 증가가 더 있었다. 이러한 결과는 발열 반응(febrile response), 폐 유조직에서의 바이러스 항원 및 감염성 바이러스의 존재, 인플루엔자에 대표적인 조직병리학적 소견(findings) 및 혈청전환에 의해 명시된 바와 같이 개들이 Canine/FL/04에의 감염에 감수성이 강함을 입증하였다. 실험적으로 접종된 비글들에게서 심각한 질병 및 사망이 재현되지 않았다는 사실은 자연적으로 감염된 그레이하ound의 많은 비율은 무증상적이라는 이유로 인해 그리 놀랄 일은 아니다.

예 5

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

예 6

2004년 6월에서 8월까지, 플로리다, 텍사스, 알라바마, 알칸사스, 웨스트 버지니아 및 켄자스 주의 14 개 경주장들의 경주용 그레이하ound 수천 마리들에서 호흡기 질병 발병이 있었다.

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

우리는 플로리다의 4개 경주장에 있던 94 마리의 개들로부터 짝을 이룬 급성 및 회복중인 혈청들을 채집하였다: 그 중 56 %는 Canine/FL/04에 항체 역가가 4-배 이상 증가하였고, 100 %가 혈청양성이었다(표 6). 웨스트 버지니아와 켄자스의 29 마리 개들로부터 유래한 회복중인 혈청도 Canine/FL/04에 항체들을 가졌다. 우리는 텍사스의 한 경주장에서 출혈성 기관지폐렴으로 죽은 그레이하ound의 폐로부터 인플루엔자 A(H3N8) 바이러스를 분리하였다. A/Canine/Texas/1/2004(Canine/TX/04)이라 칭한 본 분리체의 전체 게놈을 서열 분석하면 Canine/FL/04와 99 % 이상 동일성이 있음이 드러났다. 경주용 그레이하ound들 사이에 널리 퍼진 감염의 실질적인 혈청학적 증거와 함께 13 개월의 기간에 걸쳐 치명적인 건들 및 다른 지리적 위치로부터 밀접하게 관련된 인플루엔자 바이러스들을 3 가지 분리할 수 있었던 것은 개 개체군에서 Canine/FL04-유사 바이러스의 지속적인 유포가 있었음을 제시하였다.

Canine/FL/03, Canine/FL/04 및 Canine/TX/04의 HA 유전자들을 계통발생학적으로 분석하면 2002년과 2003년에 분리된 말 바이러스들의 현대적인 H3 유전자들과는 확연히 구별되는 강한 부트스트랩 지지체와 함께 단계군(monophyletic group)을 형성하는 것을 보였다(도 1b). 계통발생적 분석과 다른 7 개의 게노믹 세그먼트들의 짝을 지으며(pairwise) 뉴클레오타이드 서열을 비교하면 개 유전자들을 말 바이러스 혈군(데이터 미도시 및 표 4)과 가장 밀접하게 관련된 뚜렷한 아-혈군(sub-lineage)으로 나누어짐(segregation)을 지지하였다. 말 인플루엔자로 부터 분리된 단계군으로 개 인플루엔자 유전자들을 무리지음(clustering)도 상기 HA에서 4개의 부호 아미노산(signature amino acid) 변화가 존재한다는 사실로 지지되기도 한다. 2003년과 2004년의 혈청학적 결과들과 함께, 이러한 데이터는 말에서 개로 단일 바이러스가 전염되어 그레이하ound 개체군에 후속적으로 바이러스가 수평적으로 퍼지게 되는 사건과 일치한다. 그러나, 확인되지 않은 병원균 보유자 종들(reservoir species)로부터 이러한 독특한 혈군을 가지는 인플루엔자 바이러스의 반복 도입은 비록 그럴 것 같지 않다 하더라도 공식적으

로 배제될 수 없다.

[0257]

상기 바이러스 HA는 인플루엔자 바이러스의 숙주 종 특이성의 중요한 결정 인자이다(Suzuki *et al.*, 2000). 개 숙주에의 적응과 연관될 수 있는 HA 내에서의 잔기들을 확인하기 위하여, 우리는 개 HA들의 추론된 아미노산 서열을 현대 말 바이러스들의 서열들과 비교하였다. 4개의 아미노산 변화는 상기 말과 개 성숙한 HA 보존 (consensus) 아미노산 서열들을 구별짓는다: N83S, W222L, I328T 및 N483T(표 2 참조). 상기 개 바이러스들은 보존 말 서열들과 비교시에 아미노산 결실을 가진다. 그러므로, HA 말 서열에서의 아미노산 위치 7은 HA 개 서열에서의 위치 6이고, HA 말 서열에서의 아미노산 위치 29는 HA 개 서열에서의 위치 28이고, HA 말 서열에서의 위치 83은 HA 개 서열에서의 위치 82이다. 따라서, 상기 4개의 치환된 아미노산들은 서열 번호: 33 및 서열 번호: 34에 보이는 아미노산 서열의 위치 82, 221, 327 및 482에 있다. 보존 서열 위치 83에서 아스파라긴을 세린으로 치환하면 다양한 극성 잔기들이 다른 종으로부터 유래한 H3 분자들에서 발견되기 때문에 알려지지 않은 기능적 중요성의 변화이다. 상기 H3 HA의 쪼개짐 사이트 근처의 보존 서열 위치 328에서의 엄격히 보존된 이소류신은 트레오닌으로 대체된다. 발병과정에서의 숙주 프로테아제들에 의한 HA 쪼개짐의 중추적인 역할은 이러한 변화가 연구를 더 할 가치가 있음을 암시한다. 보존 서열 위치 222에서 트립토판을 류신으로 대체하면 이는 수용체 기능을 조절할 수 있는 시알릭산 구속 포켓(pocket)에 인접한 비-보존적 변화를 표현하기 때문에 상당히 주목할 만하다(Weis *et al.*, 1988). 위치 222에서의 류신은 류신이 일반적으로 HA, H8, H9 및 H12 HA 아형들에서 발견되기 때문에 개 H3 HA에 특유하지 않다는 사실은 흥미롭다(Nobusawa *et al.*, 1991; Kovacova *et al.*, 2002). 상기 류신 치환은 돼지를 아형 H4(Karasin *et al.*, 2000) 및 인간과 돼지를 아형 H9(Peirisi *et al.*, 1999) 바이러스들로 감염시킨 사례가 보고되었기 때문에 포유류 숙주들에 바이러스 특이성과 더욱 융화적일 수 있다. 보존 서열 위치 483에서 아스파라긴을 트레오닌으로 치환하면 모든 HA 아형들이 보존되는 HA2 서브유닛에서의 당부가(glycosylation) 사이트가 손실되게 되었다(Wagner *et al.*, 2002). 말 바이러스의 개로의 적응(adaptation)을 위한 HA에서의 이러한 아미노산 변화들의 중요성이 여전히 결정되어야 할 것으로 남아있다 할지라도, 유사한 아미노산 변화가 종간 전달(interspecies transfer)과 관련하여 이전에 관찰되었다(Vines *et al.*, 1998; Matrosovich *et al.*, 2000). 본 발명의 다른 인플루엔자 바이러스 단백질들과 말 보존 서열 사이의 아미노산 차이는 표 19 내지 25에서 보여진다.

[0258]

경주용 그레이하운드들을 최초로 감염시켰던 말 인플루엔자 바이러스의 원천(source)은 여전히 확실하지 않다. 그레이하운드 경주장에서의 사육장들은 말 이나 말 경주장 근처에 위치하지 않는데, 이는 그레이하운드들과 발산(shedding) 말들 사이의 접촉은 2004년에 다른 주들에서의 다발적인 발병에 대한 충분한 설명이 되지 않는다는 것을 암시한다. 말 바이러스에 노출되는 잠재적인 원천은 말고기를 그레이하운드들에게 먹이는 것으로, 그레이하운드의 먹이가 인플루엔자를 옮길 수 있는 말들을 포함하여 죽은 고기를 가공하는 식품 가공 공장들(packaging houses)에서 공급한 날고기로 보충된다. 이러한 방식의 감염에 대한 선례들은 감염된 닭고기 먹은 돼지들과 동물원 고양이과 동물들에게로 H5N1 조류 인플루엔자 바이러스의 종간 전염 보고 사례들을 포함한다(Webster, 1998; Keawcharoen *et al.*, 2004; Kuiken *et al.*, 2004). 비록 이것이 말 인플루엔자를 개에게로 최초로 도입하는 그럴싸한 경로라고 할지라도, 최근에 다른 주들에서 수천 마리의 개들에게 다발적으로 인플루엔자가 발병한 사례들을 설명하지 못한다. 우리의 실험적인 접촉 연구는 비록 중간 정도의 역가라고 할지라도, 개의 비도와 비인두에 바이러스가 존재함을 실증하였다. 그러나, 이러한 결과들은 증식이 가능하며 큰 방울의 에어로졸, 비생체접촉매개물(fomites) 또는 직접적인 접촉 접촉에 의한 바이러스의 1:1 전염은 본 질병의 동물전염병학에 중요한 역할을 할 수 있을 것임을 나타낸다.

[0259]

전체 포유류 인플루엔자 바이러스의 관련되지 않은 포유 동물에로의 종간 전달은 흔치 않은 사례이다. 이전 연구에서는 인간 인플루엔자 A(H3N2) 바이러스들의 개에 대한 일시적인 감염의 제한된 혈청학적인 또는 바이러스학적인 증거를 제공했지만, 양쪽 모두를 제공하지는 않았다.(Nikitin *et al.*, 1972, Kibourne, *et al.*, 1975; Chang *et al.*, 1976; Houser *et al.*, 1980). 그러나, 개 숙주에는 지속적인 유행에 대한 증거는 없다. 비록 돼지 인플루엔자 바이러스가 돼지에게서 사람에게로 직접 전달의 기록이 잘 되어 있다 하더라도(Dacso *et al.*, 1984; Kimura *et al.*, 1998; Patriarca *et al.*, 1984; Top *et al.*, 1977), 돼지 바이러스의 인간 숙주에서의 적응에 대한 증거는 없다. 본 보고서에서, 우리는 전체 말 인플루엔자 A(H3N8) 바이러스의 다른 포유류 종인 돼지에게로 종간 전염에 대한 바이러스학적, 혈청학적 및 분자적 증거를 제공한다. 미국 여러 주들에서의 개 감염의 혈청학적 확인과 결부시켜 개 바이러스 HA에서의 독특한 아미노산 치환은 상기 바이러스의 개 숙주에의 적응을 암시한다. 개는 인간의 제1 반려 동물이기 때문에, 이러한 소견은 공공 건강에 함축적 의미가 있다; 개는 신규한 인플루엔자 A 바이러스들의 인간에로의 전염에 새로운 원천을 제공할 수 있다.

표 1

[0260]

표 1. A/Canine/Florida/43/2004 (H3N8)에 대한 항체 반응.				
	병든 개(11) ^a		건강한 접촉(16) ^b	
반응	HI ^c	SN ^d	HI	SN
혈청 전환(%) ^e	73	73	38	50
혈청 양성(%) ^f	82	82	100	100
기하 평균 역가 ^g	329	424	268	431

[0261]

^a 질병의 임상 징후가 있는 개들의 숫자.

[0262]

^b 임상적으로 병든 개들과 접촉하여 수용된 무증세반응 개들의 숫자.

[0263]

^c A/Canine/Florida/43/2004 바이러스를 이용한 적혈구응집소-억제(HI) 분석법.

[0264]

^d A/Canine/Florida/43/2004 바이러스를 이용한 미세중화(MN) 분석법

[0265]

^e 급성과 회복중으로 찍지어진 혈청들에서 항체 역가가 적어도 4-배 증가한 개들의 백분율.

[0266]

^f 회복중인 혈청들에서 양성 항체 역가(HI 역가 ≥ 32 : MN 역가 ≥ 80)를 지닌 개들의 백분율.

[0267]

^g 회복중인 혈청들에 대한 기하 평균 항체 역가.

표 2

[0268]

표 2. 개와 말 H3 적혈구응집소들 사이의 아미노산 차이.				
말 H3 보존	Can/FL/03	Can/FL/04	Can/TX/04	잠재적 기능 중요성
G7 [*]	D	- [†]	-	오리와 인간 H3 HA 내에서 D도 발견됨
I29	-	M	M	I는 모든 종의 H3 HA들 내에서 보존된다
N83	S	S	S	다른 종의 H3 HA들 내의 이 지점에서 존재하는 다양한 극성 아미노산들
S92	-	N	-	N은 몇몇 오리 H3 HA들 내에서 존재한다
L118	-	-	V	L은 모든 H3 HA들 내에서 보존된다
W222	L	L	L	W는 모든 종들의 H3 HA들 대부분에서 보존된다; 수용체 결합 사이트 근처에서 위치한다
A272	V	A	V	V는 최근의 몇몇 말 분리체들에서 존재한다
I328	T	T	T	T는 모든 조류, 돼지 또는 인간 H3 HA들 내에서 엄격히 보존된다
N483	T	T	T	N은 모든 H3와 다른 HA 아형들 내에서 발생한다. 대체로 인해 당부가 사이트의 손실로 이어진다.
K541	-	R	-	염기성 아미노산 보존 변화

[0269]

*성숙한 H3 HA 내에서의 아미노산 잔기(한 글자 코드)와 위치. 상기 아미노산 코드는 다음과 같다: A=알라닌, D=아스파르트산, G=글리신, I=이소류신, K=라이신, L=류신, M=메티오닌, N=아스파라긴, R=아르기닌, S=세린, T=

트레오닌, V=발린, W=트립토판. [†]는 말 H3 보존 HA들로부터 아무런 변화가 없음을 나타낸다.

표 3

[0270]

표 3. 상이한 HA 아형들에 기준 항혈청에 의한 바이러스의 적혈구응집소 억제		
기준 항혈청	HA 특이성	HI 역가 ^a
Puerto Rico/8/34	H1	5
Swine/Iowa15/30	H1	5
Singapore/01/57	H2	5
Shanghai/11/87	H3 ^b	5
Equine/Miami/1/63	H3	160
Duck/Czechoslovakia/56	H4	5
Tern/South Africa/61	H5	5
Turkey/Massachusetts/65	H6	5
Fowl Plague/Dutch/27	H7	5
Fowl Plague/Rostock/34	H7	5
Equine/Prague/1/56	H7	5
Turkey/Ontario/6118/68	H8	5
Quail/Hong Kong/G1/97	H9 ^b	5
Chicken/Hong Kong/G9/97	H9 ^b	5
Chicken/Germany/49	H10	5
Duck/England/56	H11	5
Gull/Maryland/704/77	H13	5
정상인 양 혈청	-	5
정상인 흰 족제비 혈청	-	5

[0271]

^a개 #43으로부터 분리한 바이러스 분리체에 대한 적혈구응집소 억제 역가.

[0272]

^b다클론성 항혈청들은 흰 족제비들 내에서 생성된 반면에, 다른 모든 항혈청들은 양이나 염소들 내에서 생성되었다.

표 4

[0273]

표 4. 인플루엔자 A의 말, 조류, 돼지 및 인간 균주들에 대한 A/canine/플로리다/43/2004 (H3N8) 유전자들의 서열 상동성.				
유전자	말	조류	돼지	인간
PB2 DQ124147	96.9(98.7) ^a Eq/Kentucky/2/8 M73526	88.6(96.8) Mall/Alberta/98/85 AY633315	87.9(96.8) Sw/Ontario/ 01911-1/99 AF285892	86.2(96.4) PR/8/34 (HK/213/03) AF389115 (AY576381)
PB1 DQ124148	97.1(98.8) Eq/Tennessee/5/86 M25929	83.9(97.1) Ck/BritishColumbia/04 (Gull/Md/704/77) AY61675(M25933)	83.9(97.1) Sw/Korea/S109/04 (Sw/Saskatch/ 18789/02) AY790287 (AY619955)	83.9(97.1) WSN/33 (Sing/1/57) J02178 (M25924)
PA DQ124149	96.3(97.5) M26082 Eq/Tennessee/5/86	87.0(94.3) Ck/Chile/4591/02 (Ostrich/SA/09103/95) AY303660(AF508662)	84.3(94.6) Sw/Hong Kong/ 126/02 M26081	83.8(93.4) Taiwan/2/70 (Viet Nam/ 1203/04) AY210199 (AY818132)

HA(H3) DQ124190	97.4(97.1) Eq/FL/1/93 L39916	80.7(89.0) Dk/Norway/1/03 AJ841293	80.0(87.7) Sw/Ontario/42729a/01 AY619977	81.8(87.9) HK/1/68 AF3478176
NP DQ124150	96.6(97.9) Eq/Tennessee/5/86 M30758	87.9(95.1) Ck/Chile/176822/02 AY303658	85.4(93.5) Sw/Ontario/42729a/01 (Sw/Fujian/1/2003) AY619974 (AY747611)	84.7(93.0) HK/1073/99 (Hong Kong /538/97 AF2555742 (AF255751)
NA(N8) DQ124151	96.8(97.0) Eq/Tennessee/5/86 L06583	84.0(85.2) Dk/NJ/2000 L06583	na ^b	na ^b
M DQ124152	96.8(95.7) Eq/Tennessee/5/86 (Eq/Kentucky/92) M63529 (AF001683)	94.1(94.0) Tky/Mn/833/80 AF001683	93.7(93.5) Sw/Saskatchewan/ 18789/02 M63527	91.2(95.4) WSN/33 (Hong Kong/ 1073/99) J02177 (AJ278646)
NS DQ124153	97.5(95.7) Eq/Tn/5/86 (Eq/Kentucky/92) M80973 (AF001671)	92.0(90.4) Mal/NY/6750/78 M80945	91.1(89.1) Sw/China/8/78 (Sw/Korea/s452/04) M80968(AY790309)	91.4(90.0) Brevig Mission/1/18 AF323238

[0274] ^a상기 종들로부터 인플루엔자 바이러스 분리체들의 가장 상동적인 유전자에 대한 A/Canine/Florida/43/2004(H3N8) 유전자들의 퍼센트 뉴클레오티드와 아미노산(괄호 안) 서열 동일성, 이후 그것들의 Genbank 서열 데이터베이스 접수 번호가 뒤따른다.

[0275] ^b해당사항 없음: N8 뉴라미니다제는 인간이나 돼지 바이러스들 내에서는 보고되지 않았다.

표 5

[0276] 표 5. 1996년 부터 2003년까지 채집된 그레이하운드 혈청 내에서의 A/Canine/Florida/43/2004(H3N8)에 대한 항체 역가들.

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

[0277] ^a플로리다의 경주용 그레이하운드들로부터 채집한 혈청 표본의 년도.

[0278] ^b6 마리의 2003년도 혈청양성 개들에 대한 범위를 포함하여, 혈청양성 개들에 대한 미세중화 분석법 항체 역가들.

표 6

[0279] 표 6. 2004년 6월에 4 개의 플로리다 경주장에서 경주용 그레이하운드들의 A/Canine/Florida/43/2004(H3N8)에 대한 항체 반응.

반응	경주장 A	경주장 B	경주장 C	경주장 D
시험된 개들의 숫자 ^a	37	10	22	25

혈청전환(%) ^b	46	90	100	64
혈청양성(%) ^c	100	100	100	100
기하 평균 역가 ^d	401	512	290	446

[0280] ^aA/Canine/Florida/43/2004(H3N8)를 이용하여 HI에 의해 시험된 임상적으로 병든 개들의 숫자.

[0281] ^b급성과 회복중인 혈청들 사이에서 항체 역가가 4-배 이상 증가한 개들의 백분율.

[0282] ^c회복중인 혈청 내에서의 양성 항체 역가(HI 역가 > 16)를 지닌 개들의 백분율.

[0283] ^d회복중인 혈청에 대한 기하 평균 항체 역가.

[0284] 예 7-11에 대한 물질들과 방법들

[0285] 개 조직들

[0286] 북동 플로리다 주의 한 보호시설에서 인플루엔자가 발병하는 동안 2005년 4월/5월에 죽은 6 마리의 잡종 개들과 남서 플로리다 주의 한 수의과 진료소에서 인플루엔자가 발병하는 동안 2005년 5월에 죽은 한 마리의 애완용 요크셔 테리어(Yorkshire Terrier) 개에 대하여 University of Florida College of Veterinary Medicine의 Anatomic Pathology Service에서 검사를 실시하였다. 조직들은 파라핀에 담겨 있는 10 % 중성 완충 포르말린에 고정시키고, 5- μ m 썬 절편들을 조직 병리학적인 진단을 위해 헤마톡실린과 에오신으로 염색하였다. 고정되지 않은 조직들은 바이러스학적 분석을 할 때까지 -80 °C에서 저장되었다.

[0287] 개 조직 표본들로부터 RNA 추출

[0288] 상기 7 마리의 개들 각각으로부터 동결된 폐 조직들을 해동시켜 일회용 조직 분쇄기(Kendall, Lifeline Medical Inc., Danbury, CT)를 사용하여 0.5 % 우 혈청 알부민(BSA)과 항생제들(젠타마이신 및 시프로플록사신(ciprofloxacin))로 보충된 최소 기본 배지(MEM)에 균질화 시켰다. 전체 RNA를 제조자 지시사항에 의하여 상업적인 키트(RNeasy[®] Mini Kit, QIAGEN Inc., Valencia, CA)를 이용하여 추출하였고 완충 용액 60 μ l 최종 부피에 용리(elute)시켰다. 전체 RNA도 호흡기 질병 없는 개들로부터 채집된 폐 조직으로부터 추출되었다.

[0289] 실시간 RT-PCR

[0290] ROX를 수동적인 기준 염료(passive reference dye)(QIAGEN Inc., Valencia, CA)로 포함하는 QuantiTect Probe RT-PCR 키트를 이용하여 개 조직 표본들로부터 추출된 전체 RNA에 대하여 단일-단계 정량적 실시간 RT-PCR을 실시하였다. 간단히 말해서, 각각의 표본에 인플루엔자 A 서열들의 검출을 위해 2 개의 프라이머-프로브 세트들이 사용되었다(표 7). 하나의 프라이머-프로브 세트는 개 적혈구응집소(H3) 유전자 서열들에 선별적이었다. 나머지 프라이머-프로브 세트는 A형 인플루엔자 바이러스의 매트릭스(M) 유전자의 고도로 보존된 영역을 타겟팅한다. 각각의 실시간 RT-PCR 반응에 대하여, 추출된 전체 RNA 5 μ l를 2X QuantiTect[®] Probe RT-PCR Master Mix 12.5 μ l, QuantiTect[®] RT Mix 0.25 μ l, 전진 및 역전사 프라이머들(각각에 대해 0.4 μ M 최종 농도), 프로브(0.1 μ M 최종 농도) 및 RNA 가수분해효소 없는 물을 포함하여 최종 부피가 25 μ l되는 반응 혼합물에 첨가하였다. TaqMan[®] Ribosomal RNA Control Reagents(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 개 조직 표본들로부터 추출된 RNA의 존재 여부를 알아보기 위해 내생적 내적 대조 표준으로서 18S rRNA의 검출을 위해 제조자 지시사항에 의하여 사용하였다.

[0291] 정량적 일-단계 실시간 RT-PCR을 Mx3000P[®] QPCR System(Stratagene, La Jolla, CA)의 반응 혼합물 상에 실시하였다. 사이클링 조건들(cycling conditions)은 50 °C에서 30 분 동안 역전사 단계, 95 °C에서 15 분 동안 초기 변성화로 HotStarTaq DNA 중합효소를 활성화시키는 단계 및 40 사이클 순환을 위한 증폭을 포함한다. 각각의 증폭 사이클은 94 °C에서 15 초 동안 변성화 시키고 이후 60 °C에서 1 분 동안의 복구(annealing)/연장의 단계를 포함하였다. FAM(방출 파장(emission wavelength) 518 nm) 및 VIC(방출 파장 554 nm) 형광 신호들이 각 사이클의 종단(end)에 기록되었다. 역치 사이클(Ct)은 각각의 개별 실험에서 역치 형광을 1000에 맞추어서 결정되었다. Mx3000P[®] version 2.0 소프트웨어 프로그램(Stratagene, La Jolla, CA)을 이용하여 데이터 획득 및 분석

을 하였다. H3 또는 M 유전자에 대한 역치 사이클(Ct)이 호흡기 질병 없는 개로부터 유래한 폐 조직에 대한 역치 사이클보다 3 단위 더 작을 때 표본들은 인플루엔자 A 바이러스에 대해 양성이라고 여겨졌다. 상기 양성 대조 비교는 A/canine/FL/242/03(H3N8) 바이러스로부터 추출된 RNA의 증폭으로 구성되었다.

[0292] MDCK 세포들에서의 바이러스 분리

[0293] 상기 7 마리 개들의 각각으로부터 유래한 동결된 폐 조직들을 해동시켜 0.5 % 우 혈청 알부민(BSA) 및 항생제들(젠탄민 및 시프로플록사신)로 보충된 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM)의 10 부피들에 균일화시켰다. 원심 분리법으로 고체 파편들을 제거하였고 상청액들이 1 μ g/mL TPCK-처리된 트립신(Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO) 및 항생제들(젠탄마이신 및 시프로플록사신)로 보충된 DMEM에 배양된 Madin-Derby 개 신장(MDCK) 세포들에 접종되었다. 세포들은 37 °C, 5 % 이산화탄소를 포함하는 습기찬 대기에서 25 cm² 플라스크들에서 성장시켰다. 상기 배양액들은 형태적 변화 여부를 위해 매일 관찰되었고 접종 후 5 일째 되는 날에 수거되었다. 수거된 배양액들은 원심 분리법에 의하여 맑게 되었고 최초 접종을 위해 기술된 바와 같이 신선한 MDCK 세포들로 접종되었다: 적혈구응집반응 또는 RT-PCR에 의해 인플루엔자 바이러스의 증거를 보이지 않았던 표본들에 대해 추가로 계대 접종이 2회 실시되었다. 맑아진 상청액들에서 적혈구응집반응 활성은 이전에 기술된 바와 같이 0.5 % 칠면조 적혈구 세포를 사용하여 측정되었다(Burleson, F. et al., 1992; Kendal, P. et al., 1982). RT-PCR은 이하에 설명된 바와 같이 실시되었다.

[0294] 부화된 달걀에서의 바이러스 분리

[0295] MDCK 세포들의 접종을 위해 상기에서 서술된 바와 같이 동결된 폐 조직들로부터 균일체들이 제조되었다. 상기 균일체들(0.2 mL)은 10-일 부화된 달걀들의 요막낭에 접종되었다. 35 °C에서 48 시간 배양한 후에, 요막액을 수거하기 전에 상기 달걀들이 4 °C에서 하룻밤동안 냉장되었다. 맑게된 상청액들에서의 적혈구응집반응 활성은 이전에 기술된 바와 같이 0.5 % 칠면조 적혈구 세포들을 사용하여 측정되었다(Burleson, F. et al., 1992; Kendal, P. et al., 1982). RT-PCR은 하기에 기술된 바와 같이 실시되었다. 부화된 달걀들에서 2회 추가적인 계대 접종을 최초 접종 후 인플루엔자 바이러스의 증거를 보이지 않았던 표본들에 대해 실시하였다.

[0296] RT-PCR, 뉴클레오티드 서열화 및 계통발생적 분석

[0297] 바이러스 RNA는 제조자 지시사항에 의하여 QIAamp[®] Viral RNA Mini Kit(QIAGEN Inc., Valencia, CA)을 이용하여 MDCK 상청액 또는 요막액으로부터 추출되었다. 상기 바이러스 RNA는 제조자 지시사항에 의하여 QIAGEN[®] OneStep RT-PCR Kit(QIAGEN Inc., Valencia, CA)을 이용하여 cDNA에 역전사 되었다. 상기 cDNA에 있는 8 개의 인플루엔자 바이러스 유전자들의 코딩 영역의 PCR 증폭은 보편적인 유전자-특이적 프라이머 세트들(요청시에 프라이머 서열들을 이용할 수 있다)을 사용하여 이전에 서술된 바와 같이 실시되었다(Klimov, A. et al., 1992b). 그 결과로 생긴 DNA 앰플리콘들(amplicons)이 사이클 서열화 염료 종결자 화학(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 이용하여 ABI PRISM[®] 3100 자동 DNA 시퀀서(sequencer)에서 자동 서열결정을 위한 주형으로 사용되었다. 뉴클레오티드 서열들은 Lasergene 6 Package[®] (DNASTAR, Inc., Madison, WI)를 이용하여 분석되었다. PHYLIP Version 3.5[®] software program을 이용하여 계통발생을 추정하고 상기 뉴클레오티드 서열들로부터 나온 부트스트랩 수치들을 계산하였다(Felsenstein, J., 1989). 계통수들은 MEGA[®] program에서 실행된 Tamura-Nei 모델과의 이웃-연결 분석에 의해 생성된 계통수들과 비교되었고 PAUP[®] 4.0 Beta program에 의하여 확인되었다(Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA).

[0298] 적혈구응집반응 억제(HI) 시험법

[0299] 혈청 표본들을 56 °C에서 30 분 동안 가열 비활성화시키기 전에 37 °C에서 16 시간 동안 수용체 파괴 효소(receptor destroying enzyme)(RDE, DENKA SEIKEN Co., Ltd., Tokyo, Japan)(1 part serum: 3 parts RDE)와 함께 배양하였다. 인플루엔자 A/Canine/Jacksonville/05 (H3N8) 바이러스는 5 % 이산화탄소의 37 °C에서 72 시간 동안 MDCK 세포에서 성장되었다. 바이러스 배양 상청액들은 수거되고, 원심 분리법에 의해 정화되고 -80 °C에서 저장되었다. HI 분석법에 사용된 다른 모든 바이러스들은 10일 부화된 달걀들에서 성장시키며 상기 달걀로부터 요막액이 채집되고 -80 °C에서 저장된다. 상기 HI 분석법은 이전에 기술된 바와 같이 실시되었다(Kendal, P. et al., 1982). 간단히 말해서, 25 μ L에 바이러스 4 개의 적혈구응집소 단위들이 96-웰 플라스틱 플레이트에서 동일한 부피의 계열적으로 희석된 혈청에 첨가되었고 상온에서 30 분 동안 배양되었다. 동일한 부피의 0.5 % 칠면조 적혈구들이 첨가되고 적혈구응집반응 역가들이 30 분 후에 눈으로 추정되었다. 종말점 HI 역가는 적혈구

응집반응을 완전히 억제하는 혈청의 최종 희석으로 정의된다.

[0300] 예 7-임상 케이스

[0301] 앞에서 기술된 2005년 4월과 5월에(Crawford, P. C. *et al.*, 2005) 호흡기 질병 발병 사례가 북동 Florida의 한 보호 시설에 수용된 개들에게서 발생하였다. 상기 발병은 3 달에서 9 살에 이르는 적어도 58 마리의 개들을 포함하고 잡종견들 뿐만 아니라 순종견들도 포함하였다. 가장 흔한 임상 징후는 화농성 비루이며 7 내지 21일 동안 기침을 하였다. 7일 이상 임상 질병을 가졌던 43 마리의 개들 중에 41 마리는 canine/FL/04(H3N8)에 대한 HI 항체 역가가 32 내지 1024 초과에까지 이르렀다. 적어도 10 마리 개들은 폐렴으로 진행하였고, 이들 중 6 마리는 안락사되었다. 이 6 마리의 잡종 개들은 수컷 3 마리, 암컷 3 마리를 포함하며 4 개월에서 3 세에 이른 개들이었다. 임상 징후의 기간은 2일 내지 10일에 이르렀으며, 그 때 안락사시켰다. 검시 중에, 상기 개들은 폐 울혈(pulmonary congestion) 및 부종이 있었다. 기도를 조직학적으로 검사하면 비염(rhinitis), 기관염(tracheitis), 기관지염(bronchitis), 세기관지염(bronchiolitis) 및 화농성 기관지폐렴이 있는 것으로 드러났다. 기관, 기관지, 세기관지 및 기관지 샘에서 상피 세포 괴사 및 미란(erosion)이 있었다. 호흡기 조직들은 호중구 및 대식 세포들에 의해 침투되었다.

[0302] 2005년 5월에, 남동 Florida 주의 한 수의과 진료소에서 40 마리의 애완용 개들에게서 호흡기 질병 발병이 일어났다. 가장 흔한 임상 징후는 화농성 비루였고 10일 내지 30일까지 기침이 있었다. 상기 40 마리 개들 중에, 17 마리는 HI 항체 역가가 32에서 1024 초과에까지 이르렀다. 10 마리의 개들에서 혈청전환이 있었으며, 그에 대한 쌍을 이루는 급성 및 회복중인 혈청들이 이용가능하였다. 3 마리 개들은 폐렴으로 진행하였다. 이들 중 1 마리는 9 살 난 수컷 요크셔 테리어였으며, 임상 징후가 시작한 지 3일 만에 죽었다. 상기 개는 기관지염, 폐 부종 및 울혈, 그리고 중증 기관지 폐렴을 가졌다. 6 마리의 보호소 개들과 유사하게, 상기 조직들에서 기도 및 호중구 침윤물(infiltrate)의 상피 세포 괴사와 미란이 있었다.

[0303] 예 8-실시간 RT-PCR 및 바이러스 분리

[0304] 상기 7 마리의 개들로부터 폐 조직들은 인플루엔자 A 형의 M 유전자 및 개 H3N8 인플루엔자 A 바이러스의 H3 유전자를 검출하는 정량적 실시간 RT-PCR 분석법에 의해 분석되었다. 7 마리 개들 모두로부터 나온 폐들은 인플루엔자 A M 유전자 및 개 인플루엔자 H3 유전자 양쪽 모두에 대하여 양성이었다(표 8). MDCK 세포들에 3회 계대 접종시킨 후에, 인플루엔자 A 아형 H3N8 바이러스를 폐렴에 걸린 후 3일 만에 죽은 개 한마리의 폐들로부터 분리하였다. 상기 바이러스는 A/canine/Jacksonville/05(H3N8) (canine/Jax/05)라고 명명되었다. 부화된 달걀에 2회 접종한 후에, 인플루엔자 A 아형 H3N8 바이러스를 또한 폐렴에 걸린 후 3일 만에 죽은 애완용 개의 폐들로부터 회수하였다. 상기 바이러스는 A/canine/Miami/05(H3N8)(canine/Jax/05)라고 명명하였다.

[0305] 예 9-개 인플루엔자 A H3N8 분리체들의 유전적 분석

[0306] canine/Jax/05 및 canine/Miami/05의 서열 분석을 실시하면 이들의 적혈구응집소(HA) 유전자들은 2004년과 2005년에 경주장들에서 인플루엔자가 발병하는 동안에 폐렴으로 죽은 경주용 그레이하운드들의 폐들로부터 회수된 canine/FL/04, canine/TX/04 및 canine/Iowa/05 분리체들과 98 % 동일하였음이 드러났다(Crawford, P. C. *et al.*, 2005; Yoon K-Y. *et al.*, 2005). 또한, canine/Jax/05 및 canine/Miami/05의 HA 유전자들은 2000년 이후에 분리된 현대 말 인플루엔자 바이러스들과 98 % 동일하였다. HA 유전자들을 계통 발생적인 비교를 하게 되면 상기 canine/Jax/05 및 canine/Miami/05 바이러스들은 canine/FL/04, canine/TX/04 및 canine/Iowa/05 그레이하운드 분리체들 및 1990년 대 초에 분리된 오래된 말 바이러스들과는 확연히 다른 그룹을 형성하는 현대 말 분리체들과 무리지않음을 보였다(도 4) 또한, 상기 canine/Jax/05, canine/Miami/05 및 canine/Iowa/05 분리체들은 canine/FL/04 또는 canine/FL/03 중 어느 하나 보다는 canine/Tx/04에 더 밀접하게 연관되어 있었다. 상기 2005년 분리체들은 대략 10 개의 검약-정보적인(parsimony-informative) 사이트들에서 차이가 나는 초기 2003 년 및 2004 년 개 바이러스들로부터 갈라져 나온 듯한 서브그룹을 형성하였다. 이러한 차이점들은 개 인플루엔자 바이러스는 외부 소스로부터 정기적으로 재도입되는 것과는 반대로 1:1의 수평적으로 전염된다는 가설을 지지한다. 2003년에서 2005년까지 발생했던 돌연변이들을 추적하면 상기 바이러스는 개 인플루엔자 바이러스들에서 발생할 것이라고 기대했던 것과 같이 새로운 숙주에 전염된 이후에 겪어야만 하는 계속 진행중인 적응의 과정을 예증한다.

[0307] 예 10-개 인플루엔자 A H3N8 분리체들의 아미노산 분석

[0308] 현대 말 인플루엔자 바이러스와 이들을 구별하게 했던 총 6개의 개 분리체들에서 보존된 아미노산 서브치환이 있었다(표 9). 상기 보존된 서브치환은 I15M, N83S, W222L, I328T 및 N483T 였다. 상기 성숙한 HA 단백질을 계

통발생적으로 비교하면 상기 canine/Jax/05, canine/Miami/05 및 canine/Iowa/05 바이러스들이 canine/TX/04 분리체와 서브그룹을 형성한다는 것을 보여주었다(도 4). 상기 서브그룹을 다른 개 바이러스들과 구별하게 하는 3 개의 아미노산 변화들(L118V, K261N 및 G479E)이 있다(표 9). 상기 2005년 분리체들을 그들의 canine/TX/04 루트(root)와 구별짓게 하는 2 개의 아미노산 변화들(F79L 및 G218E)이 있었다. 또한, 비-그레이하운드 개들, canine/Jax/05 및 canine/Miami/05로부터 유래한 상기 2005년 분리체들은 canine/Iowa/05 그레이하운드 분리체와 한 개 아미노산의 변화, R492K가 있었다는 점에서 달랐다. 최종적으로, canine/Jax/05는 하나의 아미노산, S107P에서 canine/Miami/05와 차이가 있었다. 다른 모든 H3N8 말 및 개 바이러스들에서, S는 T를 하나 가진 A/Equine/Jilin/1/89를 제외하고는 위치 107에서 보존된다(Guo Y. *et al.*, 1992).

예 11-개 인플루엔자 A H3N8 분리체들의 항원 분석

오래된 것과 현대 말 인플루엔자 바이러스들 및 상기 개 인플루엔자 바이러스들의 항원 패널과 2005년에 인플루엔자 바이러스에 감염된 말과 개들로부터 채집한 혈청을 이용하여 적혈구응집반응 억제(HI) 시험을 실시하였다(표 10). canine/FL/04에 대해 면역화된 흰 족제비들로부터 유래한 혈청이 본 분석에 포함되기도 하였다. 말 혈청에서의 상기 HI 항체 역가는 오래된 분리체들과 비교하여 현대 말 바이러스들로 시험될 경우에 8 내지 16-배 더 높았지만, 상기 개 바이러스들로 시험될 경우에는 적어도 4 배 정도 감소되었다. 상기 개 혈청은 오래된 말 바이러스와는 비반응성이지만, 현대 말 분리체들 및 개 분리체들과 시험될 경우에는 상기 항체 역가들이 4-배 증가하였다. 이는 개 인플루엔자 바이러스에 대해 면역화된 흰 족제비들로부터 유래한 혈청에서도 관찰된 바이다. 상기 혈청활성 패턴들은 개 인플루엔자 바이러스들과 현대 말 인플루엔자 바이러스들 사이의 항원 유사성을 실증하였고 계통 발생적인 분석과 일치하였다. 상기 canine/Miami/05 분리체에 대한 말, 개과, 흰 족제비 혈청에서의 항체 역가들은 2003년과 2004년 개 분리체들에 대한 정량들과 유사하였다. 그러나, 상기 역가들은 상기 canine/Jax/05 분리체에 대하여는 2 내지 4 배 더 낮았다. 이는 canine/Jax/05는 다른 개 분리체들과 항원적으로 다르고, 부분적으로는 성숙한 HA에서의 위치 107에서의 단일 아미노산 변화와 관련될 수 있음을 암시한다.

표 7

표 7. 인플루엔자 A 바이러스의 매트릭스 유전자와 개 인플루엔자 A의 H3 유전자(H3N8)에 대한 정량적 실시간 RT-PCR 분석을 위한 프라이머들과 프로브들.			
프라이머	표적	서열	용용
Ca-H3-F387	H3(nt 387-406)	5'-tatgcatcgctccgatccat-3'(서열 번호:79)	H3에 대한 전진 프라이머
Ca-H3-R487	H3(nt 487-467)	5'-gctccacttcttcggtttga-3'(서열 번호:80)	H3에 대한 역전사 프라이머
Ca-H3-P430	H3(nt 430-459)	FAM-aattcacagcagaggattcacatggacag-BHQ1(서열 번호:81)	TagMan® 프로브
FluA-M-F151	M(nt 151-174)	5'-catggartggctaagacaagacc-3' ^a (서열 번호:82)	M에 대한 전진 프라이머
FluA-M-R276	M(nt 276-253)	5'-agggcattttggacaakcgtcta-3'(서열 번호:83)	M에 대한 역전사 프라이머
FluA-M-P218	M(nt 218-235)	FAM-acgcTcaccgTgcccAgt-BHQ1 ^b (서열 번호:84)	TagMan® 프로브

^a 밑줄친 글자 r은 뉴클레오티드 a 또는 g를 나타내고 밑줄친 글자 k는 뉴클레오티드 g 또는 t를 나타낸다.

^b 대문자들은 잠겨진 핵산 잔기들을 나타낸다.

표 8

표 8. 플로리다 소재 보호소와 수의과 진료소에서 호흡기 질병이 발병하는 동안 폐렴으로 죽은 개들의 폐 조직들 상에 실시한 정량적 실시간 RT-PCR과 바이러스 분리					
개 ID	장소	임상 질병의 기간	실시간 RT-PCR		바이러스 분리
			M(Ct)	HA (Ct)	
A/canine/FL/242/03 양성 대조			28.15	27.36	
1079	보호소(NE FL)	2 일	29.81	28.84	없음

1078	보호소(NE FL)	3 일	30.37	29.71	MDCK 3번째 계대
318	보호소(NE FL)	9 일	33.89	32.97	없음
320	보호소(NE FL)	10 일	39.44	37.09	없음
319	보호소(NE FL)	6 일	33.87	32.23	없음
1080	보호소(NE FL)	6 일	38.87	38.23	없음
374	수의과 진료소 (SE FL)	3 일	24.05	22.65	난자 2번째 계대

표 9

[0315]

표 9. 개 인플루엔자 바이러스들과 현대 말 인플루엔자 바이러스들에 대한 성숙한 HA의 아미노산 비교																		
	7	15	54	78	79	83	92	107	118	159	218	222	261	328	479	483	492	541
A/equine/KY/5/02	G	I	N	V	F	N	S	S	L	N	G	W	K	I	G	N	R	K
A/equine/MA/213/03	.	.	.	A	.	.	.	.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	.
A/equine/OH/1/03	D	.	K	A	.	.	.	.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	.
A/canine/FL/242/03	.	M	K	A	.	S			.	S	.	L	.	T	.	T	.	.
A/canine/FL//43/04	.	M	K	A	.	S	N	.	.	S	.	L	.	T	.	T	.	R
A/canine/TX/1/04	.	M	K	A	.	S	.	.	V	S	.	L	N	T	E	T	.	.
A/canine/Iowa/05	.	M	K	A	L	S	.	.	V	S	E	L	N	T	E	T	.	.
A/canine/Miami/05	.	M	K	A	L	S	.	.	V	S	E	L	N	T	E	T	K	.
A/canine/Jacksonville/05	.	M	K	A	L	S	.	P	V	S	E	L	N	T	E	T	K	.

표 10

[0316]

표 10. 옛날과 현대 말 인플루엔자 바이러스들과 개 인플루엔자 바이러스들에 대한 말, 개 및 흰 족제비 혈청에서의 항체 역가들			
	혈청	항체	역가 ^a
항원	말	개	흰 족제비 ^b
equine/Miami/63	40	<10	16
equine/KY/86	40	40	32
equine/KY/92	40	<10	32
equine/NY/99	320	40	128
equine/KY/05/02	320	160	256
equine/MA/213/03	640	160	512
equine/OH/01/03	640	160	512
canine/FL/03	160	160	512
canine/FL/04	160	80	512
canine/TX/04	160	160	512
canine/Miami/05	160	80	256
canine/Jax/05	40	40	128

[0317]

^a 말, 개, 또는 흰 족제비 혈청의 계열 희석들과 항원 칼럼에 수록된 바이러스들에 실시된 적혈구응집소 억제 분석법에서 항체 역가들이 측정되었다.

[0318]

^b canine/FL/04 바이러스로 면역화된 흰 족제비의 혈청.

[0319]

예 12-15에 대한 물질들과 예시 방법들

- [0320] 개 인플루엔자 바이러스 접종물(inoculum).
- [0321] 상기 바이러스 접종물은 이전에 기술된(Crawford et al., 2005) 오리지널 분리체의 패시지 3을 나타내는 A/canine/FL/43/04(H3N8)의 스톡(stock)으로 Madin-Darby 개 신장(MDCK) 상피 세포를 접종하여 준비된다. 1 μ g/mL TPCK-처리된 트립신(Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO) 및 항생제들(젠타마이신 및 시프로플록사신)로 보충된 Dulbecco's Minimal Essential Media(DMEM)에 상기 접종된 MDCK 세포들이 37 °C, 5 % 이산화탄소를 포함하는 습기찬 대기의 250 cm² 플라스크들에서 성장되었다. 상기 배양액들은 형태적 변화 여부를 위해 매일 관찰되었고 접종 후 5일째 되는 날에 수거되었다. 수거된 배양액들은 원심 분리법에 의하여 맑게 되었고 상기 상청액들은 개들에게 접종되기 전까지 -80 °C에서 저장되었다. Reed and Muench 방법에 의해 바이러스 역가의 측정을 위해 상청액의 분취량이 사용되었다. 상기 역가는 mL 당 A/canine/Florida/43/04(canine/FL/04)의 10⁷ 중간 조직 배양 전염성 투여량(median tissue culture infectious doses)(TCID₅₀) 이었다.
- [0322] 실험적 접종
- [0323] 8 마리의 4 개월 된 콜로니 브레드(colony bred) 잡종 개들(Marshall BioResources, North Rose, NY)(4 마리는 수컷이고 4 마리는 암컷)을 University of Florida Institutional Animal Care and Use Committee가 승인한 실험적 접종 연구를 위해 사용하였다. 개들의 신체 중량은 13 내지 17 kg에 이르렀다. 상기 개들은 접종 전에 2주 동안 신체 검사, 기초 혈액 검사 및 체온을 측정하여 이들을 근거로 건강하다는 판정을 받았다. 모든 개들은 상기 시설에 도착하고 그 2주 후에 채집된 짝을 이루는 혈청 표본들 상에 실시된 혈청학 시험을 근거로 개 인플루엔자 바이러스에 사전 노출이 되지 않았다. 기관내 관을 이용한 삽관법을 위하여 프로포폴(propofol)(Diprivan® Zeneca Pharmaceuticals, 효과 발생에는 0.4 mg/신체 중량 kg)의 정맥 주사에 의해 마취되었다. 6 마리 개들(3 마리는 수컷이고 3 마리는 암컷)에게 기관내 관으로 삽입된 작은 지름의 고무 도관을 통해 말단 기관에 투여된 5 mL의 살균된 식염수에 canine/FL/04 바이러스의 10⁷ TCID₅₀로 각각 접종시켰다. 2 마리 개들(1 마리는 수컷이고 1 마리는 암컷)에게는 동일한 부피의 살균된 식염수로 가-접종시켰다(sham-inoculated). 가-접종된 대조 비교 개들은 바이러스-접종된 개들과는 다른 방에 수용되어 다른 요원이 관리하였다. 신체 검사 및 직장 온도 측정을 접종 후(p.i.) 6일 동안 매일 2 회 실시하였다.
- [0324] 인두 및 직장 면봉 채집(pharyngeal and rectal swab collection)
- [0325] 바이러스 증식을 모니터링하기 위해, 폴리에스테르 면봉들(Fisher Scientific International Inc., Pittsburgh, PA)을 사용하여 접종 후 0일 내지 6일에 각각의 개에 대해서 하루 2회씩 구강 인두 시료들이 채집되었다. 상기 면봉들은 0.5 % 우 혈청 알부민(BSA)을 포함하는 살균된 인산염-완충 식염수(phosphate-buffered saline: PBS) 1 mL에 옮겨졌다. 직장 면봉들은 0일 내지 6일에 매일 각각의 개로부터 채집되었다. 면봉 추출물들은 원심 분리법에 의해 면봉 수송 배지를 정화하여 준비되었다. 제조자 지시사항에 의하여 Directigen™ 상용 면역분석 키트(BD, Franklin Lakes, NJ)를 사용하여 면봉 추출물의 일 분취량이 인플루엔자 A 바이러스 핵단백질에 대하여 즉시 시험되었다. 남아있는 추출물은 다른 바이러스학적 시험을 하기 전에 -80 °C에서 저장되었다.
- [0326] 검시
- [0327] 접종 후 1일에, 가-접종된 개 한 마리와 바이러스-접종된 개 한 마리를 부타나시아(Beuthanasia-D® 용액으로 정맥 접종하여 안락사시켰다. 바이러스-접종된 개는 한 마리씩 접종 후 2일 내지 5일에 매일 비슷한 방식으로 안락사시켰다. 접종 후 6일에, 남아있는 가-접종된 개와 바이러스 접종된 개가 안락사 되었다. 조사자들 중 한 사람(WLC)에 의해 완전한 검시를 실시하였다. 조직들은 파라핀에 담겨 있는 10 % 중성 완충 포르말린에 고정 시키고, 5- μ m 씩 절편들을 조직 병리학적인 진단을 위해 헤마톡실린과 에오신으로 염색하거나 하기에 기술된 것과 같이 면역조직화학을 위해 처리하였다. 고정되지 않은 폐 조직들은 박테리아 분리 및 확인을 위해 University of Florida College of Veterinary Medicine의 Diagnostic Clinical Microbiology/Parasitology/Serology Service에 제출되었다. 상기 표본들은 보르데텔라 종(Regan-Lowe; Remel, Lenexa, KS) 및 마이코플라즈마 종(Remel)에 선별적인 배지뿐만 아니라 비선별적인 배지 상에 배양되었다. 모든 배양액들은 성장이 보고되지 않기 전까지 21일 동안 두었다. 고정되지 않은 조직들은 또한 바이러스학적 분석 전까지 -80 °C에 저장되었다.
- [0328] 면역조직화학
- [0329] 파라핀을 제거하고 수분을 보충시킨 5- μ m 기관 및 폐 조직 절편들을 Bond-Rite™ 슬라이드(Richard-Allan

Scientific, Kalamazoo, MI) 상에 장착하고 프로테이나제 K(DakoCytomation, Carpinteria, CA)로 후속 처리하였고 이후 과산화효소 차단 시약(Dako[®] EnVision[™] Peroxidase Kit, Dako Corp., Carpinteria, CA)을 사용하였다. 상기 절편들을 인플루엔자 A H3(Chemicon International, Inc., Temecula, CA)에 대한 단일 클론성 항체의 1:500 희석물로 상온에서 2 시간 동안 배양하였다. 대조 비교는 동일한 절편들을 쥐 IgG(1 mg/mL, Serotec, Inc. Raleigh, NC)으로 배양 과정 및 단일 클론성 항체들을 정상적인 개 폐 절편들로의 배양 과정을 포함한다. 제 1 항체로 처리한 후, 제조자 지시사항에 의하여 상기 절편들을 제 2 면역과산화효소 및 과산화효소 기질 시약들(Dako[®] EnVision[™] Peroxidase Kit, Dako Corp.)로 배양하였다. 상기 절편들은 헤마톡실린(hematoxylin)으로 대비염색 시켰고, 클레리파이어 #2 및 블루잉 시약(Bluing Reagent)(Richard-Allan Scientific, Kalamazoo, MI)으로 처리하였고, 탈수시키고, 커버슬립(coverslip)을 퍼마운트(Permunt)(ProSciTech, Queensland, Australia)로 도포하였다.

[0330] 면봉들과 조직들로부터의 RNA 추출

[0331] 각각의 개로부터 폐 및 기관 조직들을 해동시켜 일회용 조직 분쇄기(Kendall, Lifeline Medical Inc., Danbury, CT)를 사용하여 0.5 % 우 혈청 알부민(BSA) 및 항생제들(젠타마이신 및 시프로플록사신)로 보충된 최소 기본 배지(MEM)에 균질화 시켰다. 전체 RNA를 제조자 지시사항에 의하여 상업적인 키트(RNeasy[®] Mini Kit, QIAGEN Inc., Valencia, CA)를 사용하여 구강 인두(oropharyngeal) 및 직장 면봉 추출물 뿐만 아니라 조직 균질체로부터 추출하였고 완충 용액 60 μ l 최종 부피에 용리시켰다.

[0332] 실시간 RT-PCR

[0333] ROX를 수동적인 기준 염료로 포함하는 QuantiTect[®] Probe RT-PCR 키트 (QIAGEN Inc., Valencia, CA)와 A 형 인플루엔자 바이러스의 매트릭스(M) 유전자의 고도로 보존된 영역을 표적 했던 프라이머-프로브 세트를 사용하여 일-단계 정량적 실시간 RT-PCR을 전체 RNA에 대하여 실시하였다(Payungporn S. *et al.*, 2006a; Payungporn S. *et al.*, 2006b). 각각의 실시간 RT-PCR 반응에 대하여, 추출된 전체 RNA 5 μ l를 2X QuantiTect[®] Probe RT-PCR Master Mix 12.5 μ l, QuantiTect[®] RT Mix 0.25 μ l, 전진 및 역전사 프라이머들(각각에 대해 0.4 μ M 최종 농도), 프로브(0.1 μ M 최종 농도) 및 RNA 가수분해효소 없는 물을 포함하여 최종 부피가 25 μ l되는 반응 혼합물에 첨가하였다. TaqMan[®] GAPDH 조절 시약들(Applied Biosystems, Foster City, CA)를 제조자 지시사항에 의하여 면봉 및 조직 표본들로부터 추출된 RNA의 존재 여부를 알아보기 위한 내생적 내적 대조 표준으로 그리고 정규화 대조 표준으로 GAPDH의 검출을 위하여 사용하였다.

[0334] 정량적 일-단계 실시간 RT-PCR을 Mx3000P[®] QPCR System(Stratagene, La Jolla, CA)의 반응 혼합물에 대해 실시하였다. 사이클링 조건들은 50 °C에서 30 분 동안 역전사 단계, 95 °C에서 15 분 동안 초기 변성화로 HotStarTaq DNA 증합효소를 활성화시키기는 단계 및 40 사이클 순환을 위한 증폭을 포함한다. 각각의 증폭 사이클은 94 °C에서 15 초 동안 변성화 시키고 이후 60 °C에서 1 분 동안 복구/연장의 단계를 포함하였다. FAM(방출 파장 518 nm) 및 VIC(방출 파장 554 nm) 형광 신호들이 각 사이클의 종단에 기록되었다. 역치 사이클(Ct)은 각각의 개별 실험에서 역치 형광(dR)을 1000에 맞추어서 결정되었다. Mx3000P[®] version 2.0 소프트웨어 프로그램(Stratagene, La Jolla, CA)을 이용하여 데이터 획득 및 분석을 하였다. 상기 양성 대조 비교는 A/canine/FL/242/03(H3N8) 바이러스로부터 추출된 RNA의 증폭으로 구성되었다. 상기 결과를 각각의 표본에 대하여 M Ct 수치를 해당 GAPDH Ct 수치로 나누어서 정규화시켰다.

[0335] 조직들로부터 바이러스 재-분리

[0336] 바이러스-접종된 개들로부터 유래한 동결된 폐 및 기관 조직들을 해동시켜 0.5 % 우 혈청 알부민(BSA) 및 항생제들로 보충된 DMEM의 10 부피들 내에 균질화 시켰다. 원심 분리법으로 고체 파편들을 제거하였고 상청액들이 상기에 기술된 바와 같이 1 μ g/mL TPCK-처리된 트립신(Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO) 및 항생제들로 보충된 DMEM에 배양된 MDCK 세포들에 접종되었다. 세포들은 37 °C, 5 % 이산화탄소를 포함하는 습기찬 대기의 25 cm² 플라스크들에서 성장되었다. 상기 배양액들은 형태적 변화 여부를 위해 매일 관찰되었고 접종 후 5 일에 수거되었다. 수거된 배양액들은 원심 분리법에 의하여 정화되었고 상청액들이 최초 접종을 위해 기술된 바와 같이 신선한 MDCK 세포들로 접종되었다: 적혈구응집반응 또는 RT-PCR에 의해 인플루엔자 바이러스의 증거를 보이지 않았던 표본들에 대해 추가로 계대 접종이 2회 실시되었다. 정화된 상청액들에서 적혈구응집반응 활성은 이전에 기술된 바와 같이 0.5 % 칠면조 적혈구 세포를 사용하여 측정되었다(Crawford *et al.*, 2005). RT-PCR은 하기에

기술된 바와 같이 실시되었다.

[0337] RT-PCR, 뉴클레오타이드 서열결정 및 계통발생적 분석

[0338] 바이러스 RNA는 제조자 지시사항에 의하여 QIAamp[®] Viral RNA Mini Kit(QIAGEN Inc., Valencia, CA)를 사용하여 MDCK 상청액으로부터 추출되었다. 상기 바이러스 RNA는 제조자 지시사항에 의하여 QIAGEN[®] 일단계 RT-PCR 키트(QIAGEN Inc., Valencia, CA)를 사용하여 cDNA에 역전사 되었다. 상기 cDNA에 있는 8 개의 인플루엔자 바이러스 유전자들의 코딩 영역의 PCR 증폭은 보편적인 유전자-특이적 프라이머 세트들(요청시에 프라이머 서열들을 이용할 수 있다)을 사용하여 이전에 기술된 바와 같이(Crawford et al., 2005) 실시되었다. 그 결과로 생긴 DNA 앰플리콘들이 사이클 서열화 염료 종결자 화학(Applied Biosystems, Foster City, CA)을 이용하여 ABI PRISM[®] 3100 자동 DNA 시퀀서에서 자동 서열결정을 위한 주형으로 사용되었다. 뉴클레오타이드 서열들은 Lasergene 6 Package[®] (DNASTAR, Inc., Madison, WI)을 사용하여 분석되었다. 감염된 개들로부터 회수된 바이러스들에 대한 뉴클레오타이드 서열들은 기도에서 복제되는 동안 임의의 변화들이 발생하는 지의 여부를 결정하기 위하여 접종물에 있는 바이러스의 서열들과 비교되었다.

[0339] 예 12-임상 질병

[0340] 바이러스-접종된 6 마리 개들 모두가 접종 후 첫 2일 동안 일시적 열병(직장 온도 $\geq 39^{\circ}\text{C}$)으로 발전하였지만, 어느 것도 6-일간의 관찰 기간에 걸쳐서 기침 또는 비루와 같은 호흡기 징후를 보여주지 않았다. 가-접종된 개들은 임상적으로 건강한 상태였다.

[0341] 예 13-바이러스 증식

[0342] 인플루엔자 A 핵단백질은 접종 후 24 시간에 바이러스-접종된 개들 중 한 마리로부터 채집된 구강 인두 면봉에서 검출되었다. 개 한 마리로부터 접종 후 72, 84 및 120 시간에 그리고 다른 개로부터 접종 후 108, 120 및 132 시간에 채집된 상기 구강 인두 면봉들은 정량적 실시간 RT-PCR에 의하여 바이러스에 대해 양성이었다(표 11). 면봉 추출물의 μL 당 인플루엔자 M 유전자 복제물(copies)의 절대치는 접종 후 3일 내지 6일까지 시간에 따라 증가하였다. 직장 면봉들에서는 어떠한 바이러스도 검출되지 않았다.

[0343] 예 14-검시

[0344] 특이적인 병원균이 없는(pathogen-free) 비글들을 이용한 이전의 실험적 감염(Crawford et al., 2005)과는 대비하여, 상기 바이러스-접종된 잡종견들은 접종 후 1일 내지 6일까지 폐들의 전체(gross) 및 조직학적 분석에 의해 입증된 것과 같은 폐렴을 가졌다. 폐렴 이외에, 상기 개들은 자연적으로 감염된 개들에서 기술된 것과 유사한 비염, 기관염, 기관지염 및 세기관지염을 가졌다(Crawford et al., 2005). 점막하 조직들을 호중구 및 대식세포가 침투한 기도 내막 및 기관지샘의 상피세포 괴사 및 미란이 있었다(도 5, 상부 패널들). 면역조직화학으로 기관지, 세기관지 및 기관지샘의 상피 세포들에서 바이러스 H3 항원을 검출하였다(도 5, 하부 패널들). 박테리아 중복감염(superinfection)은 존재하지 않았다. 상기 2 마리의 가-접종된 개들로부터 유래한 호흡기 조직들은 정상이었다.

[0345] 예 15-기관 및 폐에서의 바이러스 복제

[0346] 상기 기관 및 폐들은 접종 후 1일 내지 6일까지 모든 개들에서 정량적 실시간 RT-PCR에 의해 바이러스에 양성이었다(표 12). 기관 균질액 μL 당 M 유전자 복제물의 절대치는 접종 후 1일 내지 5일까지 증가하였다가 이후, 6 일째 되는 날 감소하였다. 폐 균질액 μL 당 M 유전자 복제물의 절대치는 접종 후 1일 내지 6일까지 감소하였다. 일반적으로, 상기 기관은 접종 후 6일에서 매일 상기 폐보다는 $1 \log_{10}$ 정도 더 많은 바이러스를 함유하였다.

표 11

[0347]

표 11. 정량적 실시간 RT-PCR에 의한 개 인플루엔자 바이러스로 접종된 잡종견들의 구강 인두에서의 바이러스 증식의 검출.			
개 ID	시간 p.i. (시간) ^a	M/GAPDH 비율 ^b	매트릭스 유전자(복제/uL) ^c
860	72	1.20	1.57E+02
	84	1.30	8.25E+02
	120	1.23	1.47E+03

894	108	1.17	1.17E+02
	120	1.41	1.37E+02
	132	1.27	3.74E+02

[0348] ^aA/canine/FL/43/04 (H3N8) 바이러스로 접종한 이후에 개들로부터 채집된 구강 인두 면봉을 채집한 시간.

[0349] ^b정규화 비율들은 각각의 면봉 추출물에 대하여 M(Ct)를 GAPDH(Ct)로 나누어서 계산되었다.

[0350] ^c면봉 추출물의 μ 당 매트릭스 유전자 복제물의 절대치.

표 12

[0351] 표 12. 정량적 실시간 RT-PCR에 의한 개 인플루엔자 바이러스로 접종된 잡종견들의 기관과 폐 내에서의 바이러스 복제 검출

개 ID	시간 p.i. (시간) ^a	M/GAPDH 비율 ^b		매트릭스 유전자(복제/ μ L) ^c	
		폐	기관	폐	기관
797	24	1.20	1.43	8.22E+05	3.11E+04
801	48	1.33	0.99	1.15E+05	6.52E+06
789	72	1.44	1.12	2.39E+04	1.56E+05
819	96	1.40	1.27	3.19E+04	1.43E+05
860	120	1.59	1.04	3.48E+03	1.17E+06
894	144	1.70	1.15	4.78E+02	1.50E+03

[0352] ^aA/canine/FL/43/04 (H3N8) 바이러스로 접종한 이후에 개들로부터 채집한 조직들을 채집한 시간.

[0353] ^b정규화 비율들은 각각의 조직 균등액에 대하여 M(Ct)를 GAPDH(Ct)로 나누어서 계산되었다.

[0354] ^c조직 균질액의 μ 당 매트릭스 유전자 복제물의 절대치.

[0355] 예 16에 대한 물질들과 예시 방법들

[0356] 바이러스 균주

[0357] 조류, 말 및 인간 기원의 균주들 뿐만 아니라 개 인플루엔자 바이러스 균주들(표 15에 수록됨)은 부화된 달걀 또는 MDCK 세포들에서 증식되었고 그 전염성은 닭 배아 또는 플라크 분석에서 종말점 희석으로 적정 되었다. 칠면조 적혈구 세포 적혈구들을 사용한 적혈구응집반응 분석법에 의해 신속한 바이러스 정량화가 실시되었다.

[0358] 진단 시료

[0359] 2005년 한 해 동안 바이러스 호흡기 질병으로 의심되는 사례들로부터 채집된 총 60 개의 개 폐 조직들은 개 인플루엔자 바이러스의 존재 여부를 위해 시험되었다.

[0360] 개 조직 표본들로부터 RNA 추출

[0361] 중량 20 내지 30 mg 사이의 폐 조직 블록들(blocks)을 1 회용 조직 분쇄기(Kendal)에서 균질화 시켰다. 제조사의 권고를 따라서, 전체 RNA를 상용 키트(RNeasy Mini Kit, QIAGEN, Valencia, CA)를 사용하여 추출하였고 60 μ L 최종 부피에 용리 시켰다.

[0362] 프라이머 및 프로브 설계

[0363] 다양한 아형 및 다양한 종으로부터 유래한 H3 및 M 유전자들의 다중 서열 정렬(alignment)은 CLUSTAL X 프로그램(Version 1.8)을 이용하여 실시되었다. 매트릭스(M) 프라이머들과 프로브는 인플루엔자 A 바이러스의 다른 아형들에 해당하는 알려진 서열들 상의 보존된 영역들로부터 선택되는 반면에, H3 적혈구응집소 유전자-특이적 프라이머들과 프로브 세트는 말과 개 인플루엔자 A 바이러스 유전자들과 특이적으로 일치(match)되고 상동성인 조류 및 인간 유전자들과는 불일치(mismatch) 되도록 선택되었다(표 13). 프라이머 디자인 소프트웨어(OLIGOS Version 9.1) 및 EXIQON(<http://lnatools.com>)가 제공한 웹 기반 분석 도구를 자가 혼성화(self hybridization) 뿐만 아니라 Tm 계산 및 2차 구조 예측을 위해 이용하였다. 개과 조직 표본으로부터 추출된 RNA

의 존재 여부를 알아보기 위해 18S rRNA 유전자의 보존된 영역을 내생적 내적 대조 표준으로 사용하였다. 조직 표본들에서의 18S rRNA의 실시간 검출을 위하여 진행 18S rRNA(VIC/TAMRA)에 대해 사전 개발된 TaqMan[®] Assay Reagents가 사용되었다.

[0364] 실시간 RT-PCR 조건

[0365] ROX를 수동적인 기준 염료로 포함하는 QuantiTect Probe RT-PCR 키트(QIAGEN Inc., Valencia, CA)를 사용하여 일-단계 실시간 RT-PCR을 실시하였다. 각각의 실시간 RT-PCR 반응에 대하여, RNA 표본 5 μ l를 주형으로 사용하여 2X QuantiTect Probe RT-PCR Master Mix 10 μ l, QuantiTect RT Mix 0.2 μ l, 프라이머들(H3 유전자에 대해 0.4 μ M 최종 농도 또는 M 유전자에 대해 0.6 μ M 최종 농도), 프로브(H3 유전자에 대해 0.1 μ M 최종 농도 또는 M 유전자에 대해 0.2 μ M 최종 농도) 및 RNA 가수분해효소 없는 물을 포함하여 최종 부피가 20 μ l되는 반응 혼합물과 결합 하였다. 일-단계 실시간 RT-PCR을 Mx3005P 실시간 QPCR System(Stratagene) 내에서 실시하였다. 사이클링 조건들은 50 °C에서 30 분 동안 역전사 단계를 포함하였다. HotStarTaq DNA 폴리머라제를 활성화시키기 위해 95 °C에서 15 분 동안 초기 변성화 단계 이후에, 변성화(94 °C에서 15 초 동안) 및 복구/연장(60 °C에서 30 초 동안)을 포함한 40 사이클 순환하는 동안 증폭이 실시되었다. FAM(H3 및 M 검출을 위한 방출 파장 516 nm) 및 VIC(18S rRNA 검출을 위한 방출 파장 555 nm) 형광 신호들이 상기 연장 단계의 종단에 사이클 당 1회 구해졌다. Mx3005P software version 2.02(Stratagene)을 이용하여 실시간 PCR 분석법의 데이터 획득 및 분석이 실시되었다.

[0366] 개 인플루엔자(H3N8)에 대한 H3 프라이머들/프로브 세트의 특이성 및 A형 인플루엔자 바이러스에 대한 M 프라이머들/프로브 세트의 보편성

[0367] 각각의 프라이머들/프로브 세트의 특이성을 시험하기 위하여, 인플루엔자 A 바이러스들의 일부 알려진 아형들로부터 추출된 RNA를 실시간 RT-PCR 분석법에서의 주형으로 사용하였다(표 15).

[0368] 실시간 RT-PCR 실시의 결정을 위한 RNA 표준

[0369] T7 프로모터와 연결된 프라이머들을 사용하여 H3(nt 1-487) 및 M(nt 1-276)에 대한 PCR 앰플리콘들을 생성시키기 위하여 개 인플루엔자 A 바이러스(A/canine/Florida/242/2003(H3N8))의 유전자들이 사용되었다(표 13). 이후 제조자 권고 사항에 따라 Riboprobe *in vitro* Transcription System-T7(Promega)을 이용하여 생체 내(*in vitro*) 전사를 위한 주형으로 H3 및 M 유전자들의 정제된 PCR 앰플리콘들이 사용되었다. 전사된 RNA들의 농도는 260 nm에서의 흡수를 측정하여 계산되었다. 이후에 상기 RNA들이 10⁸ copies/ μ l 내지 10 copies/ μ l에 이르도록 계열적으로 10-배 희석시켜 민감도 시험을 실시하였다. 또한, 실시간 RT-PCR의 전체적 실시를 측정하기 위하여 각각의 희석으로부터 구해진 역치 사이클(Ct)에 대하여 최초 RNA 주형 농도들(copies/ μ l)을 플롯팅 하여 표준 곡선이 생성되었다.

[0370] 실시간 RT-PCR 및 Directigen Flu A 시험 키트 사이의 비교 민감도 시험

[0371] 10^{6.67} EID₅₀/mL(HA=64)에서 A/Wyoming/3/2003과 10^{7.17} EID₅₀/mL(HA=16)에서 A/canine/Florida/242/2003(H3N8)를 포함하는 2 가지 바이러스 균주들의 스탁 바이러스들(stock viruses)이 검출 역치 분석을 위해 사용되었다. 인산염-완충 식염수(PBS)(125 μ l) 내에서 시료들의 로그적 희석은 제조자 지시사항을 따라 신속한 인플루엔자 A 항원 검출 키트인 Directigen Flu A, (Becton, Dickinson and Company)에 사용되었다. 각각의 Directigen Flu A 시험 장치는 자주색 반점으로 발전하고 핵단백질(NP)에 대한 단일 클론성 항체에 기반한 시험의 통합성을 나타내는 막의 중심에 있는 H1N1 인플루엔자 항원 점(spot)을 가지고 있다. 상기 반점을 둘러싸는 자주색 삼각형이 커져가는 것(development)은 시험되는 시료에서의 인플루엔자 NP가 존재한다는 표시이다. 상기 삼각형으로부터 자주색 신호의 강도는 +(삼각형의 윤곽), ++(얇은색 삼각형), +++(짙은 자주색 삼각형) 및 ++++(매우 짙은 자주색 삼각형)로 스코어링 되었다. QIAamp Viral RNA Mini Kit(Qiagen, Valencia, CA)를 사용하고 최종 부피 50 μ l에 용리시켜 각각의 바이러스 희석의 125 μ l 분취량으로부터 바이러스 RNA가 추출되었다. 추출된 바이러스 RNA들의 5 μ l 부피를 Directigen Flu A kit와의 비교 민감도 시험을 위해 실시간 RT-PCR에 의하여 시험하였다.

[0372] 예 16

[0373] 개 인플루엔자에 대한 실시간 RT-PCR 분석법은 인플루엔자 A 바이러스 게놈으로부터 유래한 M 및 H3 뿐만 아니라 숙주 세포로부터의 18S rRNA를 표적하는 3 가지 분자 프로브들로부터 얻은 정보에 의존한다(표 14). 상기 숙주 유전자의 증폭은 시료 품질 및 통합성을 알려준다. 개 인플루엔자(H3N8) 바이러스를 포함하는 임상, 검시 또

는 실험 표본들은 3 가지 프로브들에 의한 증폭 신호를 보내는 것으로 예상된다. M 및 18 S rRNA 프로브들로 증폭 신호를 보내지만 H3에 대해 음성인 시료들은 인간, 돼지 또는 조류 기원 또는 비-H3 아형들로부터 유래한 인플루엔자 바이러스 아형 H3가 존재함을 나타낼 것이다. 이러한 혼치 않은 사례들은 서열결정에 의해 분석될 수 있는 앰플리콘 cDNA를 발생시키는 HA 보편적 프라이머들을 이용한 RT-PCR에 의해 해결될 수 있다. 인플루엔자 A 바이러스가 부족한 적절히 수집되고 다루어진 시료들은 18S rRNA 증폭 신호만 보낸다. 18S rRNA 프로브 및 H3 프로브들만 증폭 신호를 보내는 상황은 달리 증명되지 않은 한 기술이 오류가 있음을 나타낸다; M 프로브들에 잘못된 음성이나 H3에 잘못된 양성은 실증될 필요가 있다. 최종적으로, 3 가지 프로브들로 증폭 신호들을 보내지 못하는 시료들은 표본 수집이 잘못 되었으며, 분해(degradation), RNA 추출에 오류가 있거나 PCR에 사용된 중합효소들을 억제하는 억제자들이 있음을 나타내는 것이다.

[0374]

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

[0375]

실시간 RT-PCR 분석법들의 실행은 M 및 H3 시험관 내 전사된 RNA들의 종말점 회석에 의해 평가된다. 예상한 바와 같이, 상기 역치 사이클(Ct)은 RNA 표준들의 회석과 직접 상관되어 증가하였다. 형광 신호들은 M 및 H3의 RNA 표준 회석들에서 각각 10^3 copies/ μ l 및 10^2 copies/ μ l의 농도로 검출될 수 있다(도 6a 및 도 6b). M 및 H3 유전자들의 표준 곡선들은 각각 회석하여 구해진 역치 사이클(Ct)에 대한 시작 RNA 농도들의 로그값을 플로팅하여 만들어졌다(도 6c 및 도 6d). 상기 표준 곡선의 기울기를 사용하여 이론적으로는 지수 함수인 PCR 반응 효율을 측정한다; 100 % 증폭 효율은 각각의 사이클마다 앰플리콘 농도가 2 배가 됨을 의미한다. 약 -3.1 내지 -3.6 사이의 기울기를 가지는 표준 곡선들은 정확한 정량화를 요하는 대부분의 응용에 일반적으로 적용될 수 있다(90-110 % 반응 효율). Rsq 수치는 표준 곡선 플롯에 모든 데이터의 적응(fit)이다. 만약 모든 데이터가 완벽하게 직선상에 있다고 한다면, 상기 Rsq는 1.00 일 것이다. 데이터가 상기 직선으로부터 더 아래로 떨어지면, 상기 Rsq는 감소한다. Rsq 수치 ≥ 0.985 는 대부분의 분석법들에 받아들여질 수 있다. 상기 M 표준 곡선은 -3.576의 기울기(효율=90.4 %) 및 Rsq= 1.00을 드러낸 반면에, H3 표준 곡선은 -3.423의 기울기(효율=95.9 %) 및 Rsq=0.999를 내놓았다. 이러한 수치들은 실시간 RT-PCR 분석법들의 만족스러운 증폭 효율 및 전체 성능을 보여준다. 우리는 H3 프라이머들/프로브 세트에 비교하여 M 프라이머들/프로브 세트가 더 낮은 효율과 더 낮은 민감도를 보이는 것은 다수의 아형, 숙주 및 혈관을 가진 바이러스들 전체에 걸쳐 M 유전자 서열 가변성을 광범위하게 적용할 수 있게 하는 데 필요한 M 프라이머 서열들의 N-배 퇴화에 원인을 두었다.

[0376]

실시간 RT-PCR 분석법의 민감성은 상용의 신속한 항원 검출 분석법과도 비교된다(Directigen Flu A). A/Wyoming/3/2003(H3N2)와 A/canine/Florida/242/2003(H3N8)의 로그적 회석은 Directigen Flu A 및 실시간 RT-PCR에 의해 분석된다. Directigen Flu A의 결과들은 상기 양 바이러스 균주들에 대한 민감도가 본 실험들에 사용된 스타크 바이러스들로부터 약 100-배 회석한 것임을 보여주었다(도 7). 개 바이러스(A/canine/Florida/242/2003: $10^{6.5}$ PFU/ml) 표본들에 의해 발생된 신호들(자주색)은 인간 바이러스(A/Wyoming/3/2003: $10^{7.5}$ PFU/ml)에서 발견된 신호들보다 훨씬 약했는데, 이는 이러한 표본들에서의 낮은 바이러스 농도와 일치하는 것이었다. 또한, 개 인플루엔자에 대한 더 낮은 신호는 핵단백질에 대한 단일 클론성 항체들의 분자 특이성에 기인할 수 있다; 즉, 개 인플루엔자 A 바이러스들의 NP 에피토프(epitope) 내에서의 아미노산들의 보존이 저조하기 때문이다.

[0377]

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

[0378]

급성 호흡기 질병을 가진 개들로부터 나온 검시 시료들에서의 RT-PCR 시험의 실행을 평가하기 위해, 2005년 한 해 동안 제출된 60 마리의 개 폐 조직 표본들이 실시간 RT-PCR에 의한 개 인플루엔자 A 바이러스의 존재 여부를

위해 시험되었다. 전체 60 개 표본들 중 12 개(20 %)는 M 및 H3 유전자들 양쪽에 대해 양성인 반면에 나머지 48 개 표본들은 M 및 H3 유전자 양쪽 모두에 대하여 음성인 결과를 내어 놓았다. 달걀 및 MDCK 세포 접종에 의해 바이러스 분리 시도를 실행하여 실시간 분석법의 특이성을 평가하였다; RT-PCR에 의해 개 인플루엔자에 대해 양성이었던 12 개 표본들 중 2 개는 개 인플루엔자 바이러스를 내어 놓았다(데이터 미도시, 원고 작성 중). 모든 조직들이 종종 호흡기 질병의 병력을 지닌 개들로부터 채집되었다 하더라도, 그 표본들 대부분은 실시간 PCR 또는 기존의 분리법 중 어느 하나에 의해서라도 개 인플루엔자 바이러스를 내놓지 않았는데, 이는 보르데텔라속 브론치네티카, 개 홍역 또는 파라인플루엔자 바이러스와 같은 다른 호흡기 병원체들의 높은 발생률(incidence)을 암시한다. 여기 단일 단계 실시간 RT-PCR 분석법은 개 인플루엔자 A 바이러스(H3N8) 검출에 대한 신속하고, 민감하며 비용 효율적인 접근법을 제공한다. 질병의 초기 단계에서 개 인플루엔자 A 바이러스(H3N8) 감염의 신속한 실험실 진단을 하게 되면 임상 환자 및 시설 운영에 적절한 정보를 줄 수 있다.

표 13

표 13: 실시간 RT-PCR 검출과 시험관 내 전사를 위해 사용된 프라이머들과 프로브들				
올리고 명칭	유형	표적	서열*	응용
Ca-H3-F387	전진 프라이머	H3(nt 387-406)	5'-tatgcatcgctccgatccat-3'(서열 번호:79)	실시간 PCR
Ca-H3-R487	역전사 프라이머	H3(nt 487-467)	5'-gctccacttcttccgttttga-3'(서열 번호:80)	
Ca-H3-P430	TaqMan 프로브	H3(nt 430-459)	FAM-aattcacagcagaggattcacatggacag-BHQ1(서열 번호:81)	
FluA-M-F151	전진 프라이머	M(nt 151-174)	5'-catggartggctaaagacaagacc-3'(서열 번호:82)	실시간 PCR
FluA-M-R276	역전사 프라이머	M(nt 276-253)	5'-agggcattttggacaaakcgtcta-3'(서열 번호:83)	
FluA-M-P218	LNA TaqMan 프로브	M(nt 218-235)	FAM-acgcTcaccgTgcccAgt-BHQ1(서열 번호:84)	
H3-F1	전진 프라이머	H3(nt 1-14)	5'-tattcgtctcaggagcaaaagcagggg-3'(서열 번호:85)	시험관 내 전사
T7/H3-R490	역전사 프라이머	T7/H3(nt 487-467)	5'-tgtaatcagactcactatagggtccacttcttccgttttga-3'(서열 번호:86)	
M-F1	전진 프라이머	M(nt 1-15)	5'-gatcgctcttcaggagcaaaagcaggtag-3'(서열 번호:87)	시험관 내 전사
T7/M-R276	역전사 프라이머	M(nt 276-253)	5'-tgtaatcagactcactatagggcattttggacaagcgctc-3'(서열 번호:88)	

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

표 14

표 14: 실시간 RT-PCR 분석법의 해석			
해석	결과		
	M	H3	18S rRNA
개 인플루엔자 A 바이러스(H3N8)에 대하여 양성	+	+	+
인플루엔자 A 바이러스(미지의 아형)에 대하여 양성	+	-	+
인플루엔자 A 바이러스에 대하여 음성	-	-	+
RNA 추출에서의 오류 또는 PCR 억제제의 존재	-	-	-

표 15

[0382]

표 15: 인플루엔자 A 바이러스들의 몇몇 아형들과 개 H3 프라이머들/프로브 세트의 특이성 시험과 M 프라이머들/프로브 세트의 보편성 시험				
아형	균주명	숙주	실시간 RT-PCR 검출	
			H3 유전자 (Ct)	M 유전자(Ct)
H1	A/Ohio/1983	인간	무 Ct	15.40
	A/WSN/1933	인간	무 Ct	20.09
H3	A/Wyoming/3/2003	인간	무 Ct	28.85
	A/Victoria/3/1975	인간	무 Ct	16.62
	A/canine/FL/242/2003	개	28.43	29.25
H4	Turkey/MN/1066/1980	조류	무 Ct	17.49
	임상 표본*	조류	무 Ct	20.87
H5	A/Chicken/Thailand/CUK2/2004	조류	무 Ct	20.13
	A/Pheasant/NJ/1335/1998	조류	무 Ct	16.64
H6	임상 표본*	조류	무 Ct	19.52
H10	임상 표본*	조류	무 Ct	25.64
	임상 표본*	조류	무 Ct	19.59
H11	임상 표본*	조류	무 Ct	15.72
	임상 표본*	조류	무 Ct	24.55

[0383]

*뉴클레오타이드 서열결정에 의하여 임상 표본들의 아형들이 확인되었음을 유의.

표 16

[0384]

표 16: 실시간 RT-PCR과 Directigen Flu A 사이의 인플루엔자 A 바이러스에 대한 비교 감도 시험들				
바이러스 희석	Directigen Flu A		M의 실시간 RT-PCR(Ct)	
	A/canine/242/03	A/Wyoming/3/03	A/canine/242/03	A/Wyoming/3/2003
10 ⁻¹	++	++++	22.42	19.48
10 ⁻²	+	+++	25.85	22.66
10 ⁻³	-	-	29.27	25.76
10 ⁻⁴	무실시	무실시	32.66	28.66
10 ⁻⁵	무실시	무실시	35.48	33.14
10 ⁻⁶	무실시	무실시	37.51	35.06
10 ⁻⁷	무실시	무실시	39.09	36.44
10 ⁻⁸	무실시	무실시	무 Ct	38.93

표 17

[0385]

표 17.	
아미노산 분류	아미노산의 예
비극성	Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Met, Phe, Trp
비전화 극성	Gly, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn, Gln
산성	Asp, Glu
염기성	Lys, Arg, His

표 18

[0386]

표 18.			
글자 기호	아미노산	글자 기호	아미노산
A	알라닌	M	메티오닌
B	아스파라긴 또는 아스파르트산	N	아스파라긴
C	시스테인	P	프롤린
D	아스파르트산	Q	글루타민
E	글루탐산	R	아르기닌
F	페닐알라닌	S	세린
G	글리신	T	트레오닌
H	히스티딘	V	발린
I	이소류신	W	트립토판
K	라이신	Y	티로신
L	류신	Z	글루타민 또는 글루탐산

표 19

[0387]

표 19. H3N8 말과 개 인플루엔자 바이러스들의 PB2 단백질들 사이의 아미노산 차이			
위치	말 보존*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
5	K	K	E
12	S	L	L
37	G	G	E
175	R	R	I
374	L	I	I
375	R	R	K
447	Q	Q	H

표 20

[0388]

표 20. H3N8 말과 개 인플루엔자 바이러스들의 PB1 단백질들 사이의 아미노산 차이			
위치	말 보존*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
114	V	I	I
154	D	G	G
221	A	T	T
317	M	I	I
459	I	I	V
682	I	I	V

표 21

[0389]

표 21. H3N8 말과 개 인플루엔자 바이러스들의 PA 단백질들 사이의 아미노산 차이			
위치	말 보존*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
27	D	N	N
62	I	V	V
213	R	K	K
337	A	T	T
343	A	E	E
345	L	I	I
353	K	R	R
400	T	T	A
450	V	I	I
460	M	M	I

673	R	R	K
675	N	D	D

[0390] *1963년과 1998년 사이에 분리된 바이러스들의 이용가능한 유전자들에 근거함.

표 22

[0391]

표 22. H3N8 말과 개 인플루엔자 바이러스들의 NP 단백질들 사이의 아미노산 차이			
위치	말 보존*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
16	G	D	D
157	A	T	T
214	R	R	K
285	V	V	I
286	A	T	T
359	A	T	T
375	D	D	N
384	R	K	K
452	R	K	K

표 23

[0392]

표 23. H3N8 말과 개 인플루엔자 바이러스들의 NA 단백질들 사이의 아미노산 차이			
위치	말 보존*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
9	A/T	T	A
12	S	F	F
20	L	I	I
40	G	R	R
42	G	D	D
46	N	K	K
52	E	E	K
61	R	K	K
69	N	S	S
72	E	K	K
201	V	I	I
261	I	V	V
301	I	I	V
396	N	D	D
397	L	P	P

표 24

[0393]

표 24. H3N8 말과 개 인플루엔자 바이러스들의 M1 단백질들 사이의 아미노산 차이			
위치	말 보존*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
M1 161	S	S	A
M1 208	K/Q	R	R

[0394] *1963년과 1998년 사이에 분리된 바이러스들의 이용가능한 유전자들에 근거함.

표 25

[0395]

표 25. H3N8 말과 개 인플루엔자 바이러스들의 NS1 단백질들 사이의 아미노산 차이			
위치	말 보존*	Canine/FL/03	Canine/FL/04
44	K	R	R
59	R	H	H
71	E	K	K
86	A	T	T

88	R	R	L
140	R	G	G
216	P	S	S

[0396] *1963년과 1998년 사이에 분리된 바이러스들의 이용가능한 유전자들에 근거함.

[0397] 예 17-개 인플루엔자 감염 모델 전개.

[0398] 플로리다에서의 인플루엔자 발병으로 분리되었던 개 인플루엔자(개 독감) 바이러스는 H3N8 형 인플루엔자 바이러스인 것으로 관찰되었으며, 말 독감 바이러스 균주인 A/equien/Ohio/03과 밀접하게 관련되어 있었다(Crawford et al., SCIENCE Vol. 309, September 2005, 본 특허에 그대로 참고로 포함됨). 개들에게서 인플루엔자-유사 질병을 유도하는 말 독감 바이러스 균주 A/equine/Ohio/03을 사용하는 잠재성이 본 연구에서 조사되었다.

[0399] 절차:

[0400] 13 주된 혼성인 비글종 10 마리를 상용 공급자로부터 구하여, BSL-2 시설의 개별 케이지에 수용하였다. 상기 개들을 5 마리를 각각 1 개 군으로 하여 2 개 군으로 무작위로 할당하였다. 표 26에서 보는 바와 같이, 1 개 군은 기관 내 감염을 받게 되고, 나머지 1 개 군은 구비강 감염을 거치게 되었다. 상기 개들은 14 주 되었을 때 감염되었다.

표 26

[0401]

표 26: 실험 설계		
군	개들의 개체수	감염 경로(challenge route)
1	5	기관 내
2	5	구비강

[0402] 세포 배양 성장한 말 독감 바이러스 A/equine/Ohio/03을 공격 바이러스(challenge virus)로 사용하였다. 기관 내 감염을 위하여, 상기 공격 바이러스는 커프 기관 튜브(cuffed tracheal tube)(크기 4.0/4.5, Sheridan, USA)와 0.5 내지 1.0 ml 부피의 인공 영양관(크기 5 Fr, 1.7 mm, 길이 /16 인치, Kendall, USA)로 구성된 전달관을 통하여 투여되었다. 구비강 감염을 위하여, 공격 바이러스(개 한마리당 10^7 내지 10^8 TCID₅₀)이 2 내지 3 ml 부피의 분피기(Devilbiss Ultra-Neb[®] 99 초음파 분피기, Sunrise Medical, USA)를 사용하여 박무(mist)로 투여되었다.

[0403] 개들은 감염 후 14일 동안 독감 관련 임상 징후가 있는 것으로 관찰되었다. 0 일(감염 전), 감염 후 7일과 14일에 각각의 개로부터 혈청 표본들을 채집하여 표준 프로토콜(SAM 124, CVB, USDA, Ames, IA)에 의한 H3N8 말 인플루엔자 바이러스를 이용하여 HI 역가를 측정하였다. 모든 개들은 인도적으로 안락사시켰으며 폐 조직들을 채집하여 조직병리학적 평가를 위해 10 % 완충 포르말린에 두었다.

[0404] 결과:

[0405] 본 실험의 결과들은 표 27에 요약되어 있다. 감염 이후에 몇몇 개들에게서 인플루엔자 관련 임상 징후들이 관찰되었다. 이러한 징후들은 발열(> 103 °F; > 39.4 °C)과 기침을 포함하였다. 1 군에서는 2 군의 5 마리 중 1 마리(즉, 20 %)에 비하여, 5 마리 중 2 마리(즉, 40 %)가 발열이 있었다. 구비강 감염 군의 1 마리는 재채기를 하였으며 다른 한 마리는 감염 이후에 기침을 하였다. 20의 기하 평균 역가(GMT)인 10 내지 80의 HI 역가 범위가 1 군에서 관찰되었다. GMT_{Trk} 86인 40 내지 80의 역가 범위가 2 군에서 관찰되었다. 각각의 군에서 1 마리는 인플루엔자와 융합하거나 인플루엔자로 진단되는 조직병리학적 병변을 지녔다.

표 27

[0406]

표 27. 개 독감 공격 - 임상 징후, 바이러스 분리, 조직 병리학 결과들 및 혈청학 결과									
개*ID	공격 방법	임상 징후	바이러스 분리			미세 병변(조직 병리학)	혈청학(HI 역가)		
			비강/구강 면봉	기관 스kre이핑	폐 조직들		사전-공격	공격 후 7일	공격 후 14일
AAH	기관 내	없음	음성	음성	음성	음성	10	10	20

ADB	기관 내	없음	음성	음성	음성	음성	10	80	20
ADC	기관 내	발열*	음성	음성	음성	음성	10	20	20
AEB	기관 내	발열*	음성	음성	음성	양성	10	40	20
AEE	기관 내	없음	음성	음성	음성	포함	10	20	10
AAE	구비강	없음	음성	음성	음성	음성	10	80	80
AAG	구비강	없음	음성	음성	음성	음성	10	40	80
ABY	구비강	간헐적 재채기, 간헐적 기침	음성	음성	음성	양성	10	80	160
ADY	구비강	열병, 간헐적 재채기	음성	음성	음성	음성	10	80	80
ADZ	구비강	없음	음성	음성	음성	음성	10	80	160

[0407] *상기 동물들은 말 독감 분리체 Ohio 03으로 공격되었다.

[0408] **직장 온도 $\geq 103^{\circ}\text{F}$; $\geq 39.4^{\circ}\text{C}$

[0409] 예 18 - 개에 대한 말 인플루엔자 바이러스 백신의 효능

[0410] 플로리다에서의 독감 발병에서 분리되었던 개 인플루엔자(개 독감) 바이러스는 H3N8 형 인플루엔자 바이러스인 것으로 관찰되었으며, 서열 유사성에 근거하여 말 독감 바이러스 균주인 A/equien/Ohio/03과 밀접하게 관련되어 있었다. 실험 비활성화된 말 인플루엔자 바이러스 백신의 효능을 측정하기 위하여 하기의 연구를 실시하였다.

[0411] 절차:

[0412] 7 주된 혼성인 비글종 9 마리를 상용 공급자로부터 구하여, BSL-2 시설의 개별 케이지에 수용하였다. 상기 개들을 2 개 군으로 무작위로 할당하였으며, 표 28에 요약되어 있다:

표 28

[0413]

표 28: 실험 설계		
군	개들의 개체수	처리
1	5	백신
2	4	대조

[0414]

제 1 군은 8 주와 12 주의 나이에 비활성화된 CARBIGENTM 보조제의 말 독감 바이러스 A/equine/Ohio/03 백신을 피하(SQ) 경로를 통하여 백신접종된 5 마리의 개들로 구성되어 있다. 상기 A/equine/Ohio/03은 표준 방법을 이용하여 이원 에틸렌이민("BEI")으로 비활성화되었다. 상기 백신의 각각의 투여량은 질량비 5 %인 CARBIGENTM, 4096 HA 단위의 상기 비활성 바이러스, 전체 투여량을 1 ml로 만들기에 충분한 PBS 및 pH를 7.2에서 7.4 사이로 조절하는 충분한 NaOH를 포함하였다. 1차 및 2차 백신접종하는 날과 1차와 2차 백신접종 후 7일과 14일 되는 날과 사전 감염시에 모든 개들로부터 혈청 표본들을 채집하여 표준 프로토콜(SAM 124, CVB, USDA, Ames, IA)의 H3N7 말 인플루엔자 바이러스를 이용하여 HI 역가를 측정하였다. 2차 접종 후 3 주째 되는 날에, 상기 5 마리의 백신접종된 개들과 4 마리의 연령이 일치하는 개들로 구성된 제 2 군(즉, 대조군)에게 투여 당 1 내지 2 ml 부피의 세포 배양 성장된 말 인플루엔자 바이러스 A/equine/Ohio/03(개 한 마리당 $10^{7.0}$ 내지 $10^{8.0}$ TCID₅₀)으로 구비강으로 감염시켰다. 상기 공격 바이러스는 분무기(DeVilbiss Ultra-Neb[®] 초음파 분무기, Sunrise Medical, USA)를 사용하여 박무로 상기 개들에게 투여되었다. 감염 후 14일 동안 독감 관련 임상 징후의 여부에 대하여 상기 개들을 관찰하였다. 감염 후 7일의 5 마리의 개들(3 마리는 백신접종이며 2 마리는 대조 비교)과 감염 후 14 일의 4 마리 개들(2 마리는 대조 비교이며 2 마리는 백신접종)을 인도적으로 안락사시켜 폐 조직들을 조직병리학적 평가를 위하여 10 % 완충 포르말린 내에 채집하였다.

[0415]

결과:

[0416] 본 실험의 결과들이 표 29와 30에 요약되어 있다. 백신접종 이후에 모든 백신접종된 개들은 혈청전환되었다. GMT 129인 40 내지 640의 HI 역가 범위가 말 인플루엔자 바이러스 A/equine/Ohio/03으로 사후-백신접종 기간 동안에 관찰되었으며, 개 독감 분리체 A/canine/Florida/242/03으로 접종된 기하 평균 역가 211인 160 내지 320의 HI 역가가 관찰되었다. 백신접종 받은 6 마리 중 2 마리는 하루 동안 > 103 °F(> 39.4 °C)의 발열이 있었으며 감염 이후에 개들 중 어느 한 마리에서도 다른 임상 징후들이 관찰되지 않았다.

[0417] 결론:

[0418] 백신접종된 모든 개들은 비활성화되며, CARBIGEN™ 보조제 처리된 말 인플루엔자 백신에 반응하였다. 개 인플루엔자 바이러스 분리체의 HI 역가 결과들은 상기 비활성화된 말 인플루엔자 백신은 개 인플루엔자 바이러스에 대한 교차 반응 항체의 검출가능한 수준을 유도하였음을 암시한다. 여기에 사용된 공격 바이러스는 개 인플루엔자 바이러스 분리체의 HI 역가에 근거하여 비글 개들에게서 주목할 만한 임의의 임상 질병을 유도하지 않았지만, 상기 비활성화된 말 백신은 교차 반응성 항체들을 유도하도록 개에게 사용되어 H3N8 형 개 인플루엔자 바이러스들에 의하여 유발되는 "개 독감"에 대항하여 개들을 잠재적으로 보호할 수 있다고 결론 지었다.

표 29

[0419] 표 29. 혈청학-사전 및 사후 백신접종과 사후-감염 HI 역가들

개*	군								
		사전-백신접종	사후-1차 백신접종		사후-2차 백신접종			사후-감염*	
			7일	14일	7일	14일	21일	7일	14일
AKT	백신접종*	< 10	40	80	640	640	640	320	320
ALH	백신접종*	< 10	40	80	320	160	160	80	***
ALU	백신접종*	< 10	40	80	320	160	160	80	80
ANJ	백신접종*	< 10	40	80	320	160	80	320	***
ANU	백신접종*	< 10	40	80	320	160	80	160	***
AJW	대조	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	10	***
AKR	대조	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	10	***
ALZ	대조	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	20	20
ARC	대조	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	10	10

[0420] *상기 동물들은 말 독감 분리체 Ohio 03으로 감염되었다.

[0421] **CARBIGEN™ 보조된 비활성 말 인플루엔자 바이러스 오하이오 03 백신을 백신접종에 사용하였다.

[0422] ***사후-감염 7일에 안락사시켰다.

표 30

[0423] 표 30. 개 독감 감염* - 임상 징후, 바이러스 분리, 조직병리학 결과

개 ID	처리 군	임상 징후	바이러스 분리			미세 병변 (조직병리학)
			비강 면봉	기관 스크레이핑	폐 조직들	
AKT	백신접종**	없음	음성	음성	음성	음성
ALH	백신접종**	없음	음성	음성	음성	음성
ALU	백신접종**	없음	음성	음성	음성	음성
ANJ	백신접종**	없음	음성	음성	음성	음성
ANU	백신접종**	없음	음성	음성	음성	음성
AJW	대조	없음	음성	음성	음성	음성
AKR	대조	없음	음성	음성	음성	음성
ALZ	대조	없음	음성	음성	음성	음성
ARC	대조	없음	음성	음성	음성	음성

[0424] *상기 동물들은 말 독감 분리체 Ohio 03으로 감염되었다.

[0425] **CARBIGENTM 보조된 비활성 말 인플루엔자 바이러스 오하이오 03 백신을 백신접종에 사용하였다.

[0426] 예 19 - 개에 대한 말 인플루엔자 바이러스 백신의 효능.

[0427] 플로리다에서의 독감 발병에서 분리되었던 개 인플루엔자(개 독감) 바이러스는 수많은 H3N8 형 말 인플루엔자 바이러스 분리체들과 밀접하게 관련되어 있다. DNA와 아미노산 서열 유사성 분석에 의하여 개 인플루엔자 바이러스는 말 인플루엔자 바이러스 A/equine/Ohio/03과 아주 유사하다고 예측되었다. 개들에게서 상용 말 인플루엔자 백신의 효능을 측정하기 위하여 개들에게 하기의 연구를 실시하였다.

[0428] 절차:

[0429] 약 16 개월된 혼성인 20 마리의 잡종들과 20 마리의 비글종들이 본 연구에 이용되었다. 상기 개들은 각각 6 내지 7 마리로 6 군들로 무작위로 할당하였다(표 31). 1 군과 4 군의 개들은 16 개월과 17 개월 되었을 때 피하(SQ) 경로를 통하여 상용 비활성화 보조된 말 인플루엔자 백신(EQUICINETM, Intervet Inc., Millsboro, DE)으로 백신접종되었다. 2 군과 5 군의 동물들에게는 1 ml 부피의 변형된 생 equine/Kentucky/91 인플루엔자 백신을 비강내 경로(단일 비강)를 통하여 백신접종하였다. 혈액 표본들이 백신접종한 날, 1차 백신접종 후 7일과 14일(1, 2, 4 및 5 군) 및 2차 백신접종 후 7일과 14일(1군과 4 군)에 채집되어 표준 프로토콜(SAM 124, CVB, USDA, Ames, IA)를 이용하는 H3N8 말 인플루엔자 바이러스와 개 인플루엔자 바이러스의 HI 역가를 측정하였다.

[0430] 백신접종군(최종 백신접종 후 72 일)과 대조군에게 세포-배양 성장된 말 인플루엔자 바이러스 균주 A/equine/Ohio/03(개 한 마리당 $10^{7.0}$ 내지 $10^{8.0}$ TCID₅₀)을 1 내지 2 ml 부피로 구강 인두로 감염시켰다. 공격 바이러스는 분무기(DeVilbiss Ultra-Neb[®] 초음파 분무기, Sunrise Medical, USA)를 사용하여 박무로 상기 개들에게 투여되었다. 감염 후 12일 동안 인플루엔자-관련 임상 징후들이 있는지의 여부를 알아보기 위하여 개들을 관찰하였다. 바이러스 분리를 위하여 -1 일부터 감염 후 12일까지 매일 항생제들(네오마이신과 폴리믹신 B)로 보충된 Ear1's MEM 배지 내에 비강과 구강 인두 면봉들이 채집되었다. 상기 면봉들 내에 바이러스가 존재한다는 것은 상기 동물이 비강/구강 분비물들 내에 바이러스를 배출하고 있다는 것을 나타낸다. 감염 후 12일 되는 날에 모든 개들을 인도적으로 안락사시키고 조직병리학적 평가를 위하여 폐 조직들을 10 % 완충 포르말린 내에서 채집하였다.

표 31

[0431]

표 31. 실험 설계					
군	개들의 개체수	견종	처리	복용량 회수	백신접종 경로
1	7	비글	EQUICINE II ^{TM**}	2	피하
2	7	비글	A/KY/91	1	비강 내
3	6	비글	대조	N/A*	N/A*
4	7	잡종	EQUICINE II ^{TM**}	2	피하
5	7	잡종	A/KY/91	1	비강 내
6	6	잡종	대조	N/A*	N/A*

[0432] *해당사항 없음

[0433] **EQUICINE IITM은 액체 백신으로서 Intervet Inc.가 시판한다. EQUICINE IITM은 카보폴(즉, HAVLOGEN[®] (Intervet Inc.))과의 비활성화된 A/Pennsylvania/63 인플루엔자(또는 "A/Pa/63") 바이러스와 A/equine/Kentucky/93 인플루엔자(또는 "A/KY/93") 바이러스를 함유한다. 더 구체적으로는, EQUICINE IITM은 하기를 함유한다: $10^{6.0}$ EID₅₀에서의 A/Pa/63, $10^{6.7}$ EID₅₀에서의 비활성화된 A/KY/93, 카보폴 부피비 0.25 % 및 충분한 양의 PBS로서 총 1 ml의 부피를 발생시킨다.

[0434] ***A/KY/91은 물로 재구성된 동결건조된 백신이다. 백신 투여량을 총 1 ml로 하기에 충분한 백신 등급 물을 사용하여 그러한 재구성 하였다. 상기 백신은 equine/Kentucky/91 인플루엔자(또는 "A/KY/91") 바이러스를 함유하였으며, 예를 들어, 이 특허에 그대로 참고로 포함된 U.S. Patent Nos. 6,436,408; 6,398,774; 및 6,177,082에

서 다루어진다. 재구성되는 경우, 백신의 투여량은 $\text{mL당 } 10^{7.2} \text{ TCID}_{50}$ 에서의 A/KY/91, $\text{mL당 } 0.015$ 그램 N-Z AMINE ASTM, $\text{mL당 } 0.0025$ 그램 젤라틴 및 $\text{mL당 } 0.04$ 그램 D 락토오스를 함유하였다. N-Z AMINE ASTM는 카제인의 효소 가수분해로 생성된 아미노산들과 펩티드들의 정제된 소스이다. N-Z AMINE ASTM는 Kerry Bio-Science(Norwich, NY, USA)가 시판한다.

[0435] 결과:

[0436] 백신접종 이후에 백신접종된 모든 개들이 혈청전환되었으며 말 인플루엔자 바이러스(H3N8 형)를 사용하는 A/KY/91 백신 군에 대한 HI 역가들이 10 내지 40인 것에 비하면 EQUICINE IITM 백신 군에 대한 HI 역가들이 10 내지 80의 범위에 이르렀다.

[0437] 백신접종 후(EQUICINE IITM 백신에 대한 2차 백신접종 후) 2 주일에 채집된 표본들은 말 인플루엔자 바이러스(H3N8 형)에 대한 HI 역가 측정뿐만 아니라 말 인플루엔자 바이러스에 대한 HI 역가 측정을 위하여 분석되었다. 상기 HI 결과들은 표 32에 나타나 있다. 임상 징후들은 상기 감염 이후에 관찰된 발열($> 103^{\circ}\text{F}$; $> 39.4^{\circ}\text{C}$), 간헐적 기침 및 약하게 발생하는 비루를 포함한다.

표 32

[0438]

표 32. 혈청학 - 백신접종 2 주 후의 HI 역가들							
군	개들의 개체수	전종	처리	하기와의 HI 역가			
				말 인플루엔자 바이러스		개 인플루엔자 바이러스	
				범위	GMT	범위	GMT
1	7	비글	Equicine II TM	10-80	36	10-80	33
2	7	비글	A/KY/91	10-20	12	20-160	54
3	6	비글	대조	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*
4	7	잡종	Equicine II TM	40-80	54	40-80	50
5	7	잡종	A/KY/91	10-40	24	40-80	49
6	6	잡종	대조	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*

[0439] *해당 사항 없음

[0440] 비글들 중에서, 상기 EQUICINE IITM 백신 군(1 군)의 6 마리 개들 중 2 마리, A/KY/91 백신 군(2 군)의 7 마리 개들 중 1 마리와 대조군(3 군)의 6 마리 중 2 마리가 발열이 있었다. 3 군(대조군)의 6 마리 중 1 마리가 0.25 % 닭 적혈구들(CRBC)과의 적혈구응집반응 분석법에 의한 비강 면봉의 세포 배양 상청액 내의 바이러스에 대하여 양성이었다. 대조군(3 군)의 6마리 중 1 마리와 A/KY/91 백신군(2 군)의 7 마리 중 1 마리가 감염 후 관찰 기간 동안 경미한 비루가 있었다. 비글종 개들의 대조군과 백신군들 사이에 통계적 의미가 있는 차이($P > 0.05$)는 없었다.

[0441] 잡종견들 사이에서, EQUICINE IITM 백신군(4 군)의 7 마리 중 5 마리, A/KY/91 백신군(5 군)의 7 마리 중 1 마리와 대조군(6 군)의 6 마리 중 5 마리는 발열이 있었다. 4 군과 6 군 각각에서 1 마리씩 경미한 비루가 있었으며, 5 군의 1 마리가 간헐적으로 기침을 하였다. EQUICINE IITM 백신군(4 군)의 7 마리 중 2 마리와 대조군(6 군)의 6 마리 중 3 마리가 HA 분석법에 의한 비강 면봉의 인플루엔자 바이러스 대하여 양성이었다. A/KY/91 군(5 군)의 개들 중 어느 것도 비강 면봉 물질 내의 인플루엔자 바이러스에 대하여 양성인 것은 없었다.

[0442] 결론:

[0443] 혈청학에 의하여, 상용 말 인플루엔자 백신들로 개들을 백신접종시키면 중간 수준의 인플루엔자 항체 반응을 자극한다는 것이 예증되었다. H3N8 형 인플루엔자 바이러스로 감염한 이후에 개들의 인플루엔자-관련 임상 징후들의 전개에서 건중간 차이가 약간 존재할 수 있다. 생 약독화 말 인플루엔자 백신(A/KY/91)은 잡종견들의 직장 온도에서 임상 질병이 전개되지 않도록 상당한($P < 0.05$) 보호를 제공하였다. 또한, 생 약독화 바이러스 백신은 비강 분비물들 내에서 인플루엔자 바이러스의 증식을 방지하였다.

[0444] 예 20 - 개 인플루엔자 감염 모델 전개

[0445] 연구 목적을 위하여 개들에게 질병을 유도하는 것이 성공적이지 않음이 증명된 보고서들 때문에, 개들의 개 인플루엔자 감염 모델을 전개하기 위하여 개 인플루엔자 바이러스 H3N8을 사용하는 잠재성을 하기 연구에서 조사되었다.

[0446] 절차:

[0447] 혼성인 10 마리 잡종견들을 상용 공급자로부터 구입하였으며 BSL-2 시설 내의 한 케이지에 수용시켰다. 상기 개들은 5 마리씩 각각 2 군으로 무작위 할당되었다. 표 33에서 보이는 바와 같이, 1 군은 기관 내/비강 내 감염을 받으며, 나머지 군은 구비강 감염을 거쳤다.

표 33

[0448]

표 33. 실험 설계		
군	개들의 개체수	감염 경로
1	5	기관 내/비강 내
2	5	구비강

[0449] 상기 개들은 약 12 주가 되었을 때 감염되었다. 부화된 달걀 성장된 개 인플루엔자 바이러스 (A/canine/Florida/242/03)가 공격 바이러스로 사용되었다. 각각의 개는 2 ml(구비강 경로) 또는 4 ml(기관 내/비강 내 경로) 부피 중 어느 하나로 약 $10^{7.2}$ TCID₅₀의 바이러스 총량을 받았다.

[0450] 기관 내/구비강 감염에 대하여, 공격 바이러스 3 ml가 최초로 기관으로 투여되었으며, 이후 컵프 기관 튜브(크기 4.0/5.0, Sheridan, USA)와 인공 영양관(크기 5 Fr, 1.7 mm, 길이 16 인치(41 cm), Kendall, USA) 및 1 ml 공격 바이러스로 구성된 전달관을 사용하여 PBS 5 ml가 투여가 되따랐으며, 이후 주사기를 사용하여 비강으로 3 ml의 대기가 투여되었다.

[0451] 구비강 감염에 대하여, 공격 바이러스가 분무기(Nebulair™, DVM Pharmaceuticals, Inc., Miami, FL)를 사용하여 박무로 약 2 ml의 부피로 투여되었다. 감염 후 14일 동안 독감-관련 임상 징후들에 대한 여부를 알아보기 위하여 개들이 관찰되었다. 감염 후 14일에 상기 개들을 안락사시켰으며, 조직(폐와 기관) 표본들이 조직병리학적 검사를 위하여 10 % 완충 포르말린 내에서 채집되었다.

[0452] 결과:

[0453] 1 군과 2 군의 모든 개들이 24 내지 48 시간 이내에 개 인플루엔자 임상 징후들을 보였다. 각각의 개는 2 개 이상의 하기 임상 징후들을 가졌다: 발열(> 103 °F; > 39.4 °C), 기침, 중증 또는 점액농성 눈물, 중증 또는 점액농성 비루, 구토, 설사, 우울증, 체중 감소, 구역질, 각혈 및 청진상 수포음. 1 군의 5 마리 중 5 마리와 2 군의 5 마리 중 4 마리로부터 유래한 폐 조직들은 하기 하나 이상을 포함하는 조직병리학적 병변들을 가졌다: 화농성 기관지폐렴 확산, 내강 내에서의 호중성 삼출액의 전색(plug)이 있는 기관지염/세기관지염 및 점막 및 세기관지주위 조직에서의 뚜렷한 단핵 세포 응집, 과립세포성 세포 침투뿐만 아니라 다량의 포말성 대식세포들, 림프세포 및 혈장 세포들로 격막 내에서의 혼합된 삼출액 및 인플루엔자 바이러스 감염과 융합하거나 인플루엔자 바이러스 감염으로 진단되는 II 형 폐포세포들로의 폐포 격막의 비대. 상기 기관 조직 표본들은 정상적이었다.

[0454] 결론:

[0455] 본 연구에 사용된 것과 같은 H3N8 개 인플루엔자 분리체는 본 연구 또는 유사한 방법에서 기술된 방법들 중 어느 하나를 이용하여 개들에게서 개 인플루엔자 질병을 유도하는 데 사용될 수 있다.

[0456] 예 21 - 개 인플루엔자 감염 모델 전개.

[0457] 개들의 개 인플루엔자 감염 모델을 전개하기 위하여 개 인플루엔자 바이러스 H3N8을 사용하는 잠재성을 하기 연구에서 더 조사되었다.

[0458] 절차:

[0459] 15 마리의 17 내지 18 주된 잡종견들과 5 마리의 15 주된 비글들을 상용 공급자들로부터 구하여 BSL-2 시설의

케이지들에 수용하였다. 잡종견들은 각각 5 마리를 1 군으로 하여 3 군으로(1 군 내지 3 군) 무작위 할당되었다. 모든 비글들은 표 34에서 보이는 바와 같이 1 군(4 군)으로 할당되었다:

표 34

표 34. 실험 설계			
군	건종	개들의 개체수	공격 바이러스 투여량
1	잡종	5	$10^{6.8}$ TCID ₅₀
2	잡종	5	$10^{5.8}$ TCID ₅₀
3	잡종	5	$10^{4.8}$ TCID ₅₀
4	비글	5	$10^{6.8}$ TCID ₅₀

상기 개들은 유독성 개 인플루엔자 바이러스 A/Canine/Florida/242/2003(개인플루엔자 질병이 있는 그레이하운드 개의 폐에서 분리됨)(University of Florida의 Cynda Crawford 박사에 의하여 제공)를 구비강으로 감염시켰다. 상기 공격 바이러스는 분무기(Nebulair™)를 사용하여 박무로서 약 2 ml 부피가 투여되었다. 상기 개들은 감염 후 14일 동안 독감-관련 임상 징후의 여부를 위하여 관찰되었다.

결과:

1 군과 4 군의 개들 중 80 퍼센트(5 마리 중 4 마리), 2 군과 3 군의 개 100 %가 48 시간 이내에 개 인플루엔자 임상 징후들을 보였다. 각각의 개는 하나 이상의 하기의 임상 징후들을 가졌다: 열병(> 103.0 °F; > 39.4 °C), 기침, 중증 또는 점액농성 눈물, 중증 또는 점액농성 비루, 구토, 설사, 우울증, 체중 감소, 구역질 및 수포음. 비글들에게서 관찰된 임상 징후들은 잡종견들에 비하여 일반적으로 더 경미하였으며 단기적이었다.

결론:

본 연구에 사용된 것과 같은 H3N8 개 인플루엔자 분리체는 본 연구 또는 $10^{4.8}$ 내지 $10^{6.8}$ TCID₅₀에 이르는 감염 투여량 범위를 이용한 유사한 방법에서 기술된 방법을 이용하여 개들의 개-인플루엔자-유사 또는 개-기관지염-유사 질병을 유도하는 데 사용될 수 있다. 잡종견들과 비글들에서 관찰된 임상 징후들에서는 약간의 차이점들이 있었다. 일반적으로, 비글들은 잡종견들과 비교하여 더 경미한 독감-관련 임상 징후들을 가지는 경향이 있다.

예 22 - 개 인플루엔자 백신 효능 연구.

개 인플루엔자 바이러스에 대항하여 개들에게서 H3N8 말 인플루엔자 백신의 효능을 평가하기 위하여 하기의 연구가 행해졌다.

절차:

17 마리의 14 주된 잡종견들과 10 마리의 8 주된 비글들을 상용 공급자로부터 구하였다. 상기 개들은 표 35에 보이는 바와 같이 5 군들로 무작위 할당되었으며, 연구 시설에 수용되었다.

표 35

표 35. 실험 설계					
군	연령	개들의 개체수	처리	투여량 횟수	백신접종시 연령(주)
1	14 주	7	백신접종	2	14 및 18
2	14 주	5	백신접종	1	18
3	14 주	5	대조	--	--
4	8 주	5	백신접종	2	8 및 12
5	8 주	5	대조	--	--

본 연구에 사용된 백신은 HAVLOGEN®-보조제, 비활성화된 말 인플루엔자 바이러스(A/equine/KY/02) 백신이었다. 이 백신을 준비하기 위하여, 상기 바이러스가 표준 방법을 이용하여 이원 에틸렌이민(BEI)에 의하여 비활성

화되었다. 각각의 백신은 HAVLOGEN[®] (10 % v/v), 비활성화된 바이러스 6144 HA 단위, 10 % 티메로살 0.1 % (v/v), 페놀 레드 0.1 % (v/v), pH를 6.8 내지 7.2로 조절하는 데 충분한 NaOH 및 전체 투여 부피를 1 mL로 하는 데 충분한 PBS를 포함하였다.

[0472] 1 군과 4 군의 개들에게는 백신 2 투여량이 백신접종 되었다. 2차 투여(즉, 추가면역)은 1차 이후 4 주에 투여 되었다. 2 군의 개들은 18 주 되었을 때 1 투여량이 백신접종되었다. 1차 및 2차 백신접종 후 0일(백신접종 전), 7일 및 14일에 H3N8 개 인플루엔자 분리체의 표준 프로토콜(예컨대, SAM 124, CVB, USDA, Ames, IA)를 이용한 HI 역가 측정을 위하여 혈액 표본들이 채집되었다. 감염되기 약 5일 전에, 상기 개들이 BSL-2 시설로 옮겨져서 개별 케이지들에서 수용되었다.

[0473] 모든 백신접종받은 개체들과 연령이 일치하는 대조 개들은 1 군과 4 군의 2차 백신접종 후와 2 군의 1차 백신접종 후 2 주일에 유독성 개 인플루엔자 바이러스(개 한 마리당 A/Canine/Florida/242/2003의 $10^{7.7}$ TCID₅₀)가 구비강으로 감염되었다. 상기 공격 바이러스는 분무기(Nebular[™])를 이용하여 박무로서 개 한 마리당 2 mL의 양이 투여되었다. 상기 개들은 감염 후 17일 동안 인플루엔자-관련 임상 징후들의 발생 여부를 위하여 관찰되었다. 감염 후 -1일(즉, 감염 전 날) 내지 17일까지 바이러스 분리를 위하여 2 mL 바이러스 수송 배지를 포함하는 튜브들 내에 비강 및 구강 인두 면봉들이 채집되었다. 감염 후 17일 되는 날에 모든 개들을 안락사시켰으며, 폐 및 기관 표본들이 조직병리 검사를 위하여 10 % 완충 포르말린 내에 채집되었다. HI 역가 측정을 위하여 감염 후 7일과 14일에 혈액 표본들이 채집되었다. 감염 후 관찰에 이용된 임상 징후 스코어 할당 수치들(assignments)이 표 36에 나타나 있다.

[0474] 결과:

[0475] 2 회 투여된 백신접종 군들(1 군과 4 군)의 모든 개들은 개 인플루엔자 바이러스 분리체에 대한 HI 항체 역가 반응들을 보였다(표 37). 감염된 이후에, 모든 군들에서 감염 후 14일 되는 날에 역가가 약 4-배 증가한 것은 모든 개들이 공격 바이러스에 노출되었음을 나타낸 것이다. 모든 개들은 하기에서 개 인플루엔자의 하나 이상의 징후들을 보였다: 발열($> 103.0^{\circ}\text{F}$; $> 39.4^{\circ}\text{C}$), 기침, 중증 또는 점액농성 눈물, 중증 또는 점액농성 비루, 구토, 설사, 우울증, 체중 감소 및 호흡곤란. 백신접종 군들은 연령 일치 대조군에 비하여 임상 징후들이 더 약하였다(표 38). 8-주($P = 0.040$)와 14-주($P = 0.003$)된 개들(각각 4 군과 1 군) 양쪽 모두에서 2 회 투여 백신접종으로 인하여 임상 징후들에 있어서 상당한 감소가 있었다. 본 실험에서, 1 회 투여 백신접종은 임상 징후들에 있어서 상당한($P = 0.294$) 감소를 제공하지 않았다.

[0476] 바이러스 분리 결과들은 표 39에 나타나 있다. 14 주된 개들 사이에는, 2 회 백신 군(1 군)의 7 마리 중 2 마리, 1 회 백신 군(2 군)의 5 마리 중 2 마리 및 대조군(3 군)의 5 마리 중 5 마리로부터 채집한 면봉 표본들로부터 개 인플루엔자 바이러스가 분리되었다. 8 주된 개들 사이에는, 2 회 백신 군(4 군)의 5 마리 중 1 마리(20 %) 및 대조군(5 군)의 5 마리 중 4 마리(80 %)로부터 채집한 상기 바이러스가 분리되었다. 백신접종되지 않은 대조군들(3 군과 5 군)에 비하여 2 회 백신접종(1 군과 4 군)으로 인하여 면봉 표본들에서 개 인플루엔자 바이러스에 대하여 양성반응을 보인 개들의 숫자에 상당한 감소($P = 0.003$)가 있었다. 1 회 투여 백신 군(2 군)과 대조군(3 군) 사이에서 면봉 표본들 내의 개 인플루엔자 바이러스에 대하여 양성을 보인 개들의 숫자에서 감소(60 % 대 100 %)가 있었지만, 그 차이는 통계적으로 중요하지 않다($P = 0.222$).

[0477] 병변에 대한 폐와 기관 조직 표본들의 조직병리학적 평가를 실시하여, 개 인플루엔자 질병과 융합하거나 개 인플루엔자 바이러스로 진단되는 병변들을 확인하였다. 이것은 예를 들어, 하기 증상 중 하나 이상이 존재하는지 여부의 결정을 포함한다: 화농성 기관지폐렴이 있는 부위; 단핵 세포 집합(림프구들, 혈장 세포들)이 있는 기관지주위염/세기관지주위염; 내강 내에 파립세포성 세포 파편의 전색(plug)의 존재; 호흡기 상피의 이상증식; 다량의 파립세포성 세포 및 세포 파편이 있는 폐포 내에서의 혼합된 삼출액(exudate); (포말성) 대식세포들, 혈장 세포들 및 림프구들의 응집체; 및 2 형 폐포세포들의 증식으로 폐포 격막의 비대.

[0478] 표 40은 개들에 대한 본 실험에서의 병변의 정도를 요약한 것이다. 14 주된 개들 사이에, 폐 병변들은 2 회 투여 백신접종 군(2 군)의 7 마리 중 5 마리와 1 회 투여 백신접종 군(1 군)의 5 마리 중 4 마리에서 폐 병변들이 범위와 강도 면에서 더 경미하였다. 모든 대조 비교 개들(3 군)은 중증이며 광범위한 병변들을 가졌는데 이는 보호가 되지 않았다는 것을 드러낸 것이다. 14 주된 개들 사이에는 1 회 투여 또는 2 회 투여 백신접종으로 인하여 기관 병변들에서 차이가 없었다. 8 주된 개들 사이에는 2 회 투여 백신접종 군들과 대조 비교 개들 사이의 폐 병변에서 차이가 존재하지 않았다. 상기 개들 중 어느 하나도 기관 병변을 가지지 않았다.

[0479] 결론:

[0480] 본 연구로부터 (1) 비활성화된 H3N8 말 인플루엔자 바이러스는 백신접종된 개들에서 개 인플루엔자 바이러스 교차 반응성 HI 항체 반응들을 유도할 수 있으며, (2) H3N8 말 인플루엔자 바이러스 백신을 사용하면 개들에게서 개 인플루엔자 바이러스 질병의 심화를 감소시킬 수 있으며, 그리고 (3) H3N8 말 인플루엔자 바이러스 백신을 사용하면 비강 및/또는 구강 분비물들에서 바이러스 배설을 감소시킬 수 있음을 예증한다.

표 36

[0481]

표 36. 임상 징후 및 스코어링 시스템	
임상 징후	일일 스코어
체온	
<103.0 °F(<39.4 °C)	0
103.0 - 109.9 °F(39.4 °C)	2
104.0 - 104.9 °F(40.0 - 40.5 °C)	3
>105.0 °F(>40.6 °C)	4
기침	
기침 안함	0
간헐적	2
발작성	4
재채기	
재채기 안함	0
간헐적	1
발작성	2
콧물	
콧물 없음	0
심각 -경미	1
심각 -막대함	1
점액농성의 -경미	2
점액농성의 -막대함	3
눈물	
눈물 없음	0
심각 -경미	1
심각 -막대함	1
점액농성의 -경미	2
점액농성의 -막대함	3
각혈	
없음	0
있음	5
우울증	
없음	0
있음	1
식욕부진	
없음	0
있음	1
호흡기 징후	
없음	0
수포음	3
호흡곤란	4
숨막힘	5
점막 토출	
없음	0
있음	2
구토	
없음	0
있음	1
대변 이상	

없음	0
있음	1

표 37

[0482]

표 37. 혈청 검사 - 적혈구응집소 억제 역가들												
군 번호	개 ID	연령 (주)	처리	투여 횟수	HI 역가							
					1 과 4 군의 1차 백신접종 후 날짜						감염 후 날짜	
					0*	7	14	28*	35	42***	7	14
1	921	14	백신접종	2	< 10	< 10	10	20	40	20	160	320
1	926	14	백신접종	2	< 10	< 10	< 10	40	40	80	80	> 640
1	931	14	백신접종	2	< 10	< 10	< 10	10	20	20	80	> 640
1	955	14	백신접종	2	< 10	< 10	< 10	10	40	40	160	320
1	011	14	백신접종	2	< 10	< 10	< 10	10	20	40	160	320
1	013	14	백신접종	2	< 10	< 10	< 10	20	40	40	160	320
1	019	14	백신접종	2	< 10	< 10	< 10	10	20	40	80	> 640
2	922	14	백신접종	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	> 640	> 640
2	953	14	백신접종	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	320	> 640
2	015	14	백신접종	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	320	> 640
2	016	14	백신접종	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	160	320
2	017	14	백신접종	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	320	> 640
3	923	14	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	160
3	012	14	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	320
3	014	14	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	160
3	018	14	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	160
3	01A	14	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	160
4	406	8	백신접종	2	< 10	< 10	10	40	80	80	160	> 640
4	407	8	백신접종	2	< 10	20	20	40	40	40	320	> 640
4	504	8	백신접종	2	< 10	< 10	10	20	20	80	160	> 640
4	704	8	백신접종	2	< 10	< 10	10	40	80	160	160	> 640
4	705	8	백신접종	2	< 10	< 10	< 10	40	80	160	160	> 640
5	404	8	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160
5	405	8	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	80
5	610	8	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	20	40
5	702	8	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160
5	703	8	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	160

[0483]

*1차 백신접종 - 1과 4 군

[0484]

**2차 백신접종 - 1과 4 군; 1차 백신접종 - 2 군

[0485]

***감염 일자

표 38

[0486]

표 38. 개 인플루엔자 질병 임상 스코어 전체 분석					
군	처리	백신 투여의 횟수	1 군과 4 군의 1 차 접종시의 연령	개 1 마리당 전체 스코어 평균	P-수치*
1	백신접종	2	14 주	8.7	0.003 (1 군 대 3 군)
2	백신접종	1	14 주 (이 개들은 18 주가 되었을 때 1 회 백신접종 받았다)	21.8	0.294 (2 군 대 3 군)

3	대조	--	14 주 (이 개들은 백신접종 받지 않았다)	25.4	--
4	백신접종	2	8 주	2.0	0.040 (4 군 대 5 군)
5	대조	--	14 주 (이 개들은 백신접종 받지 않았다)	5.4	--

[0487]

*SAS[®] 버전 8.2의 NPARIWAY 절차를 이용하여 분석되었다(백신 군들은 윌콕슨 순위합 검정(Wilcoxon rank sum test)을 이용하여 비교되었다).

표 39

표 39. Virus shedding																									
Group No	Dog ID	Age (week)	Treatment	Number of vaccine doses	Days post-challenge																				
					-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17		
1	921	14	Vaccinate	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	926	14	Vaccinate	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	931	14	Vaccinate	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	955	14	Vaccinate	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	011	14	Vaccinate	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	013	14	Vaccinate	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	019	14	Vaccinate	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	922	14	Vaccinate	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	953	14	Vaccinate	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	015	14	Vaccinate	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	016	14	Vaccinate	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	017	14	Vaccinate	1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	923	14	Control	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	012	14	Control	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	014	14	Control	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	018	14	Control	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	01A	14	Control	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
4	406	8	Vaccinate	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
4	407	8	Vaccinate	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
4	504	8	Vaccinate	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
4	704	8	Vaccinate	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
4	705	8	Vaccinate	2	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
5	404	8	Control	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
5	405	8	Control	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
5	610	8	Control	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
5	702	8	Control	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
5	703	8	Control	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

[0488]

표 40

[0489]

표 40. 조직 표본들의 조직병리학적 평가						
군 번호	개 ID	연령 (주)	처리	투여량의 횟수	미세 병변 (조직병리 검사)	
					폐	기관
1	921	14	백신접종	2	+/-	-
1	926	14	백신접종	2	-	+/-
1	931	14	백신접종	2	-	-
1	955	14	백신접종	2	+/-	-
1	011	14	백신접종	2	+/-	-

1	013	14	백신접종	2	+/-	+/-
1	019	14	백신접종	2	+/-	+/-
2	922	14	백신접종	1	+/-	-
2	953	14	백신접종	1	+/-	+/-
2	015	14	백신접종	1	+/-	+
2	016	14	백신접종	1	-	-
2	017	14	백신접종	1	+/-	+/-
3	923	14	대조	N/A	+	+/-
3	012	14	대조	N/A	+	-
3	014	14	대조	N/A	+	-
3	018	14	대조	N/A	+	-
3	01A	14	대조	N/A	+	+/-
4	406	8	백신접종	2	+/-	-
4	407	8	백신접종	2	-	-
4	504	8	백신접종	2	+/-	-
4	704	8	백신접종	2	-	-
4	705	8	백신접종	2	-	-
5	404	8	대조	N/A	-	-
5	405	8	대조	N/A	-	-
5	610	8	대조	N/A	+/-	-
5	702	8	대조	N/A	+/-	-
5	703	8	대조	N/A	-	-

[0490] "+" 인플루엔자 감염과 일치하거나 특징적인 심각한 병변

[0491] "+/-" 경미한 병변(미확정)

[0492] "-" 정상적임

[0493] 예 23 - 개 인플루엔자 백신 효능 연구

[0494] 하기의 연구를 실시하여 개들에게서 개 인플루엔자 바이러스에 대항하는 다가의(multivalent) H3N8 개 인플루엔자 백신의 효능을 측정하였다.

[0495] 절차:

[0496] 15 주된 비글 개들을 17 마리 상용 공급자로부터 구입하였다. 상기 개들은 표 41에 보이는 바와 같이 3 개의 군들로 무작위 할당되었으며, 연구 시설 내에 수용되었다.

표 41

[0497]

표 41. 실험 설계				
군	개들의 개체수	처리	투여 횟수	백신접종시 연령(주)
1	7	백신접종	2	15 & 19
2	5	백신접종	1	19
3	5	대조	--	--

[0498] 본 연구에 사용된 백신은 HAVLOGEN[®] 보조된, 비활성화된 말 인플루엔자(A/equine/KY/02, A/equine/KY/93 및 A/equine/NM/2/93) 백신이었다. 이 백신을 준비하기 위하여, 상기 바이러스들은 표준 방법을 이용한 이원 에틸렌이민(BEI)에 의하여 비활성화되었다. 각각의 백신 투여량은 HAVLOGEN[®](10% v/v), 비활성화된 바이러스 각각의 2048 HA 단위들, 10 % 티메로살 0.1 %(v/v), 페놀 레드 0.1 %(v/v), pH를 6.8 내지 7.2로 조절하기에 충분한 NaOH 및 전체 투여량이 1 ml가 되기에 충분한 PBS를 포함하였다.

[0499] 1 군의 개들은 백신을 2 회 백신접종 되었다. 2차(즉, 추가면역) 투여는 1차 투여 후 4 주되는 날에 투여되었다. 2 군의 개들은 19 주 되었을 때 1 회 백신접종되었다. 혈액 표본들은 1차 및 2차 백신 접종 후 0일(백신접종 전), 7일 및 14일 되는 날에 채집되어 표준 프로토콜을 이용하여 H3N8 개 인플루엔자 분리체과의 HI

역가를 평가하였다. 감염되기 전 7일에, 상기 개들은 BSL-2 시설로 옮겨졌으며 개별 케이지 내에 수용되었다.

[0500] 모든 백신접종받은 개체들과 연령이 일치하는 대조 개들은 1 군의 2차 백신 접종 후 2 주일과 2 군의 1차 백신 접종 후 2 군의 1차 백신접종 후 2 주일에 유독성 개 인플루엔자 바이러스(개 한 마리당 A/Canine/Florida/242/2003의 $10^{7.3}$ TCID₅₀)가 구비강으로 감염되었다. 상기 공격 바이러스는 분무기(Nebular^T_M)를 이용하여 박무로서 개 한 마리당 2 ml의 양이 투여되었다. 상기 개들은 감염 후 14일 동안 인플루엔자-관련 임상 징후들의 발생 여부를 위하여 관찰되었다. 감염 후 14일 되는 날에 모든 개들을 안락사시켰으며, 폐 및 기관 표본들이 조직병리 검사를 위하여 10 % 완충 포르말린 내에 채집되었다. HI 역가 측정을 위하여 감염 후 7 일과 14일에 혈액 표본들이 채집되었다. 감염 후 관찰에 이용된 임상 징후 스코어 할당 수치들이 표 42에 나타나 있다.

[0501] 결과:

[0502] 백신접종된 모든 개들은 개 인플루엔자 바이러스 분리체에 대한 HI 항체 역가 반응들을 보였다(표 43). 감염된 이후에, 모든 군들에서 사전-감염 HI 역가에 비하여 감염 후 14일 되는 날에 역가가 약 4-배 증가한 것은 모든 개들이 공격 바이러스에 노출되었음을 직접적으로 나타낸 것이다. 모든 개들은 하기에서 개 인플루엔자의 하나 이상의 징후들을 보인 각각의 개에 개 인플루엔자 질병의 징후들을 보였다: 발열(> 103.0 °F; > 39.4 °C), 기침, 중증 또는 점액농성 눈물, 중증 또는 점액농성 비루, 구토, 설사, 우울증, 체중 감소 및 호흡곤란. 백신 접종 군들은 연령 일치 대조군에 비하여 임상 징후들이 더 약하였다(표 44). 2 회 투여 백신접종으로 인하여 임상 징후들에 있어서 상당한(P = 0.028) 감소가 있었다(1 군). 1 회 투여 백신접종은 임상 징후들에서 상당한(P = 0.068) 감소를 제공하지 않았다(2 군).

[0503] 예 22에서와 같이, 병변에 대한 폐 및 기관 조직 표본들의 조직병리학적 평가를 실시하여 개 인플루엔자 질병과 융화하거나 개 인플루엔자 질병으로 진단된 병변들을 확인하였다. 표 45는 상기 개들에 대한 이 실험에서의 병변 정도를 요약한 것이다. 15 주된 개들 사이에서, 1 회 또는 2 회 투여 중 어느 하나로 개들에게 백신접종하면 모든 개들에게서 폐 병변을 방지하였다. 5 마리의 대조 개들 중 4 마리는 인플루엔자 질병과 일치하는 중증 화농성 기관지폐렴이 있었다. 2 회 투여 백신 군(1 군)의 7 마리 중 1 마리와 대조군(3 군)의 5 마리 중 1 마리는 인플루엔자 질병으로 원인을 돌릴 수 있는 기관염을 암시하는 경미한 기관 병변을 보였다.

[0504] 결론:

[0505] 본 연구의 결과들은 1) 비활성화된 H3N8 말 인플루엔자 바이러스는 백신접종된 개들에서 개 인플루엔자 바이러스 교차 반응성 HI 항체 반응들을 유도할 수 있으며, 그리고 2) H3N8 말 인플루엔자 바이러스 백신을 사용하면 개들에게서 개 인플루엔자 바이러스 질병의 심화를 감소시킬 수 있음을 예증한다.

표 42

[0506]

표 42. 임상 징후 및 스코어링 시스템	
임상 징후	일일 스코어
체온	
<103.0 °F(<39.4 °C)	0
103.0 - 109.9 °F(39.4 -	2
104.0 - 104.9 °F(40.0 -	3
>105.0 °F(>40.6 °C)	4
기침	
기침 안함	0
간헐적	2
발작성	4
재채기	
재채기 안함	0
간헐적	1
발작성	2
콧물	
콧물 없음	0
심각 -경미	1
심각 -막대함	1

점액농성의 -경미	2
점액농성의 -막대합	3
눈물	
눈물 없음	0
심각 -경미	1
심각 -막대합	1
점액농성의 -경미	2
점액농성의 -막대합	3
각혈	
없음	0
있음	5
우울증	
없음	0
있음	1
식욕부진	
없음	0
있음	1
호흡기 징후	
없음	0
수포음	3
호흡곤란	4
숨막힘	5
점막 토출	
없음	0
있음	2
구토	
없음	0
있음	1
대변 이상	
없음	0
있음	1

표 43

[0507]

표 43. 혈청 검사 - 적혈구응집소 억제 역가들											
군 번호	개 ID	처리	투여 횟수	HI 역가							
				1 군의 1차 백신접종 후 날짜						감염 후 날짜	
				0*	7	14	28*	35	42***	7	14
1	ALK	백신접종	2	< 10	< 10	20	20	80	40	160	320
1	AMF	백신접종	2	< 10	< 10	10	20	20	40	160	320
1	AKY	백신접종	2	< 10	20	20	20	40	40	160	80
1	ALC	백신접종	2	< 10	10	10	10	40	40	160	160
1	ALL	백신접종	2	< 10	< 10	10	10	40	20	160	320
1	ALM	백신접종	2	< 10	< 10	10	20	40	40	80	160
1	AMU	백신접종	2	< 10	20	40	40	40	40	40	160
2	ALA	백신접종	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	10	320	160
2	AMA	백신접종	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	20	> 640	80
2	APD	백신접종	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	10	> 640	320
2	APG	백신접종	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	10	320	80
2	APT	백신접종	1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	10	320	320
3	ALT	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	160
3	AMS	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160
3	AKX	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	20	80
3	ALX	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	80
3	AMI	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	80

[0508] *1차 백신접종 - 1 군

[0509] **2차 백신접종 - 1 군; 1차 백신접종 - 2 군

[0510] ***감염 일자

표 44

[0511]

표 44. 개 인플루엔자 질병 임상 스코어 전체 분석					
군	처리	백신 투여의 횟수	1 군의 1 차 접종시의 연령	개 1 마리당 전체 스코어 평균	P-수치*
1	백신접종	2	15 주	6.3	0.028 (1 군 대 3 군)
2	백신접종	1	15 주 (이 개들은 18 주가 되었을 때 1 회 백신접종 받았다)	14.2	0.068 (2 군 대 3 군)
3	대조	--	15 주 (이 개들은 백신접종 받지 않았다)	24.4	--

[0512] *SAS[®] 버전 8.2의 NPARIWAY 절차를 이용하여 분석되었다(백신 군들은 윌콕슨 순위합 검정을 이용하여 비교되었다).

표 45

[0513]

표 45. 조직 표본들의 조직병리학적 평가					
군 번호	개 ID	처리	투여의 횟수	미세 병변 (조직병리 검사)	
				폐	기관
1	ALK	백신접종	2	-	+/-
1	AMF	백신접종	2	-	-
1	AKY	백신접종	2	-	-
1	ALC	백신접종	2	-	-
1	ALL	백신접종	2	-	-
1	ALM	백신접종	2	-	-
1	AMU	백신접종	2	-	-
2	ALA	백신접종	1	-	-
2	AMA	백신접종	1	-	-
2	APD	백신접종	1	-	-
2	APG	백신접종	1	-	-
2	APT	백신접종	1	-	-
3	ALT	대조	N/A	+/-	-
3	AMS	대조	N/A	+	-
3	AKX	대조	N/A	+	-
3	ALX	대조	N/A	+	+/-
3	AMI	대조	N/A	-	-

[0514] "+" 인플루엔자 감염과 일치하거나 특징적인 심각한 병변

[0515] "+/-" 경미한 병변(미확정)

[0516] "-" 정상적임

[0517] 예 24 - 개 인플루엔자 백신 효능 연구

[0518] 하기의 연구를 실시하여 (1) 개들에게서 개 인플루엔자 바이러스에 대항하는 일가(monovalent) 대 다가의 H3N8 말 인플루엔자 바이러스들의 효능과 (2) 백신 효능에 미치는 투여 경로의 효과를 측정하였다.

[0519] 절차:

[0520] 10 주된 잡종견 30 마리를 상용 공급자로부터 구입하였다. 상기 개들은 표 46에 보이는 바와 같이 6 개의 군들로 무작위 할당되며, 연구 시설 내에 수용되었다.

표 46

[0521]

표 46. 실험 설계					
군	개들의 개체수	처리	백신접종 경로	투여 횟수	백신접종시 연령(주)
1	5	VAX-1	비강 내	2	10 및 14
2	5	VAX-2	피하	2	10 및 14
3	5	VAX-2	비강 내	2	10 및 14
4	5	VAX-3	피하	2	10 및 14
5	5	VAX-3	비강 내	2	10 및 14
6	5	대조	--	--	--

[0522] 3 가지 유형의 백신들(VAX-1, VAX-2 및 VAX-3)을 사용하였다. 상기 VAX-1은 HAVLOGEN[®] 보조된, 비활성화된 말 인플루엔자(A/equine/KY/02) 일가 백신이었으며, 각각의 투여량은 HAVLOGEN[®](10% v/v), 비활성화된 바이러스의 6144 HA 단위들, 10 % 티메로살 0.1 %(v/v), 페놀 레드 0.1 %(v/v), pH를 6.8 내지 7.2로 조절하기에 충분한 NaOH 및 전체 투여량이 1 ml가 되기에 충분한 PBS를 포함하였다. 상기 VAX-2는 HAVLOGEN[®] 보조된, 비활성화된 말 인플루엔자(A/equine/KY/02) 일가 백신이었으며, 각각의 백신 투여량은 HAVLOGEN[®](10% v/v), 비활성화된 바이러스의 4096 HA 단위들, 10 % 티메로살 0.1 %(v/v), 페놀 레드 0.1 %(v/v), pH를 6.8 내지 7.2로 조절하기에 충분한 NaOH 및 전체 투여량이 1 ml가 되기에 충분한 PBS를 포함하였다. 상기 VAX-3은 HAVLOGEN[®] 보조된, 비활성화된 말 인플루엔자(A/equine/KY/02, A/equine/KY/93 및 A/equine/NM/2/93) 다가 백신이었으며, HAVLOGEN[®](10% v/v), 군주 당 비활성화된 바이러스의 6144 HA 단위들, 10 % 티메로살 0.1 %(v/v), 페놀 레드 0.1 %(v/v), pH를 6.8 내지 7.2로 조절하기에 충분한 NaOH 및 전체 투여량이 1 ml가 되기에 충분한 PBS를 포함하였다. 상기 백신 제형에 사용된 모든 인플루엔자 바이러스들은 표준 방법을 이용한 이원 에틸렌이민(BEI)에 의하여 비활성화되었다.

[0523] 각각의 군에 대한 백신들과 투여 경로들이 표 46에 기술되어 있다. 백신접종된 군들의 모든 개들은 비강 내(IN) 또는 피하(SQ) 중 어느 하나의 경로를 통하여 백신접종되었으며, 각각의 개는 2 회 투여 받았다. 2차(즉, 추가 면역) 투여는 1 차 투여가 있는 지 4 주 되는 날에 투여받았다. 혈액 표본들은 1차 및 2차 백신 접종 후 0일(백신접종 전), 7일 및 14일 되는 날에 채집되어 표준 프로토콜을 이용하여 H3N8 개 인플루엔자 분리체과의 HI 역가를 평가하였다. 감염되기 전 7일에, 상기 개들은 BSL-2 시설로 옮겨졌으며, 개별 케이지 내에 수용되었다.

[0524] 모든 백신접종받은 개체들과 연령이 일치하는 대조 개들은 2차 백신접종 후 2 주일에 유독성 개 인플루엔자 바이러스(개 한 마리당 A/Canine/Florida/242/2003의 $10^{7.4}$ TCID₅₀)가 구비강으로 감염되었다. 상기 공격 바이러스는 분무기(Nebular[™])를 이용하여 박무로서 매일 2 ml의 양이 투여되었다. 상기 개들은 감염 후 14일 동안 인플루엔자-관련 임상 징후들의 발생 여부를 위하여 관찰되었다. 혈액 표본들은 HI 역가 측정을 위하여 감염 후 7일과 14일에 채집되었다. 감염 후 14일 되는 날에 모든 개들을 안락사시켰으며, 폐 및 기관 표본들이 조직병리 검사를 위하여 10 % 완충 포르말린 내에 채집되었다. HI 역가 측정을 위하여 감염 후 7일과 14일에 혈액 표본들이 채집되었다. 감염 후 관찰에 이용된 임상 징후 스코어 할당 수치들이 표 47에 나타나 있다.

[0525] 결과:

[0526] SQ 경로를 통하여 백신접종된 모든 개들은 백신 유형에 관계없이 개 인플루엔자 바이러스 분리체에 대하여 HI 항체 역가 반응들을 보였다. IN 백신접종 군들(즉, 1, 3 및 5 군)의 개들 중 어느 것도 백신접종 후 기간 동안 백신 유형에 관계없이 개 인플루엔자 바이러스 분리체에 대한 HI 항체 역가 반응을 보이지 않았다. 그러나, 감염 후 14일까지 모든 개들에게서 역가의 4-배 증가가 있었는데, 이는 모든 개들이 공격 바이러스에 노출되었음

을 직접적으로 나타내어 주는 것이다(표 47).

[0527] 모든 개들은 하기에서 개 인플루엔자의 하나 이상의 징후들을 보였다: 발열(> 103.0 °F; > 39.4 °C), 기침, 중증 또는 점액농성 눈물, 중증 또는 점액농성 비루, 구토, 설사, 우울증, 체중 감소 및 호흡곤란. 백신접종 군들은 연령 일치 대조군에 비하여 임상 징후들이 더 약하였다(표 49). SQ 경로를 통하여 VAX-3이 백신접종된 개들(4 군)에게서 임상 징후들의 상당한 감소가 있었다. 본 실험에서는, VAX-1, VAX-2 또는 VAX-3 중 어느 하나의 IN 투여는 개 인플루엔자 바이러스의 임상 징후들에서 상당한 감소를 제공하지 않았다.

[0528] 예 22와 23에서와 같이, 병변에 대한 폐 및 기관 조직 표본들의 조직병리학적 평가를 실시하여 개 인플루엔자 질병과 융화하거나 개 인플루엔자 질병으로 진단된 병변들을 확인하였다. 표 50은 상기 개들에 대한 이 실험에서의 병변 정도를 요약한 것이다. 5 마리의 대조 개들(6 군) 중 5 마리는 인플루엔자 감염과 일치하는 폐 병변이 있었다. SC 경로를 통하여 VAX-2가 백신접종된(2 군) 5 마리 중 2 마리와 SC 경로를 통하여 VAX-3이 백신접종된(4 군) 5 마리 중 3 마리는 임의의 인플루엔자 관련 폐 병변들이 없었다. 상기 백신이 유형에 관계없이 비강 내 경로를 통하여 백신을 투여받은 모든 개들은 인플루엔자 감염과 일치하는 중증 폐 병변이 있었다. 본 연구에서 관찰된 기관 병변들은 아주 경미한 것이었다.

[0529] 결론:

[0530] 본 연구의 결과들은 (1) 비활성화된 H3N8 말 인플루엔자 바이러스는 SQ 경로를 통하여 백신접종된 개들에서 개 인플루엔자 바이러스 교차 반응성 HI 항체 반응들을 유도할 수 있으며, (2) 일가(VAX-1 및 VAX-2) 또는 다가 백신(VAX-3) 중 어느 하나의 비강 내 투여는 개들에게서는 효능이 있지 않았으며, 그리고 (3) 다가 백신(VAX-3)의 피하 투여는 개들에게서 개 인플루엔자 바이러스 질병의 심화에 상당한(P=0.016) 감소를 제공하였다는 것을 예증한다.

표 47

[0531]

표 47. 임상 징후 및 스코어링 시스템	
임상 징후	일일 스코어
체온	
<103.0 °F(<39.4 °C)	0
103.0 - 109.9 °F(39.4 -	2
104.0 - 104.9 °F(40.0 -	3
>105.0 °F(>40.6 °C)	4
기침	
기침 안함	0
간헐적	2
발작성	4
재채기	
재채기 안함	0
간헐적	1
발작성	2
콧물	
콧물 없음	0
심각 -경미	1
심각 -막대함	1
점액농성의 -경미	2
점액농성의 -막대함	3
눈물	
눈물 없음	0
심각 -경미	1
심각 -막대함	1
점액농성의 -경미	2
점액농성의 -막대함	3
각혈	
없음	0
있음	5
우울증	

없음	0
있음	1
식욕부진	
없음	0
있음	1
호흡기 징후	
없음	0
수포음	3
호흡곤란	4
숨막힘	5
점막 토출	
없음	0
있음	2
구토	
없음	0
있음	1
대변 이상	
없음	0
있음	1

표 48

[0532]

표 48. 혈청 검사 - 적혈구응집소 억제 역가들												
군 번호	개 ID	처리	백신접종 경로	투여 횟수	HI 역가							
					백신접종 후 날짜						감염 후 날짜	
					0*	7	14	28*	35	42***	7	14
1	248	백신접종	IN	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	40
1	501	백신접종	IN	2	< 10	10	< 10	< 10	< 10	< 10	160	160
1	502	백신접종	IN	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160
1	469	백신접종	IN	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160
1	46A	백신접종	IN	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	80
2	232	백신접종	SQ	2	< 10	< 10	< 10	20	20	40	320	640
2	511	백신접종	SQ	2	< 10	10	10	20	20	20	160	640
2	514	백신접종	SQ	2	< 10	< 10	40	40	80	40	160	320
2	461	백신접종	SQ	2	< 10	10	10	20	20	20	> 640	> 640
2	463	백신접종	SQ	2	< 10	10	40	80	80	40	80	320
3	246	백신접종	IN	2	< 10	10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	40
3	505	백신접종	IN	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	80
3	506	백신접종	IN	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160
3	464	백신접종	IN	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	80
3	465	백신접종	IN	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160
4	23B	백신접종	SQ	2	< 10	10	10	40	40	20	160	160
4	247	백신접종	SQ	2	< 10	< 10	< 10	20	20	20	160	320
4	508	백신접종	SQ	2	< 10	10	40	40	80	80	320	320
4	512	백신접종	SQ	2	< 10	< 10	20	20	80	80	320	160
4	516	백신접종	SQ	2	< 10	10	10	20	80	80	160	> 640
5	503	백신접종	IN	2	< 10	10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160
5	513	백신접종	IN	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	80
5	462	백신접종	IN	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	320
5	466	백신접종	IN	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	80
5	46B	백신접종	IN	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160
6	236	대조	--	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160
6	504	대조	--	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	160	160
6	507	대조	--	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160
6	515	대조	--	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160

6	468	대조	--	2	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	160
---	-----	----	----	---	------	------	------	------	------	------	----	-----

- [0533] *1차 백신접종
- [0534] **2차 백신접종
- [0535] ***감염 일자

표 49

[0536]

표 49. 개 인플루엔자 질병 임상 스코어 전체 분석				
군	처리	백신접종 경로	개 1 마리당 전체 스코어 평균	P-수치*
1	VAX-1	비강 내	35.2	0.500 (1 군 대 6 군)
2	VAX-2	피하	31.0	0.345 (2 군 대 6 군)
3	VAX-2	비강 내	39.4	0.631 (3 군 대 6 군)
4	VAX-3	피하	13.0	0.016 (4 군 대 6 군)
5	VAX-3	비강 내	42.6	0.790 (4 군 대 6 군)
6	대조	--	36.8	--

- [0537] *SAS[®] 버전 8.2의 NPARIWAY 절차를 이용하여 분석되었다(백신 군들은 윌콕슨 순위합 검정을 이용하여 비교되었다).

표 50

[0538]

표 50. 조직 표본들의 조직병리학적 평가						
군 번호	개 ID	처리	백신접종 경로	투여의 횟수	미세 병변 (조직병리 검사)	
					폐	기관
1	248	백신접종	IN	2	+	-
1	501	백신접종	IN	2	+	-
1	502	백신접종	IN	2	+	-
1	469	백신접종	IN	2	+	+
1	46A	백신접종	IN	2	+	+
2	232	백신접종	SQ	2	+	-
2	511	백신접종	SQ	2	+	-
2	514	백신접종	SQ	2	-	-
2	461	백신접종	SQ	2	+	-
2	463	백신접종	SQ	2	-	-
3	246	백신접종	IN	2	+	-
3	505	백신접종	IN	2	+	-
3	506	백신접종	IN	2	+	+
3	464	백신접종	IN	2	+	-
3	465	백신접종	IN	2	+	+
4	23B	백신접종	SQ	2	-	-
4	247	백신접종	SQ	2	+/-	-
4	508	백신접종	SQ	2	-	-
4	512	백신접종	SQ	2	-	+/-
4	516	백신접종	SQ	2	+	+
5	503	백신접종	IN	2	+	+/-
5	513	백신접종	IN	2	+	+

5	462	백신접종	IN	2	+	+/-
5	466	백신접종	IN	2	+	+
5	46B	백신접종	IN	2	+	-
6	236	대조	--	2	+	-
6	504	대조	--	2	+	+
6	507	대조	--	2	+	+
6	515	대조	--	2	+	+/-
6	468	대조	--	2	+	+

[0539] "+" 인플루엔자 감염과 일치하거나 특징적인 심각한 병변

[0540] "+/-" 경미한 병변(미확정)

[0541] "-" 정상적인

[0542] 예 25 - 개 인플루엔자 백신 효능 연구

[0543] 개 인플루엔자 질병은 H3N8 인플루엔자 바이러스(CIV)에 의하여 유발된다. CIV는 말 H3N8 바이러스들과 아주 밀접하게 관련되어 있으며(Crawford *et al.*, 2005) 모든 노출된 개들을 감염시킨다.

[0544] 노출된 개들의 약 80 %는 임상 징후들로 발전한다. 하기의 연구에서 비활성화된 H3N8 말 인플루엔자 바이러스 백신과 개 인플루엔자 바이러스 백신의 효능이 측정되었다.

[0545] 절차:

[0546] 본 연구에는 35 마리의 비글종들과 5 마리의 잡종견들이 이용되었다. 비글들은 3 개 군들로 무작위 할당되었다(표 51). 모든 잡종견들은 대조군(3 군)으로 할당되었다. 모든 개들에게는 표준적인 성장 식단이 제공되었으며 물은 리비툼(libitum)으로 이용가능하였다.

표 51

[0547]

표 51. 실험 계획					
군	처리	백신접종 경로	개들의 개체수	백신접종시 연령 (주)	감염
1	VAX-1	비강 내	15	8 및 12	감염됨
2	VAX-2	피하	5	8 및 12	감염됨
3	대조	N/A	20	N/A	감염됨

[0548]

1 군과 2 군의 개들은 VAX-1이나 VAX-2 중 어느 하나로 백신접종되었다(표 51). VAX-1은 HAVLOGEN[®] 보조된, 비활성화된 말 인플루엔자(A/equine/KY/02) 백신이었다. 백신 준비를 위하여, 상기 백신 바이러스는 표준 방법을 이용하여 이원 에틸렌이민(BEI)에 의하여 비활성화되었다. 각각의 백신 투여량은 HAVLOGEN[®](10% v/v), 비활성화된 바이러스의 6144 HA 단위들, 10 % 티메로살 0.1 % (v/v), 페놀 레드 0.1 % (v/v), 전체 투여량이 1 ml가 되기에 충분한 PBS 및 pH를 6.8 내지 7.2로 조절하기에 충분한 NaOH를 포함하였다. VAX-2는 비활성화된, CARBIGENTM 보조된, 개 인플루엔자 항원 백신(A/canine/FI/43/2004)이었다. 각각의 백신 투여량은 질량비 5 %인 CARBIGENTM, 비활성화된 바이러스의 약 1280 HA 단위들, 전체 투여량이 1 ml가 되기에 충분한 PBS 및 pH를 7.2 내지 7.4로 조절하기에 충분한 NaOH를 포함하였다. 1차 및 2차 백신접종일, 1차 및 2차 백신접종 후 7일과 14일 및 사전-감염일에 모든 개들로부터 혈청 표본들을 채집하며, H3N8 말 인플루엔자 바이러스 표준 프로토콜(SAM 124, CVB, USDA, Ames, IA)를 이용하여 HI 역가들을 측정하였다. 감염 전 7일에, 상기 개들은 ABSL-2 시설에 옮겨졌으며 개별 케이지들에 수용되었다.

[0549]

모든 백신접종받은 개체들과 연령이 일치하는 대조 개들에게는 2차 백신접종 후 2 주일에 유독성 개 인플루엔자 바이러스(개 한 마리당 A/Canine/Florida/242/2003의 $10^{7.2}$ TCID₅₀)가 구비강으로 감염되었다. 상기 공격 바이러스는 분무기(Nebular[™])를 이용하여 박무로서 투여되었다. 상기 개들은 감염 후 14일 동안 인플루엔자-관련 임상 징후들의 발생 여부를 위하여 관찰되었다. 바이러스 분리를 위하여 -1일(즉, 감염 전날)부터 감염 후 14일까지

매일 바이러스 수송 배지 2 ml를 포함하는 튜브들 내에서 비강 및 구강 인두 면봉들이 채집되었다. 혈액 표본들은 HI 역가 측정을 위하여 감염 후 7일과 14일에 채집되었다. 감염 후 관찰에 이용된 임상 징후 스코어 할당 수치들이 표 52에 나타나 있다.

결과:

백신접종된 모든 개들(1 군과 2 군)은 개 인플루엔자 바이러스 분리체에 대하여 HI 항체 역가 반응들을 보였다(표 53). 모든 개들은 하기에서 개 인플루엔자의 하나 이상의 징후들을 보였다: 발열(> 103.0 °F; > 39.4 °C), 기침, 중증 또는 점액농성 눈물, 중증 또는 점액농성 비루, 구토, 설사, 우울증, 체중 감소 및 식욕부진. 백신 접종 군들은 연령 일치 대조군에 비하여 임상 징후들이 더 약하였다(표 54). SVAX-1(1 군) 또는 VAX-2(2 군) 중 어느 하나로 백신접종된 개들에게서 임상 징후의 상당한($P < 0.001$) 감소가 있었다.

*바이러스 분리 결과들은 표 55와 56에 나타나 있다. 독성 개 인플루엔자 바이러스 감염이 있는 후에, 상기 개 인플루엔자 바이러스는 1 군(VAX-1)의 15 마리 중 5 마리(33 %), 2 군의 5 마리 중 0 마리(0 %) 및 대조군(3 군)의 20 마리 중 17 마리(85 %)로부터 분리되었다. 비활성화된 말 인플루엔자 백신(VAX-1)과 개 인플루엔자 바이러스(VAX-2) 백신 접종받은 개체들 양쪽 모두는 대조군과 비교하여 비강이나 구강 분비물들 어느 하나 또는 양쪽 모두에서 바이러스 증식에 상당한($P = 0.004$) 감소가 있었음을 예측하였다.

결론:

본 연구의 결과들은 (1) 비활성화된 H3N8 말 인플루엔자 바이러스와 개 인플루엔자 바이러스 백신들은 백신접종된 개들에서 개 인플루엔자 바이러스 교차 반응성 HI 항체 반응들을 유도할 수 있으며, (2) H3N8 말 인플루엔자 바이러스 또는 개 인플루엔자 바이러스 백신을 사용하면 개들에게서 개 인플루엔자 바이러스 질병의 심화를 감소시킬 수 있으며, 그리고 (3) H3N8 말 인플루엔자 바이러스 또는 개 인플루엔자 바이러스 백신을 사용하면 비강 및/또는 구강 분비물들에서 바이러스 배설을 감소시킬 수 있음을 예측한다.

표 52

표 52. 임상 징후 및 스코어링 시스템	
임상 징후	일일 스코어
체온	
<103.0 °F(<39.4 °C)	0
103.0 - 109.9 °F(39.4 -	2
104.0 - 104.9 °F(40.0 - 40.5 °C)	3
>105.0 °F(>40.6 °C)	4
기침	
기침 안함	0
간헐적	2
발작성	4
재채기	
재채기 안함	0
간헐적	1
발작성	2
콧물	
콧물 없음	0
심각 -경미	1
심각 -막대함	1
점액농성의 -경미	2
점액농성의 -막대함	3
눈물	
눈물 없음	0
심각 -경미	1
심각 -막대함	1
점액농성의 -경미	2
점액농성의 -막대함	3
각혈	

없음	0
있음	5
우울증	
없음	0
있음	1
식욕부진	
없음	0
있음	1
호흡기 징후	
없음	0
수포음	3
호흡곤란	4
습막합	5
점막 토출	
없음	0
있음	2
구토	
없음	0
있음	1
대변 이상	
없음	0
있음	1

표 53

[0556]

표 53. 혈청 검사 - 적혈구응집소 억제 역가들											
군 번호	개 ID	처리	백신접종 경로	HI 역가							
				백신접종 후 날짜				감염 후 날짜			
				0*	7	14	28*	35	42***	7	14
1	AYS	백신접종	비강 내	< 10	< 10	< 10	20	40	40	80	≥ 640
1	AZV	백신접종	비강 내	< 10	< 10	< 10	20	40	40	160	≥ 640
1	BAD	백신접종	비강 내	< 10	< 10	< 10	40	40	80	80	320
1	BAE	백신접종	비강 내	< 10	< 10	10	20	20	20	40	320
1	BAH	백신접종	비강 내	< 10	< 10	10	10	40	40	160	≥ 640
1	BAJ	백신접종	비강 내	< 10	< 10	10	20	80	80	40	320
1	BAN	백신접종	비강 내	< 10	10	10	20	40	40	40	320
1	BBN	백신접종	비강 내	< 10	10	10	20	80	80	40	320
1	BBT	백신접종	비강 내	< 10	< 10	< 10	20	40	40	40	160
1	BBY	백신접종	비강 내	< 10	< 10	< 10	20	80	80	160	≥ 640
1	BCS	백신접종	비강 내	< 10	10	40	40	160	160	160	160
1	BCZ	백신접종	비강 내	< 10	10	10	20	80	40	160	160
1	BDP	백신접종	비강 내	< 10	< 10	< 10	20	40	40	80	≥ 640
1	BEE	백신접종	비강 내	< 10	10	20	40	80	80	160	320
1	BEY	백신접종	비강 내	< 10	< 10	10	10	40	40	160	160
2	AZH	백신접종	피하	< 10	< 10	10	20	80	80	160	160
2	AZT	백신접종	피하	< 10	< 10	10	10	40	80	320	≥ 640
2	BBC	백신접종	피하	< 10	< 10	20	40	160	160	80	160
2	BCM	백신접종	피하	< 10	< 10	10	20	80	40	80	160
2	BEB	백신접종	피하	< 10	< 10	< 10	10	20	40	80	160
3	AYT	백신접종	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	320
3	AZJ	백신접종	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	20	160
3	AZL	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	160
3	AZN	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	160	160
3	BAB	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	320
3	BBD	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	320	≥ 640
3	BBU	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	160	160

3	BBZ	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	20	160
3	BCC	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	320
3	BCD	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	≥ 640
3	BCG	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	≥ 640
3	BCI	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	20	320
3	BCL	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	≥ 640
3	BCV	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	40	320
3	BDU	대조	N/A	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	80	≥ 640
3	MFI	대조	N/A	NT	NT	NT	NT	< 10	< 10	80	320
3	MFJ	대조	N/A	NT	NT	NT	NT	< 10	< 10	40	320
3	MFK	대조	N/A	NT	NT	NT	NT	< 10	< 10	80	320
3	MFR	대조	N/A	NT	NT	NT	NT	< 10	< 10	80	320
3	MFS	대조	N/A	NT	NT	NT	NT	< 10	< 10	160	≥ 640

- [0557] *1차 백신접종
- [0558] **2차 백신접종
- [0559] ***감염 일자

표 54

[0560]

표 54. 개 인플루엔자 질병 임상 스코어 전체 분석			
군	처리	개 1 마리당 전체 스코어 평균	P-수치*
1	VAX-1	9.1	< 0.001 (1 군 대 3 군)
2	VAX-2	5.4	< 0.001 (2 군 대 3 군)
3	대조	24.1	--

- [0561] *SAS[®] 버전 9.1의 NPARIWAY 절차를 이용하여 분석되었다(상기 백신 군들은 GLM 절차를 이용하여 비교되었다).

표 55

[0562]

표 55. 개 인플루엔자 질병 임상 스코어 전체 분석			
군	처리	바이러스를 배설한 개의 백분율	P-수치*
1	VAX-1	33 %(5/15)	< 0.004 (1 군 대 3 군)
2	VAX-2	0 %(0/5)	< 0.004 (2 군 대 3 군)
3	대조	85 %(17/20)	--

- [0563] *SAS[®] (버전 9.1)의 FREQ 절차를 이용하여 분석되었고 P-수치는 Fisher 사의 정확검정과 관련되어 있다.

표 56

[0564]

표 56. 혈청학 - 적혈구응집소 억제 역가																		
군 번호	개 ID	처리	백신접종 경로	감염 후 날짜														
1	AYS	백신접종	비강 내	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	AZV	백신접종	비강 내	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BAD	백신접종	비강 내	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

1	BAE	백신접종	비강 내	N	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BAH	백신접종	비강 내	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BAJ	백신접종	비강 내	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BAN	백신접종	비강 내	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BBN	백신접종	비강 내	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BBT	백신접종	비강 내	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BBY	백신접종	비강 내	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BCS	백신접종	비강 내	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BCZ	백신접종	비강 내	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BDP	백신접종	비강 내	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BEE	백신접종	비강 내	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
1	BEY	백신접종	비강 내	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	AZH	백신접종	피하	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	AZT	백신접종	피하	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	BBC	백신접종	피하	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	BCM	백신접종	피하	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
2	BEB	백신접종	피하	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	AYT	대조	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	AZJ	대조	N/A	N	N	N	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	AZL	대조	N/A	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	AZN	대조	N/A	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	BAB	대조	N/A	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	BBD	대조	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	BBU	대조	N/A	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	BBZ	대조	N/A	N	N	N	P	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	BCC	대조	N/A	N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	BCD	대조	N/A	N	N	N	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	BCG	대조	N/A	N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	BCI	대조	N/A	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	BCL	대조	N/A	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	BCV	대조	N/A	N	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	BDU	대조	N/A	N	N	N	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	MFI	대조	N/A	N	N	N	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	MFJ	대조	N/A	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	MFK	대조	N/A	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	MFR	대조	N/A	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
3	MFS	대조	N/A	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

[0565] N - 구강이나 비강 면봉들로부터 분리된 바이러스는 없음

[0566] P - 구강이나 비강 면봉들로부터 분리된 바이러스가 존재함.

표 57

[0567]

표 57. 인플루엔자 바이러스들 간에 적혈구응집소, 뉴라미니다제 및 핵단백질 유전자 아미노산 서열 유사성		
유전자(개/플로리다/43/2004)	아미노산 서열 유사성	비교에 사용되는 인플루엔자 바이러스의 유전자
적혈구응집소	88	equine/Algiers/72
HA	90	equine/Sao paulo/6/69
HA	91	equine/Miami/1/63
HA	93	equine/Newmarket/79
HA	94	equine/Kentucky/1/81
HA	95	Equine-2/Ludhiana/87
HA	96	Equine/Alaska/1/91
HA	97	equine/Tennessee/5/86
HA	98	equine/Kentucky/5/02
HA	99	equine/Ohio/1/2003

HA	99	canine/Florida/242/2003
뉴라미니다제	88	Eq/Algiers/72
NA	90	equine/Sao Paulo/6/69
NA	91	equine/Miami/1/63
NA	93	equine/Newmarket/79
NA	94	equine/Kentucky/1/81
NA	95	equine-2/Ludhiana/87
NA	96	equine/Santiago/85
NA	97	equine/Tennessee/5/86
NA	98	equine/Kentucky/5/02
NA	99	equine/Ohio/1/2003
NA	99	equine/Florida/242/2003
핵단백질("NP")	94	equi/Miami/1/63
NP	97	equine/Kentucky/1/81
NP	99	equine/Kentucky/5/02
NP	99	equine/Ohio/1/2003
NP	99	canine/Florida/242/2003

- [0568] 이 특허에서의 "포함한다(comprise)", "포함한다(comprises) 및 "포함하는(comprising)이라는 단어들은 배타적이라기보다는 포괄적으로 해석해야 할 것이다. 이러한 해석은 이러한 단어들이 미국 특허법 하에서 기술된다는 해석과 동일하다는 것을 의도한다.
- [0569] 바람직한 실시예들의 상기 상세한 설명은 본 발명, 그 원리 및 그 실용적 응용이 특정한 용도의 요구사항들에 적합할 수 있는 바와 같이 수많은 형태로 당업자가 본 발명을 적용시켜 응용할 수 있도록 본 발명, 그 원리 및 그 실용적 응용을 당업자에게 정통하게 하려는 의도하기만 하는 것이다. 그러므로, 본 발명은 상기 실시예들에만 한정되지 않으며, 다양하게 변형될 수 있다.
- [0570] 여기에 기술된 예들과 실시예들은 예시적인 목적만을 위한 것이며, 그러한 견지에서 다양한 변형이나 변경이 당업자에게 제시될 것이며 본 출원의 사상과 범위 내에서 포함될 것이라는 것을 이해하여야 한다.
- [0571] 참고 문헌
- [0572] U.S. Patent No. 5,106,739
- [0573] U.S. Patent No. 5,034,322
- [0574] U.S. Patent No. 6,455,760
- [0575] U.S. Patent No. 6,696,623
- [0576] U.S. Patent No. 4,683,202
- [0577] U.S. Patent No. 4,683,195
- [0578] U.S. Patent No. 4,800,159
- [0579] U.S. Patent No. 4,965,188
- [0580] U.S. Patent No. 5,994,056
- [0581] U.S. Patent No. 6,814,934
- [0582] Published U.S. Application No. 20040078841
- [0583] Published U.S. Application No. 20040067506
- [0584] Published U.S. Application No. 20040019934
- [0585] Published U.S. Application No. 20030177536
- [0586] Published U.S. Application No. 20030084486

- [0587] Published U.S. Application No. 20040123349
- [0588] Greyhound Daily News, 1/28/99. National Greyhound Association (NGA), Abilene, Kansas. <http://www.NGAgreyhounds.com>.
- [0589] Personal communication, Dr. William Duggar, veterinarian at Palm Beach Kennel Club, West Palm Beach, Florida.
- [0590] Altschul, S. F. *et al.* (1990) "Basic Local Alignment Search Tool" *J Mol. Biol.* 215:402-410.
- [0591] Altschul, S. F. *et al.* (1997) "Gapped BLAST and PSI-BLAST: A New Generation of Protein Database Search Programs" *Nucl. Acids Res.* 25:3389-3402.
- [0592] *An, G. (1987) "Binary Ti vectors for plant transformation and promoter analysis" *Methods Enzymol.* 153:292-305.
- [0593] Beltz, G. A., Jacobs, K. A., Eickbush, T. H., Cherbas, P. T., Kafatos, F. C. (1983) "Isolation of multigene families and determination of homologies by filter hybridization methods" *Methods of Enzymology*, R. Wu, L. Grossman and K. Moldave [eds.] Academic Press, New York 100:266-285.
- [0594] Burleson, F. *et al.* (1992) *Virology: A Laboratory Manual* (Academic Press).
- [0595] Byars, N.E., A.C. Allison (1987) "Adjuvant formulation for use in vaccines to elicit both cell-mediated and humoral immunity" *Vaccine* 5:223-228.
- [0596] Crawford, P. C. *et al* (2005) "Transmission of equine influenza virus to dogs" *Science* 310:482-485.
- [0597] Chang, CP. *et al.* (1976) "Influenza virus isolations from dogs during a human epidemic in Taiwan" *Int J Zoonoses* 3:61-64.
- [0598] Dacso, CC. *et al.* (1984) "Sporadic occurrence of zoonotic swine influenza virus infections" *J Clin Microbiol* 20:833-835.
- [0599] de Boer, H. A., Comstock, L. J., Vasser, M. (1983) "The tac promoter: a functional hybrid derived from the trp and lac promoters" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80(1):21-25.
- [0600] Felsenstein, J. (1989) *Cladistics* 5:164.
- [0601] Fields *et al.* (1946) *Fields Virology*, 3rd ed., Lippincott-Raven publishers.
- [0602] Ford, R.B., Vaden, S. L. (1998) "Canine infectious tracheobronchitis" In *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 2nd edition, CE. Greene, editor, W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA, pp. 33-38.
- [0603] Fouchier *et al*, (2000) *Journal of Clinical Microbiology* 38 (11):4096-4101.
- [0604] Good, X. *et al.* (1994) "Reduced ethylene synthesis by transgenic tomatoes expressing S-adenosylmethionine hydrolase" *Plant Molec. Biol.* 26:781-790.
- [0605] Guan, Y. *et al.* (2004) "H5N1 influenza: a protean pandemic threat" *Proc Natl Acad Sci USA* 101:8156-8161.
- [0606] Guo, Y. *et al.* (1992) "Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China" *Virology* 188:245-255.
- [0607] Houser, R.E. *et al* (1980) "Evidence of prior infection with influenza A/Texas/77 (H3N2) virus in dogs with clinical parainfluenza" *Can J Comp Med* 44:396-402.
- [0608] Karasin, A.I. *et al.* (2000) "Isolation and characterization of H4N6 avian influenza viruses from pigs with pneumonia in Canada" *J Virol* 74:9322-9327.
- [0609] Karlin S. and Altschul, S. F. (1990) "Methods for Assessing the Statistical Significance of Molecular

Sequence Features by Using General Scoring Schemes" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-2268.

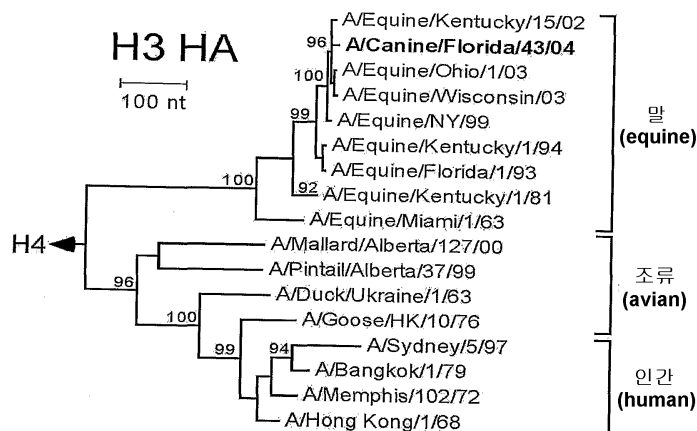
- [0610] Karlin S. and Altschul, S. F. (1993) "Applications and Statistics for Multiple High-Scoring Segments in Molecular Sequences" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877.
- [0611] Kawaoka, Y. *et al.*, (1989) "Avian-to-human transmission of the PBI gene of influenza A viruses in the 1957 and 1968 pandemics" *J Virol* 63:4603-4608.
- [0612] Keawcharoen, J. *et al.* (2004) "Avian influenza H5N1 in tigers and leopards" *Emerg Infect Dis* 10:2189-2191.
- [0613] Kendal, A. P. *et al.* (1982) In Concepts and Procedures for Laboratory-based Influenza Surveillance. A. P. Kendal, M. S. Pereira, J. J. Skehel, Eds. (U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention and Pan- American Health Organization, Atlanta, GA, United States) pp. B17-B35.
- [0614] Kilbourne, E.D. *et al.* (1975) "Demonstration of antibodies to both hemagglutinin and neuraminidase antigens of H3N2 influenza A virus in domestic dogs" *Intervirology* 6:315-318.
- [0615] Kimura, K. *et al.* (1998) "Fatal case of swine influenza virus in an immunocompetent host" *Mayo Clin Proc* 73:243-245.
- [0616] Klimov, A. I. *et al.* (1992a) "Sequence changes in the live attenuated, cold-adapted variants of influenza A/Leningrad/I 34/57 (H2N2) virus" *Virology* 186:795-797.
- [0617] Klimov A. *et al.* (1992b) "Subtype H7 influenza viruses: comparative antigenic and molecular analysis of the HA-, M-, and NS-genes" *Arch Virol.* 122:143-161.
- [0618] Kovacova, A. *et al.* (2002) "Sequence similarities and evolutionary relationships of influenza virus A hemagglutinins" *Virus Genes* 24:57-63. Kuiken, T. *et al* (2004) "Avian H5N1 influenza in cats" *Science* 306:241.
- [0619] Kumar, S. *et al.* (2004) "MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment" *Brief Bioinform* 5:150-163.
- [0620] Lee, L. G. *et al.* (1993) "Allelic discrimination by nick-translation PCR with fluorogenic probes" *Nucleic Acids Res.* 21(16):3761-3766.
- [0621] Lewin, B. (1985) Genes II John Wiley & Sons, Inc., p. 96.
- [0622] Lipatov, A.S. *et al.* (2004) "Influenza: emergence and control" *J Virol* 78:8951-8959.
- [0623] Livak, K. J. *et al.* (1995) "Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization" *PCR Methods Appl.* 4(6):357-362.
- [0624] Maniatis, T., E.F. Fritsch, J. Sambrook (1982) "Nuclease BaBI" *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.
- [0625] Matrosovich, M. *et al.* (2000) "Early alterations of the receptor-binding properties of H15 H2, and H3 avian influenza virus hemagglutinins after their introduction into mammals" *J Virol* 74:8502-8512.
- [0626] Maertzdorf *et al.*, (2004) *Clin Microbiol.* 42(3):981-986.
- [0627] Merrifield, R.B. (1963) "Solid Phase Peptide Synthesis. I. The Synthesis of a Tetrapeptide" *J. Amer. Chem. Soc.* 85:2149-2154.
- [0628] Nikitin, A. *et al.* (1972) "Epidemiological studies of A-Hong Kong-68 virus infection in dogs" *Bull World Health Organ* 47:471-479.
- [0629] Nobusawa, E. *et al.* (1991) "Comparison of complete amino acid sequences and receptor- binding properties among 13 serotypes of hemagglutinins of influenza A viruses" *Virology* 182:475-485.

- [0630] Patriarca, P. A. *et al.* (1984) "Lack of significant person-to person spread of swine influenza-like virus following fatal infection in an immunocompromised child" *Am J Epidemiol* 119:152-158.
- [0631] Payungporn S. *et al.* (2006a) "Detection of canine influenza A virus (H3N8) RNA by realtime RT-PCR" (in preparation for *Journal of Clinical Microbiology*).
- [0632] Payungporn S, *et al.* (2006b) "Isolation and characterization of influenza A subtype H3N8 viruses from dogs with respiratory disease in a shelter and veterinary clinic in Florida" (in preparation for *Emerging Infectious Diseases*).
- [0633] Peiris, M. *et al.* (1999) "Human infection with influenza H9N2" *Lancet* 354:916-917.
- [0634] Peiris, J. S. *et al.* (2004) "Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease" *Lancet* 363:617-619.
- [0635] Posnett, D. N. *et al.* (1988) "A Novel Method for Producing Anti-peptide Antibodies" *J. Biol. Chem.* 263(4):1719-1725.
- [0636] Putnam, Bob (February 10, 1999) "Two illnesses seen in death of dogs" *St. Petersburg Times*.
- [0637] Reid, A.H. *et al.* (2004) "Evidence of an absence: the genetic origins of the 1918 pandemic influenza virus" *Nat Rev Microbiol* 2:909-914.
- [0638] Rowe, T. *et al.* (1999) "Detection of antibody to avian influenza A (H5N1) virus in human serum by using a combination of serologic assays" *J Clin Microbiol* 37: 937-943.
- [0639] Saiki, R. (1985) "Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia" *Science* 230:1350-1354.
- [0640] Sambrook, J. *et al.* (1989) "Plasmid Vectors" In: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 5 2d Edition, pp. 1.82-1.104. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
- [0641] Subbarao, K. *et al.* (1998) "Characterization of an avian influenza A (H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness" *Science* 279:393-396.
- [0642] Suzuki, Y. *et al.* (2000) "Sialic acid species as a determinant of the host range of influenza A viruses" *J Virol* 74:11825-11831.
- [0643] Tam, J. P. (1988) "Synthetic Peptide Vaccine Design: Synthesis and Properties of a High- 5 Density Multiple Antigenic Peptide System" *PNAS USA* 85(15):5409-5413.
- [0644] Top, Jr., F.H. *et al.* (1977) "Swine influenza A at Fort Dix, New Jersey (January-February 1976). IV. Summary and speculation" *J Infect Dis* 136 Suppl:S376-S380.
- [0645] 10 Vines, A. *et al.* (1998) "The role of influenza A virus hemagglutinin residues 226 and 228 in receptor specificity and host range restriction" *J Virol* 72:7626-7631.
- [0646] Wagner, R. *et al.* (2002) "N-Glycans attached to the stem domain of haemagglutinin efficiently regulate influenza A virus replication" *J Gen Virol* 83:601-609.
- [0647] Webby, R. *et al.* (2004) "Molecular constraints to interspecies transmission of viral pathogens" *Nat Med* 10: S77-S81.
- [0648] Webster, R.G. (1998) "Influenza: an emerging disease" *Emerg Infect Dis.* 4:436-441.
- [0649] Webster, R.G. *et al.* (1992) "Evolution and ecology of influenza A viruses" *Microbiol Rev.* 56 :152-179.
- [0650] Weis, W. *et al.* (1988) "Structure of the influenza virus haemagglutinin complexed with its 35 receptor, sialic acid" *Nature* 333:426-431.
- [0651] Womble, D.D. (2000) "GCG: The Wisconsin Package of sequence analysis programs" *Methods Mol Biol* 132:3-22.

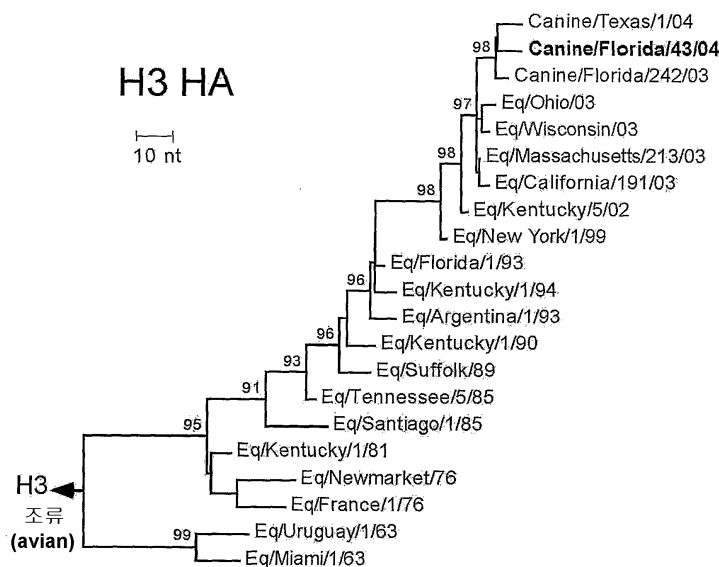
- [0652] Xu, D., McElroy, D., Thornburg, R. W., Wu, R. *et al.* (1993) "Systemic induction of a potato pin2 promoter by wounding, methyl jasmonate, and abscisic acid in transgenic rice plants" *Plant Molecular Biology* 22:573-588.
- [0653] Yang, T. T. *et al.* (1996) "Optimized Codon Usage and Chromophore Mutations Provide 45 Enhanced Sensitivity with the Green Fluorescent Protein" *Nucleic Acid Research* 24(22):4592-4593.
- [0654] Yoon K-Y. *et al.* (2005) "Influenza virus infection in racing greyhounds" *Emerg Infect Dis.* 11:1974-1975.

도면

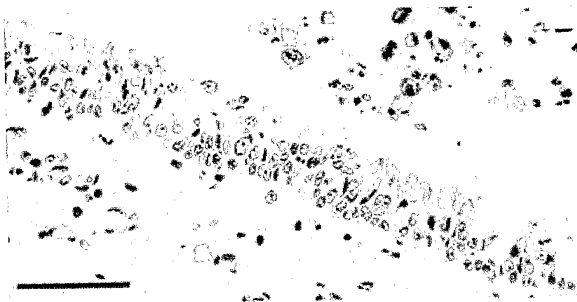
도면1a



도면1b



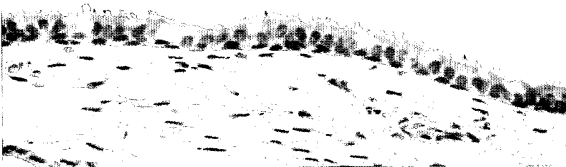
도면2a



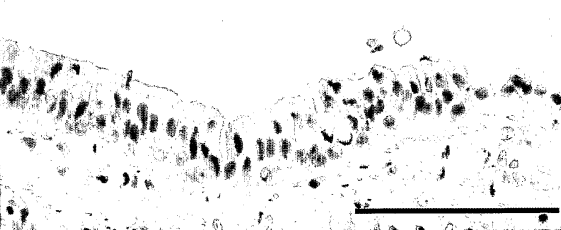
도면2b



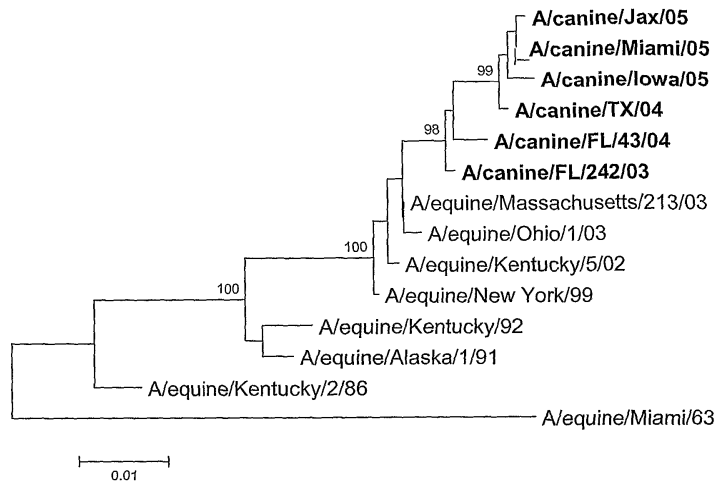
도면3a



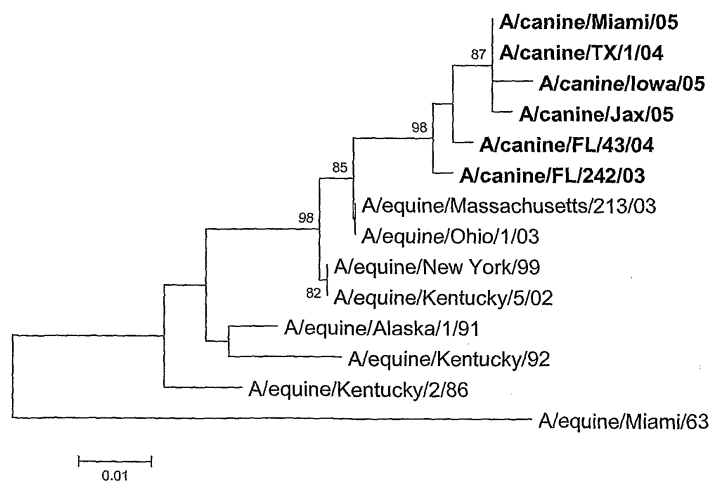
도면3b



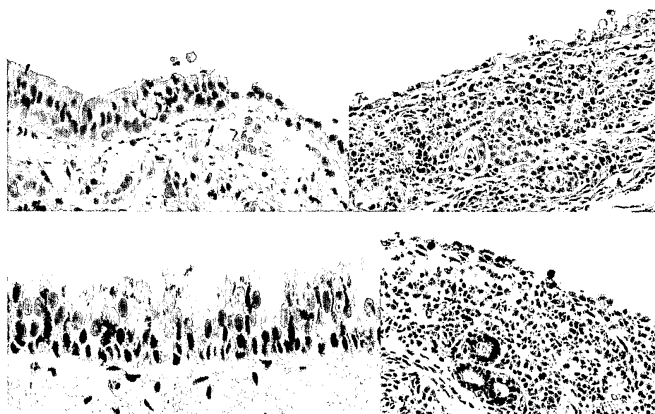
도면4a



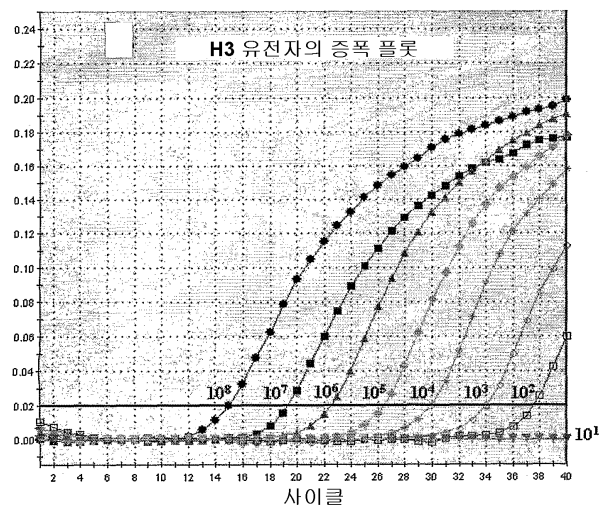
도면4b



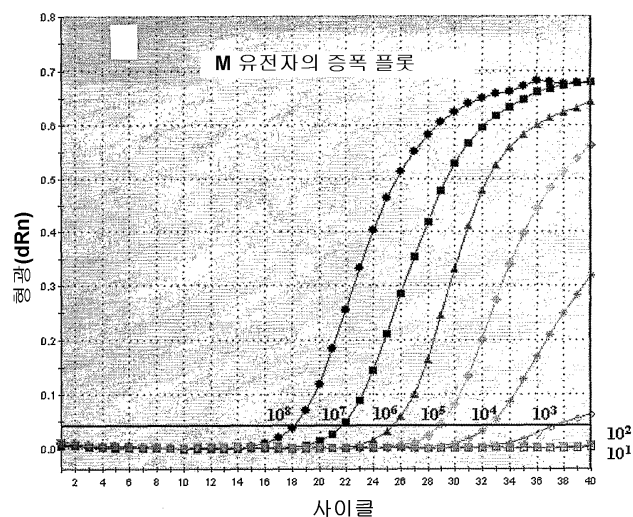
도면5



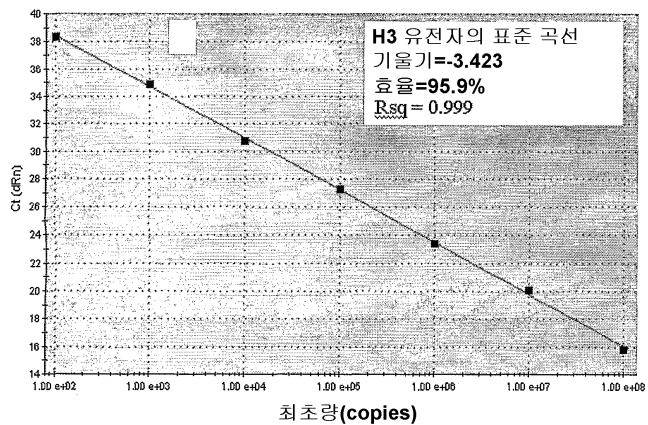
도면6a



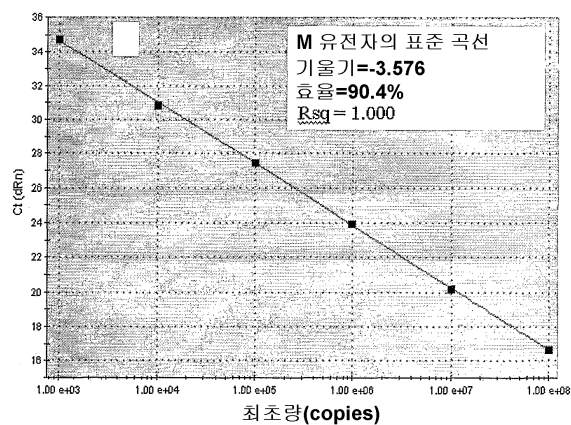
도면6b



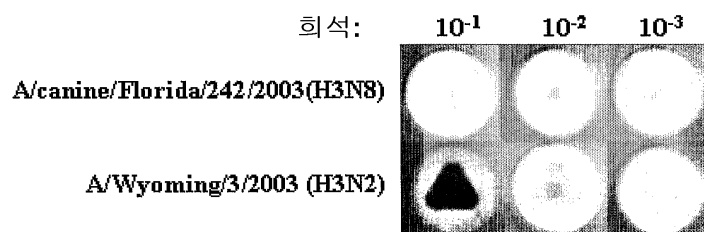
도면6c



도면6d



도면7



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Crawford, Patti Cynthia
Gibbs, E. Paul J.
Dubovi, Edward J.
Donis, Ruben Omar
Katz, Jacqueline M.
Klimov, Alexander I.
Lakshmanan, Nallakannu P.
Lum, Melissa Anne
Goovaerts, Daniel Ghislana Emiel
Mellencamp, Mark William
- <120> Materials and Methods for Respiratory Disease Control in Canines
- <130> UF-445XC2
- <150> US 11/409,416
- <151> 2006-04-21

<150> US 60/728,449

<151> 2005-10-19

<150> US 60/754,881

<151> 2005-12-29

<150> US 60/759,162

<151> 2006-01-14

<150> US 60/761,451

<151> 2006-01-23

<150> US 60/779,080

<151> 2006-03-03

<160> 88

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 2277

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(2277)

<400> 1

atg gag aga ata gaa gaa ctg aga gat ctg atg tta caa tcc cgc acc 48

Met Glu Arg Ile Glu Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr

1 5 10 15

cgc gag ata cta aca aaa act act gtg gac cac atg gcc ata atc aag 96

Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys

20 25 30

aaa tac aca tca gaa aga caa gag aag aac cct gca ctt agg atg aaa 144

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

35 40 45

tgg atg atg gca atg aaa tac cca att aca gca gat aag agg ata atg 192

Trp Met Met Ala Met Lys Tyr Pro Ile Thr Ala Asp Lys Arg Ile Met

50 55 60

gag atg att cct gag aga aat gaa cag ggt caa acc ctt tgg agc aaa 240

Glu	Met	Ile	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Gln	Gly	Gln	Thr	Leu	Trp	Ser	Lys	
65				70				75				80				
acg	aac	gat	gct	ggc	tca	gac	cgc	gta	atg	gta	tca	cct	ctg	gca	gtg	288
Thr	Asn	Asp	Ala	Gly	Ser	Asp	Arg	Val	Met	Val	Ser	Pro	Leu	Ala	Val	
85				90				95								
aca	tgg	tgg	aat	agg	aat	gga	cca	aca	acg	agc	aca	att	cat	tat	cca	336
Thr	Trp	Trp	Asn	Arg	Asn	Gly	Pro	Thr	Thr	Ser	Thr	Ile	His	Tyr	Pro	
100				105				110								
aaa	gtc	tac	aaa	act	tat	ttt	gaa	aag	gtt	gaa	aga	ttg	aaa	cac	gga	384
Lys	Val	Tyr	Lys	Thr	Tyr	Phe	Glu	Lys	Val	Glu	Arg	Leu	Lys	His	Gly	
115				120				125								
act	ttt	ggc	ccc	gtt	cat	ttt	agg	aat	caa	gtc	aag	ata	aga	cga	aga	432
Thr	Phe	Gly	Pro	Val	His	Phe	Arg	Asn	Gln	Val	Lys	Ile	Arg	Arg	Arg	
130				135				140								
gtt	gat	gta	aac	cct	ggt	cac	gcg	gac	ctc	agt	gcc	aaa	gaa	gca	caa	480
Val	Asp	Val	Asn	Pro	Gly	His	Ala	Asp	Leu	Ser	Ala	Lys	Glu	Ala	Gln	
145				150				155				160				
gat	gtg	atc	atg	gaa	gtt	gtt	ttc	cca	aat	gaa	gtg	gga	gcc	ata	att	528
Asp	Val	Ile	Met	Glu	Val	Val	Phe	Pro	Asn	Glu	Val	Gly	Ala	Ile	Ile	
165				170				175								
cta	aca	tcg	gaa	tca	caa	cta	aca	ata	acc	aaa	gag	aaa	aag	gaa	gaa	576
Leu	Thr	Ser	Glu	Ser	Gln	Leu	Thr	Ile	Thr	Lys	Glu	Lys	Lys	Glu	Glu	
180				185				190								
ctt	cag	gac	tgc	aaa	att	gct	ccc	ttg	atg	gta	gca	tac	atg	cta	gaa	624
Leu	Gln	Asp	Cys	Lys	Ile	Ala	Pro	Leu	Met	Val	Ala	Tyr	Met	Leu	Glu	
195				200				205								
aga	gag	ttg	gtc	cga	aaa	aca	agg	ttc	ctc	cca	gta	gca	ggc	gga	aca	672
Arg	Glu	Leu	Val	Arg	Lys	Thr	Arg	Phe	Leu	Pro	Val	Ala	Gly	Gly	Thr	
210				215				220								
agc	agt	gta	tac	att	gaa	gtg	ttg	cat	ctg	act	cag	gga	aca	tgc	tgg	720
Ser	Ser	Val	Tyr	Ile	Glu	Val	Leu	His	Leu	Thr	Gln	Gly	Thr	Cys	Trp	

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

Ile	Val	Ser	Gly	Arg	Asp	Glu	Gln	Ser	Ile	Ala	Glu	Ala	Ile	Ile	Val	
385					390					395					400	
gcc	atg	gtg	ttt	tcg	caa	gaa	gat	tgc	atg	ata	aaa	gca	gtt	cga	ggc	1248
Ala	Met	Val	Phe	Ser	Gln	Glu	Asp	Cys	Met	Ile	Lys	Ala	Val	Arg	Gly	
				405					410					415		
gat	ttg	aac	ttt	gtt	aat	aga	gca	aat	cag	cgt	ttg	aac	ccc	atg	cat	1296
Asp	Leu	Asn	Phe	Val	Asn	Arg	Ala	Asn	Gln	Arg	Leu	Asn	Pro	Met	His	
				420					425					430		
caa	ctc	ttg	agg	cat	ttc	caa	aaa	gat	gca	aaa	gtg	ctt	ttc	cac	aat	1344
Gln	Leu	Leu	Arg	His	Phe	Gln	Lys	Asp	Ala	Lys	Val	Leu	Phe	His	Asn	
		435						440					445			
tgg	gga	att	gaa	ccc	atc	gac	aat	gta	atg	ggg	atg	att	gga	ata	ttg	1392
Trp	Gly	Ile	Glu	Pro	Ile	Asp	Asn	Val	Met	Gly	Met	Ile	Gly	Ile	Leu	
	450					455					460					
cct	gac	atg	acc	cca	agc	acc	gag	atg	tca	ttg	aga	gga	gtg	aga	gtc	1440
Pro	Asp	Met	Thr	Pro	Ser	Thr	Glu	Met	Ser	Leu	Arg	Gly	Val	Arg	Val	
465				470						475				480		
agc	aaa	atg	gga	gtg	gat	gag	tac	tcc	agc	act	gag	aga	gtg	gtg	gtg	1488
Ser	Lys	Met	Gly	Val	Asp	Glu	Tyr	Ser	Ser	Thr	Glu	Arg	Val	Val	Val	
				485						490				495		
agc	att	gac	cgt	ttt	tta	aga	gtt	cgg	gat	caa	agg	gga	aac	ata	cta	1536
Ser	Ile	Asp	Arg	Phe	Leu	Arg	Val	Arg	Asp	Gln	Arg	Gly	Asn	Ile	Leu	
				500					505				510			
ctg	tcc	cct	gaa	gaa	gtc	agt	gaa	aca	caa	gga	acg	gaa	aag	ctg	aca	1584
Leu	Ser	Pro	Glu	Glu	Val	Ser	Glu	Thr	Gln	Gly	Thr	Glu	Lys	Leu	Thr	
			515					520				525				
ata	att	tat	tcg	tca	tca	atg	atg	tgg	gag	att	aat	ggg	ccc	gaa	tca	1632
Ile	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Met	Met	Trp	Glu	Ile	Asn	Gly	Pro	Glu	Ser	
	530					535					540					
gtg	ttg	gtc	aat	act	tat	caa	tgg	atc	atc	agg	aac	tgg	gaa	att	gta	1680
Val	Leu	Val	Asn	Thr	Tyr	Gln	Trp	Ile	Ile	Arg	Asn	Trp	Glu	Ile	Val	

545	550	555	560	
aaa att cag tgg tca cag gac ccc aca atg tta tac aat aag ata gaa				1728
Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu				
	565	570	575	
ttt gag cca ttc caa tcc ctg gtc cct agg gcc acc aga agc caa tac				1776
Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr				
	580	585	590	
agc ggt ttc gta aga acc ctg ttt cag caa atg cga gat gta ctt gga				1824
Ser Gly Phe Val Arg Thr Leu Phe Gln Gln Met Arg Asp Val Leu Gly				
	595	600	605	
aca ttt gat act gct caa ata ata aaa ctc ctc cct ttt gcc gct gct				1872
Thr Phe Asp Thr Ala Gln Ile Ile Lys Leu Leu Pro Phe Ala Ala Ala				
	610	615	620	
cct ccg gaa cag agt agg atg cag ttc tct tct ttg act gtt aat gta				1920
Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val				
	625	630	635	640
aga ggt tcg gga atg agg ata ctt gta aga ggc aat tcc cca gtg ttc				1968
Arg Gly Ser Gly Met Arg Ile Leu Val Arg Gly Asn Ser Pro Val Phe				
	645	650	655	
aac tac aat aaa gcc act aaa agg ctc aca gtc ctc gga aag gat gca				2016
Asn Tyr Asn Lys Ala Thr Lys Arg Leu Thr Val Leu Gly Lys Asp Ala				
	660	665	670	
ggt gcg ctt act gag gac cca gat gaa ggt acg gct gga gta gaa tct				2064
Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser				
	675	680	685	
gct gtt cta aga ggg ttt ctc att tta ggt aaa gag aac aag aga tat				2112
Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr				
	690	695	700	
ggc cca gca cta agc atc aat gaa cta agc aaa ctt gca aaa ggg gag				2160
Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu				
	705	710	715	720

aaa gcc aat gta cta att ggg caa ggg gac gta gtg ttg gta atg aaa 2208

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

cgg aaa cgt gac tct agc ata ctt act gac agc cag aca gcg acc aaa 2256

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

agg att cgg atg gcc atc aat 2277

Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn

755

<210> 2

<211> 759

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 2

Met Glu Arg Ile Glu Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr

1 5 10 15

Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys

20 25 30

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

35 40 45

Trp Met Met Ala Met Lys Tyr Pro Ile Thr Ala Asp Lys Arg Ile Met

50 55 60

Glu Met Ile Pro Glu Arg Asn Glu Gln Gly Gln Thr Leu Trp Ser Lys

65 70 75 80

Thr Asn Asp Ala Gly Ser Asp Arg Val Met Val Ser Pro Leu Ala Val

85 90 95

Thr Trp Trp Asn Arg Asn Gly Pro Thr Thr Ser Thr Ile His Tyr Pro

100 105 110

Lys Val Tyr Lys Thr Tyr Phe Glu Lys Val Glu Arg Leu Lys His Gly

115 120 125

Thr Phe Gly Pro Val His Phe Arg Asn Gln Val Lys Ile Arg Arg Arg

130	135	140	
Val Asp Val Asn Pro Gly His Ala Asp Leu Ser Ala Lys Glu Ala Gln			
145	150	155	160
Asp Val Ile Met Glu Val Val Phe Pro Asn Glu Val Gly Ala Ile Ile			
	165	170	175
Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu			
	180	185	190
Leu Gln Asp Cys Lys Ile Ala Pro Leu Met Val Ala Tyr Met Leu Glu			
	195	200	205
Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Ala Gly Gly Thr			
	210	215	220
Ser Ser Val Tyr Ile Glu Val Leu His Leu Thr Gln Gly Thr Cys Trp			
225	230	235	240
Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Glu Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp			
	245	250	255
Gln Ser Leu Ile Ile Ala Ala Arg Asn Ile Val Arg Arg Ala Thr Val			
	260	265	270
Ser Ala Asp Pro Leu Ala Ser Leu Leu Glu Met Cys His Ser Thr Gln			
	275	280	285
Ile Gly Gly Ile Arg Met Val Asp Ile Leu Lys Gln Asn Pro Thr Glu			
290	295	300	
Glu Gln Ala Val Asp Ile Cys Lys Ala Ala Met Gly Leu Arg Ile Ser			
305	310	315	320
Ser Ser Phe Ser Phe Gly Gly Phe Thr Phe Lys Arg Thr Ser Gly Ser			
	325	330	335
Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu			
	340	345	350
Lys Ile Arg Val His Glu Gly Tyr Glu Glu Phe Thr Met Val Gly Arg			
	355	360	365
Arg Ala Thr Ala Ile Ile Lys Lys Ala Thr Arg Arg Leu Ile Gln Leu			
370	375	380	

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val

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

Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr
 690 695 700
 Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu
 705 710 715 720
 Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Val Val Leu Val Met Lys
 725 730 735
 Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys
 740 745 750

Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn
 755

<210> 3

<211> 2274

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(2274)

<400> 3

atg gat gtc aat ccg act cta ctc ttc tta aag gtg cca gcg cag aat 48

Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn

1 5 10 15

gct ata agc aca aca ttc cct tat act gga gat cct ccc tac agt cat 96

Ala Ile Ser Thr Thr Phe Pro Tyr Thr Gly Asp Pro Pro Tyr Ser His

20 25 30

gga aca ggg aca gga tac acc atg gat act gtc aac aga aca cac caa 144

Gly Thr Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Thr Val Asn Arg Thr His Gln

35	40	45	
tat tca gaa aaa ggg aaa tgg aca aca aac act gag att gga gca cca			192
Tyr Ser Glu Lys Gly Lys Trp Thr Thr Asn Thr Glu Ile Gly Ala Pro			
50	55	60	
caa ctt aat cca atc gat gga cca ctt cct gaa gac aat gaa cca agc			240
Gln Leu Asn Pro Ile Asp Gly Pro Leu Pro Glu Asp Asn Glu Pro Ser			
65	70	75	80
ggg tac gcc caa aca gat tgt gta ttg gaa gca atg gct ttc ctt gaa			288
Gly Tyr Ala Gln Thr Asp Cys Val Leu Glu Ala Met Ala Phe Leu Glu			
85	90	95	
gaa tcc cat cca gga atc ttt gaa aat tcg tgt ctt gaa acg atg gag			336
Glu Ser His Pro Gly Ile Phe Glu Asn Ser Cys Leu Glu Thr Met Glu			
100	105	110	
gtg att cag cag aca aga gtg gac aaa cta aca caa ggc cga caa act			384
Val Ile Gln Gln Thr Arg Val Asp Lys Leu Thr Gln Gly Arg Gln Thr			
115	120	125	
tat gat tgg acc ttg aat agg aat caa cct gcc gca aca gca ctt gct			432
Tyr Asp Trp Thr Leu Asn Arg Asn Gln Pro Ala Ala Thr Ala Leu Ala			
130	135	140	
aat acg att gaa gta ttc aga tca aat ggt ctg act tcc aat gaa tcg			480
Asn Thr Ile Glu Val Phe Arg Ser Asn Gly Leu Thr Ser Asn Glu Ser			
145	150	155	160
ggg aga ttg atg gac ttc ctc aaa gat gtc atg gag tcc atg aac aag			528
Gly Arg Leu Met Asp Phe Leu Lys Asp Val Met Glu Ser Met Asn Lys			
165	170	175	
gaa gaa atg gaa ata aca aca cac ttc caa cgg aag aga aga gta aga			576
Glu Glu Met Glu Ile Thr Thr His Phe Gln Arg Lys Arg Arg Val Arg			
180	185	190	
gac aac atg aca aag aga atg gta aca cag aga acc ata ggg aag aaa			624
Asp Asn Met Thr Lys Arg Met Val Thr Gln Arg Thr Ile Gly Lys Lys			
195	200	205	

aaa caa cga tta aac aga aag agc tat cta atc aga aca tta acc cta 672

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

aac aca atg acc aag gac gct gag aga ggg aaa ttg aaa cga cga gca 720

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

atc gct acc cca ggg atg cag ata aga ggg ttt gta tat ttt gtt gaa 768

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

245 250 255

aca cta gct cga aga ata tgt gaa aag ctt gaa caa tca gga ttg cca 816

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

260 265 270

gtt ggc ggt aat gag aaa aag gcc aaa ctg gct aat gtc gtc aga aaa 864

Val Gly Gly Asn Glu Lys Lys Ala Lys Leu Ala Asn Val Val Arg Lys

275 280 285

atg atg act aat tcc caa gac act gaa ctc tcc ttc acc atc act ggg 912

Met Met Thr Asn Ser Gln Asp Thr Glu Leu Ser Phe Thr Ile Thr Gly

290 295 300

gac aat acc aaa tgg aat gaa aat cag aac cca cgc ata ttc ctg gca 960

Asp Asn Thr Lys Trp Asn Glu Asn Gln Asn Pro Arg Ile Phe Leu Ala

305 310 315 320

atg atc aca tac ata act aga aac cag cca gaa tgg ttc aga aat gtt 1008

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

325 330 335

cta agc att gca ccg att atg ttc tca aat aaa atg gca aga ctg ggg 1056

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

340 345 350

aaa gga tat atg ttt gaa agc aaa agt atg aaa ttg aga act caa ata 1104

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

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

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

Tyr Gln Lys Cys Cys Asn Leu Phe Glu Lys Phe Phe Pro Ser Ser Ser

690 695 700
tac aga aga cca gtc gga att tct agt atg gtt gag gcc atg gtg tcc 2160

Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser

705 710 715 720
agg gcc cgc att gat gca cga att gac ttc gaa tct gga cgg ata aag 2208

Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys

725 730 735

aag gat gag ttc gct gag atc atg aag atc tgt tcc acc att gaa gag 2256

Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu

740 745 750

ctc aga cgg caa aaa tag 2274

Leu Arg Arg Gln Lys

755

<210> 4

<211> 757

<212> PRT

<213> Influenza virus

<

400> 4

Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn

1 5 10 15

Ala Ile Ser Thr Thr Phe Pro Tyr Thr Gly Asp Pro Pro Tyr Ser His

20 25 30

Gly Thr Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Thr Val Asn Arg Thr His Gln

35 40 45

Tyr Ser Glu Lys Gly Lys Trp Thr Thr Asn Thr Glu Ile Gly Ala Pro

50 55 60

Gln Leu Asn Pro Ile Asp Gly Pro Leu Pro Glu Asp Asn Glu Pro Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

 Gly Val Ser Gly Ile Asn Glu Ser Ala Asp Met Ser Ile Gly Val Thr
 515 520 525
 Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala
 530 535 540
 Gln Met Ala Leu Gln Leu Phe Ile Lys Asp Tyr Arg Tyr Thr Tyr Arg
 545 550 555 560
 Cys His Arg Gly Asp Thr Gln Ile Gln Thr Arg Arg Ser Phe Glu Leu
 565 570 575

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Arg Arg Gln Lys
755

<210> 5

<211> 2151

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221

> CDS

<222> (1)..(2151)

<400> 5

atg gaa gac ttt gtg cga cag tgc ttc aat cca atg atc gtc gag ctt 48

Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu

1 5 10 15

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

Thr Ile Arg Gln Glu Met Ala Ser Arg Gly Leu Trp Asp Ser Phe Arg

180 185 190

cag tcc gag aga ggc gaa gag aca att gaa gaa aga ttt gaa ata aca 624

Gln Ser Glu Arg Gly Glu Glu Thr Ile Glu Glu Arg Phe Glu Ile Thr

195 200 205

ggg acg atg cgc aag ctt gcc aat tac agt ctc cca ccg aac ttc tcc 672

Gly Thr Met Arg Lys Leu Ala Asn Tyr Ser Leu Pro Pro Asn Phe Ser

210 215 220

agc ctt gaa aat ttt aga gtc tat gtg gat gga ttc gaa ccg aac ggc 720

Ser Leu Glu Asn Phe Arg Val Tyr Val Asp Gly Phe Glu Pro Asn Gly

225 230 235 240

tgc att gag agt aag ctt tct caa atg tcc aaa gaa gta aat gcc aga 768

Cys Ile Glu Ser Lys Leu Ser Gln Met Ser Lys Glu Val Asn Ala Arg

245 250 255

atc gaa cca ttt tca aag aca aca ccc cga cca ctc aaa atg cca ggt 816

Ile Glu Pro Phe Ser Lys Thr Thr Pro Arg Pro Leu Lys Met Pro Gly

260 265 270

ggt cca ccc tgc cat cag cga tct aaa ttc ttg cta atg gat gct ctg 864

Gly Pro Pro Cys His Gln Arg Ser Lys Phe Leu Leu Met Asp Ala Leu

275 280 285

aaa ctg agc att gag gac cca agt cac gag gga gag gga ata cca cta 912

Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu

290 295 300

tat gat gca atc aaa tgc atg aaa act ttc ttt gga tgg aaa gag ccc 960

Tyr Asp Ala Ile Lys Cys Met Lys Thr Phe Phe Gly Trp Lys Glu Pro

305 310 315 320

agt att gtt aaa cca cat gaa aag ggt ata aac ccg aac tat ctc caa 1008

Ser Ile Val Lys Pro His Glu Lys Gly Ile Asn Pro Asn Tyr Leu Gln

325 330 335

act tgg aag caa gta tta gaa gaa ata caa gac ctt gag aac gaa gaa	1056
Thr Trp Lys Gln Val Leu Glu Glu Ile Gln Asp Leu Glu Asn Glu Glu	
340 345 350	
agg acc ccc aag acc aag aat atg aaa aaa aca agc caa ttg aaa tgg	1104
Arg Thr Pro Lys Thr Lys Asn Met Lys Lys Thr Ser Gln Leu Lys Trp	
355 360 365	
gca cta ggt gaa aat atg gca cca gag aaa gtg gat ttt gag gat tgt	1152
Ala Leu Gly Glu Asn Met Ala Pro Glu Lys Val Asp Phe Glu Asp Cys	
370 375 380	
aaa gac atc aat gat tta aaa caa tat gac agt gat gag cca gaa gca	1200
Lys Asp Ile Asn Asp Leu Lys Gln Tyr Asp Ser Asp Glu Pro Glu Ala	
385 390 395 400	
agg tct ctt gca agt tgg att caa agt gag ttc aac aaa gct tgt gag	1248
Arg Ser Leu Ala Ser Trp Ile Gln Ser Glu Phe Asn Lys Ala Cys Glu	
405 410 415	
ctg aca gat tca agc tgg ata gag ctc gat gaa att ggg gag gat gtc	1296
Leu Thr Asp Ser Ser Trp Ile Glu Leu Asp Glu Ile Gly Glu Asp Val	
420 425 430	
gcc cca ata gaa tac att gcg agc atg agg aga aat tat ttt act gct	1344
Ala Pro Ile Glu Tyr Ile Ala Ser Met Arg Arg Asn Tyr Phe Thr Ala	
435 440 445	
gag att tcc cat tgt aga gca aca gaa tat ata ata aaa gga gtg tac	1392
Glu Ile Ser His Cys Arg Ala Thr Glu Tyr Ile Ile Lys Gly Val Tyr	
450 455 460	
atc aac act gct cta ctc aat gca tcc tgt gct gcg atg gat gaa ttt	1440
Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe	
465 470 475 480	
caa tta att ccg atg ata agt aaa tgc agg acc aaa gaa ggg aga agg	1488
Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg	
485 490 495	
aaa aca aat tta tat gga ttc ata ata aag gga agg tcc cat tta aga	1536

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

660	665	670	
aag gat gac ctg gaa cct gga acc ttt gat att ggg ggg tta tat gaa			2064
Lys Asp Asp Leu Glu Pro Gly Thr Phe Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Glu			
675	680	685	
tca att gag gag tgc ctg att aat gat ccc tgg gtt ttg ctt aat gca			2112
Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala			
690	695	700	
tct tgg ttc aac tcc ttc ctt aca cat gca ctg aag tag			2151
Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys			
705	710	715	
<210> 6			
<211> 716			
<212> PRT			
<213> Influenza virus			
<400> 6			
Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu			
1	5	10	15
Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr			
20	25	30	
Asn Lys Phe Ala Ala Ile Cys Thr His Leu Glu Val Cys Phe Met Tyr			
35	40	45	
Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu			
50	55	60	
Ser Gly Asp Pro Asn Ala Leu Leu Lys His Arg Phe Glu Ile Ile Glu			
65	70	75	80
Gly Arg Asp Arg Thr Met Ala Trp Thr Val Val Asn Ser Ile Cys Asn			
85	90	95	
Thr Thr Arg Ala Glu Lys Pro Lys Phe Leu Pro Asp Leu Tyr Asp Tyr			
100	105	110	
Lys Glu Asn Arg Phe Val Glu Ile Gly Val Thr Arg Arg Glu Val His			
115	120	125	

Ile Tyr Tyr Leu Glu Lys Ala Asn Lys Ile Lys Ser Glu Lys Thr His
 130 135 140
 Ile His Ile Phe Ser Phe Thr Gly Glu Glu Met Ala Thr Lys Ala Asp
 145 150 155 160
 Tyr Thr Leu Asp Glu Glu Ser Arg Ala Arg Ile Lys Thr Arg Leu Phe
 165 170 175
 Thr Ile Arg Gln Glu Met Ala Ser Arg Gly Leu Trp Asp Ser Phe Arg
 180 185 190
 Gln Ser Glu Arg Gly Glu Glu Thr Ile Glu Glu Arg Phe Glu Ile Thr
 195 200 205
 Gly Thr Met Arg Lys Leu Ala Asn Tyr Ser Leu Pro Pro Asn Phe Ser
 210 215 220
 Ser Leu Glu Asn Phe Arg Val Tyr Val Asp Gly Phe Glu Pro Asn Gly
 225 230 235 240
 Cys Ile Glu Ser Lys Leu Ser Gln Met Ser Lys Glu Val Asn Ala Arg
 245 250 255
 Ile Glu Pro Phe Ser Lys Thr Thr Pro Arg Pro Leu Lys Met Pro Gly
 260 265 270
 Gly Pro Pro Cys His Gln Arg Ser Lys Phe Leu Leu Met Asp Ala Leu
 275 280 285
 Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu
 290 295 300
 Tyr Asp Ala Ile Lys Cys Met Lys Thr Phe Phe Gly Trp Lys Glu Pro
 305 310 315 320
 Ser Ile Val Lys Pro His Glu Lys Gly Ile Asn Pro Asn Tyr Leu Gln
 325 330 335
 Thr Trp Lys Gln Val Leu Glu Glu Ile Gln Asp Leu Glu Asn Glu Glu
 340 345 350
 Arg Thr Pro Lys Thr Lys Asn Met Lys Lys Thr Ser Gln Leu Lys Trp
 355 360 365
 Ala Leu Gly Glu Asn Met Ala Pro Glu Lys Val Asp Phe Glu Asp Cys

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

 420 425 430
 Ala Pro Ile Glu Tyr Ile Ala Ser Met Arg Arg Asn Tyr Phe Thr Ala
 435 440 445
 Glu Ile Ser His Cys Arg Ala Thr Glu Tyr Ile Ile Lys Gly Val Tyr
 450 455 460
 Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe
 465 470 475 480
 Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg

 485 490 495
 Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg
 500 505 510
 Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr
 515 520 525
 Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu
 530 535 540
 Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro

 545 550 555 560
 Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys
 565 570 575
 Trp Gly Met Glu Met Arg Arg Cys Leu Leu Gln Ser Leu Gln Gln Ile
 580 585 590
 Glu Ser Met Ile Glu Ala Glu Ser Ser Val Lys Glu Lys Asp Met Thr
 595 600 605
 Lys Glu Phe Phe Glu Asn Lys Ser Glu Thr Trp Pro Ile Gly Glu Ser

 610 615 620

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

 675 680 685
 Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala
 690 695 700
 Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys

705 710 715

<210> 7

<211> 838

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(657)

<400> 7

atg gat tcc aac act gtg tca agc ttt cag gta gac tgt ttt ctt tgg 48
 Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp

1 5 10 15
 cat gtc cgc aaa cga ttc gca gac caa gaa ctg ggt gat gcc cca ttc 96
 His Val Arg Lys Arg Phe Ala Asp Gln Glu Leu Gly Asp Ala Pro Phe

 20 25 30
 ctt gac cgg ctt cgc cga gac cag aag tcc cta agg gga aga ggt agc 144
 Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser

 35 40 45

act ctt ggt ctg gac atc gaa aca gcc act cat gca gga aag cag ata 192
 Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr His Ala Gly Lys Gln Ile

 50 55 60
 gtg gag cag att ctg gaa aag gaa tca gat gag gca ctt aaa atg acc 240

Val	Glu	Gln	Ile	Leu	Glu	Lys	Glu	Ser	Asp	Glu	Ala	Leu	Lys	Met	Thr		
65						70				75				80			
att	gcc	tct	ggt	cct	act	tca	ctc	tac	tta	act	gac	atg	act	ctt	gat	288	
Ile	Ala	Ser	Val	Pro	Thr	Ser	Leu	Tyr	Leu	Thr	Asp	Met	Thr	Leu	Asp		
85						90				95							
gag	atg	tca	aga	gac	tgg	ttc	atg	ctc	atg	ccc	aag	caa	aaa	gta	aca	336	
Glu	Met	Ser	Arg	Asp	Trp	Phe	Met	Leu	Met	Pro	Lys	Gln	Lys	Val	Thr		
100						105				110							
ggc	tcc	cta	tgt	ata	aga	atg	gac	cag	gca	atc	atg	gat	aag	aac	atc	384	
Gly	Ser	Leu	Cys	Ile	Arg	Met	Asp	Gln	Ala	Ile	Met	Asp	Lys	Asn	Ile		
115						120				125							
ata	ctt	aaa	gca	aac	ttt	agt	gtg	att	ttc	gaa	ggg	ctg	gaa	aca	cta	432	
Ile	Leu	Lys	Ala	Asn	Phe	Ser	Val	Ile	Phe	Glu	Gly	Leu	Glu	Thr	Leu		
130						135				140							
ata	cta	ctt	aga	gcc	ttc	acc	gaa	gaa	gga	gca	gtc	gtt	ggc	gaa	att	480	
Ile	Leu	Leu	Arg	Ala	Phe	Thr	Glu	Glu	Gly	Ala	Val	Val	Gly	Glu	Ile		
145						150				155				160			
tca	cca	tta	cct	tct	ctt	cca	gga	cat	act	aat	gag	gat	gtc	aaa	aat	528	
Ser	Pro	Leu	Pro	Ser	Leu	Pro	Gly	His	Thr	Asn	Glu	Asp	Val	Lys	Asn		
165						170				175							
gca	att	ggg	gtc	ctc	atc	gga	gga	ctt	aaa	tgg	aat	gat	aat	acg	gtt	576	
Ala	Ile	Gly	Val	Leu	Ile	Gly	Gly	Leu	Lys	Trp	Asn	Asp	Asn	Thr	Val		
180						185				190							
aga	atc	tct	gaa	act	cta	cag	aga	ttc	gct	tgg	aga	agc	agt	cat	gag	624	
Arg	Ile	Ser	Glu	Thr	Leu	Gln	Arg	Phe	Ala	Trp	Arg	Ser	Ser	His	Glu		
195						200				205							
aat	ggg	aga	cct	tca	ttc	cct	tca	aag	cag	aaa	tgaaaaatgg	agagaacaat				677	
Asn	Gly	Arg	Pro	Ser	Phe	Pro	Ser	Lys	Gln	Lys							
210						215											
taaggccagaa	atttgaagaa	ataagatggt	tgattgaaga	agtgcgacat	agattgaaaa											737	

atacagaaaa tagttttgaa caaataacat ttatgcaagc cttacaacta ttgcttgaag 797

tagaacaaga gataagaact ttctcgtttc agcttattta a 838

<210> 8

<211> 219

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 8

Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp

1 5 10 15

His Val Arg Lys Arg Phe Ala Asp Gln Glu Leu Gly Asp Ala Pro Phe

20 25 30

Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser

35 40 45

Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr His Ala Gly Lys Gln Ile

50 55 60

Val Glu Gln Ile Leu Glu Lys Glu Ser Asp Glu Ala Leu Lys Met Thr

65 70 75 80

Ile Ala Ser Val Pro Thr Ser Leu Tyr Leu Thr Asp Met Thr Leu Asp

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Leu Lys Ala Asn Phe Ser Val Ile Phe Glu Gly Leu Glu Thr Leu

130 135 140

Ile Leu Leu Arg Ala Phe Thr Glu Glu Gly Ala Val Val Gly Glu Ile

145 150 155 160

Ser Pro Leu Pro Ser Leu Pro Gly His Thr Asn Glu Asp Val Lys Asn

165 170 175

Ala Ile Gly Val Leu Ile Gly Gly Leu Lys Trp Asn Asp Asn Thr Val

180 185 190

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

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

<210> 9

<211> 1497

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(1497)

<400> 9

atg gcg tct caa ggc acc aaa cga tcc tat gaa cag atg gaa act gat 48

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

ggg gaa cgc cag aat gca act gaa atc aga gca tct gtc gga agg atg 96

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

gtg gga gga atc ggc cga ttt tat gtt cag atg tgt act gag ctt aaa 144

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

35 40 45
cta aac gac cat gaa ggg cgg ctg att cag aac agc ata aca ata gaa 192

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

agg atg gta ctt tcg gca ttc gac gaa aga aga aac aag tat ctc gag 240

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

gag cat ccc agt gct ggg aaa gac cct aag aaa acg gga ggc ccg ata 288
Glu His Pro Ser Ala Gly Lys Asp Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Ile

85 90 95
tac aga agg aaa gat ggg aaa tgg atg agg gaa ctc atc ctc cat gat 336

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

aaa gaa gaa atc atg aga atc tgg cgt cag gcc aac aat ggt gaa gac 384

 Lys Glu Glu Ile Met Arg Ile Trp Arg Gln Ala Asn Asn Gly Glu Asp
 115 120 125
 gct act gct ggt ctt act cat atg atg atc tgg cac tcc aat ctc aat 432
 Ala Thr Ala Gly Leu Thr His Met Met Ile Trp His Ser Asn Leu Asn
 130 135 140
 gac acc aca tac caa aga aca agg gct ctt gtt cgg act ggg atg gat 480
 Asp Thr Thr Tyr Gln Arg Thr Arg Ala Leu Val Arg Thr Gly Met Asp

 145 150 155 160
 ccc aga atg tgc tct ctg atg caa ggc tca acc ctc cca cgg aga tct 528
 Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser
 165 170 175
 gga gcc gct ggt gct gca gta aaa ggt gtt gga aca atg gta atg gaa 576
 Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu
 180 185 190

 ctc atc aga atg atc aaa cgc gga ata aat gat cgg aat ttc tgg aga 624
 Leu Ile Arg Met Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg
 195 200 205
 ggt gaa aat ggt cga aaa acc aga att gct tat gaa aga atg tgc aat 672
 Gly Glu Asn Gly Arg Lys Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn
 210 215 220
 atc ctc aaa ggg aaa ttt cag aca gca gca caa cgg gct atg atg gac 720

 Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp
 225 230 235 240
 cag gtg agg gaa ggc cgc aat cct gga aac gct gag att gag gat ctc 768
 Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu
 245 250 255
 att ttc ttg gca cga tca gca ctt att ttg aga gga tca gta gcc cat 816
 Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His

260	265	270	
aaa tca tgc cta cct gcc tgt gtt tat ggc ctt gca ata acc agt ggg			864
Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Ile Thr Ser Gly			
275	280	285	
tat gac ttt gag aag gaa gga tac tct ctg gtt gga att gat cct ttc			912
Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe			
290	295	300	
aaa cta ctc cag aac agt caa att ttc agt cta atc aga cca aaa gaa			960
Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu			
305	310	315	320
aac cca gca cac aag agc cag ttg gtg tgg atg gca tgc cat tct gca			1008
Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala			
325	330	335	
gca ttt gag gac ctg aga gtt tta aat ttc att aga gga acc aaa gta			1056
Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val			
340	345	350	
atc cca aga gga cag tta aca acc aga gga gtt caa att gct tca aat			1104
Ile Pro Arg Gly Gln Leu Thr Thr Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn			
355	360	365	
gaa aac atg gag aca ata aat tct agc aca ctt gaa ctg aga agc aaa			1152
Glu Asn Met Glu Thr Ile Asn Ser Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Lys			
370	375	380	
tat tgg gca ata agg acc aga agc gga gga aac acc agt caa cag aga			1200
Tyr Trp Ala Ile Arg Thr Arg Ser Gly Gly Asn Thr Ser Gln Gln Arg			
385	390	395	400
gca tct gca gga cag ata agt gtg caa cct act ttc tca gta cag aga			1248
Ala Ser Ala Gly Gln Ile Ser Val Gln Pro Thr Phe Ser Val Gln Arg			
405	410	415	
aat cta ccc ttt gag aga gcg acc att atg gct gca ttc act ggt aac			1296
Asn Leu Pro Phe Glu Arg Ala Thr Ile Met Ala Ala Phe Thr Gly Asn			
420	425	430	

act gaa ggg agg act tcc gac atg aga acg gaa atc ata agg atg atg 1344

Thr Glu Gly Arg Thr Ser Asp Met Arg Thr Glu Ile Ile Arg Met Met

435 440 445

gaa aat gcc aaa tca gaa gat gtg tct ttc cag ggg cgg gga gtc ttc 1392

Glu Asn Ala Lys Ser Glu Asp Val Ser Phe Gln Gly Arg Gly Val Phe

450 455 460

gag ctc tcg gac gaa aag gca acg aac ccg atc gtg cct tcc ttt gac 1440

Glu Leu Ser Asp Glu Lys Ala Thr Asn Pro Ile Val Pro Ser Phe Asp

465 470 475 480

atg agc aat gaa ggg tct tat ttc ttc gga gac aat gct gag gag ttt 1488

Met Ser Asn Glu Gly Ser Tyr Phe Phe Gly Asp Asn Ala Glu Glu Phe

485 490 495

gac agt taa 1497

Asp Ser

<210> 10

<211> 498

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 10

Met Ala Ser Gln Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Asp

1 5 10 15

Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met

20 25 30

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

35 40 45

Leu Asn Asp His Glu Gly Arg Leu Ile Gln Asn Ser Ile Thr Ile Glu

50 55 60

Arg Met Val Leu Ser Ala Phe Asp Glu Arg Arg Asn Lys Tyr Leu Glu

65 70 75 80

Glu His Pro Ser Ala Gly Lys Asp Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Ile

85	90	95	
Tyr Arg Arg Lys Asp Gly Lys Trp Met Arg Glu Leu Ile Leu His Asp			
100	105	110	
Lys Glu Glu Ile Met Arg Ile Trp Arg Gln Ala Asn Asn Gly Glu Asp			
115	120	125	
Ala Thr Ala Gly Leu Thr His Met Met Ile Trp His Ser Asn Leu Asn			
130	135	140	
Asp Thr Thr Tyr Gln Arg Thr Arg Ala Leu Val Arg Thr Gly Met Asp			
145	150	155	160
Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser			
165	170	175	
Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu			
180	185	190	
Leu Ile Arg Met Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg			
195	200	205	
Gly Glu Asn Gly Arg Lys Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn			
210	215	220	
Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp			
225	230	235	240
Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu			
245	250	255	
Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His			
260	265	270	
Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Ile Thr Ser Gly			
275	280	285	
Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe			
290	295	300	
Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu			
305	310	315	320
Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala			
325	330	335	

Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val

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

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

465 470 475 480
 Met Ser Asn Glu Gly Ser Tyr Phe Phe Gly Asp Asn Ala Glu Glu Phe
 485 490 495
 Asp Ser

<210> 11

<211> 1413

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(1413)

<400> 11

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

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

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

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

325	330	335	
agt cct ttg gga aat aaa gga tac ggt gta aaa ggt ttc ggg ttt cga			1056
Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg			
340	345	350	
caa gga act gac gta tgg gcc gga agg aca att agt agg act tca aga			1104
Gln Gly Thr Asp Val Trp Ala Gly Arg Thr Ile Ser Arg Thr Ser Arg			
355	360	365	
tca gga ttc gaa ata ata aaa atc agg aat ggt tgg aca cag aac agt			1152
Ser Gly Phe Glu Ile Ile Lys Ile Arg Asn Gly Trp Thr Gln Asn Ser			
370	375	380	
aaa gac caa atc agg agg caa gtg att atc gat gac cca aat tgg tca			1200
Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser			
385	390	395	400
gga tat agc ggt tct ttc aca ttg ccg gtt gaa cta aca aaa aag gga			1248
Gly Tyr Ser Gly Ser Phe Thr Leu Pro Val Glu Leu Thr Lys Lys Gly			
405	410	415	
tgt ttg gtc ccc tgt ttc tgg gtt gaa atg att aga ggt aaa cct gaa			1296
Cys Leu Val Pro Cys Phe Trp Val Glu Met Ile Arg Gly Lys Pro Glu			
420	425	430	
gaa aca aca ata tgg acc tct agt agc tcc att gtg atg tgt gga gta			1344
Glu Thr Thr Ile Trp Thr Ser Ser Ser Ser Ile Val Met Cys Gly Val			
435	440	445	
gat cat aaa att gcc agt tgg tca tgg cac gat gga gct att ctt ccc			1392
Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro			
450	455	460	
ttt gac atc gat aag atg taa			1413
Phe Asp Ile Asp Lys Met			
465	470		
<210>	12		
<211>	470		
<212>	PRT		

<213> Influenza virus

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn

130 135 140

Gly Thr Val Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys

145 150 155 160

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

165 170 175

Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly

180 185 190

Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly

195 200 205

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

210 215 220

Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met

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

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

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

 Cys Leu Val Pro Cys Phe Trp Val Glu Met Ile Arg Gly Lys Pro Glu
 420 425 430
 Glu Thr Thr Ile Trp Thr Ser Ser Ser Ser Ile Val Met Cys Gly Val
 435 440 445
 Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro
 450 455 460
 Phe Asp Ile Asp Lys Met
 465 470
 <210> 13

<211> 982

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(756)

<400> 13

atg agt ctt cta acc gag gtc gaa acg tac gtt ctc tct atc gta cca 48

Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro

1 5 10 15

tca ggc ccc ctc aaa gcc gag atc gcg cag aga ctt gaa gat gtc ttt 96

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

20 25 30

gca gga aag aac acc gat ctt gag gca ctc atg gaa tgg cta aag aca 144

Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr

35 40 45

aga cca atc ctg tca cct ctg act aaa ggg att tta gga ttt gta ttc 192

Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe

50 55 60

acg ctc acc gtg ccc agt gag cga gga ctg cag cgt aga cgc ttt gtc 240

Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val

65 70 75 80

caa aat gcc ctt agt gga aac gga gat cca aac aac atg gac aga gca 288

Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala

85 90 95

gta aaa ctg tac agg aag ctt aaa aga gaa ata aca ttc cat ggg gca 336

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

100 105 110

aaa gag gta gca ctc agc tat tcc act ggt gca cta gcc agc tgc atg 384

Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met

115 120 125

gga ctc ata tac aac aga atg gga act gtt aca acc gaa gtg gca ttt 432

Gly Leu Ile Tyr Asn Arg Met Gly Thr Val Thr Thr Glu Val Ala Phe
130 135 140
ggc ctg gta tgc gcc aca tgt gaa cag att gct gat tcc cag cat cga 480

Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg
145 150 155 160
gct cac agg cag atg gtg aca aca acc aac cca ttg atc aga cat gaa 528
Ala His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu
165 170 175
aac aga atg gta tta gcc agt acc acg gct aaa gcc atg gaa cag atg 576
Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met

180 185 190
gca gga tgc agt gag cag gca gca gag gcc atg gag gtt gct agt agg 624
Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Arg
195 200 205
gct agg cag atg gta cag gca atg aga acc att ggg acc cac cct agc 672
Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser
210 215 220

tcc agt gcc ggt ttg aaa gat gat ctc ctt gaa aat tta cag gcc tac 720
Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr
225 230 235 240
cag aaa cgg atg gga gtg caa atg cag cga ttc aag tgatcctctc 766
Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys
245 250
gttattgcag caagtatcat tgggatcttg cacttgatat tgtggattct tgatcgtctt 826

ttcttcaaat tcatttatcg tcgccttaaa tacgggttga aaagagggcc ttctacggaa 886
ggagtacctg agtctatgag ggaagaatat cggcaggaac agcagaatgc tgtggatgtt 946
gacgatggtc attttgtcaa catagagctg gagtaa 982

<210> 14
<211> 252
<212> PRT
<213> Influenza virus

<400> 14

Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr

35 40 45

Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe

50 55 60

Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val

65 70 75 80

Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala

85 90 95

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

100 105 110

Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met

115 120 125

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

130 135 140

Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg

145 150 155 160

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

165 170 175

Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met

180 185 190

Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Arg

195 200 205

Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser

210 215 220

Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr

225 230 235 240

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

<210> 15
<211> 1698
<212> DNA
<213> Influenza virus
<220><221> CDS
<222> (1)..(1698)
<400> 15

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

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

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

att gag gtg aca aat gct aca gaa tta gtt cag agc att tca atg ggg 192

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

aaa ata tgc aac aaa tca tat aga att cta gat gga aga aat tgc aca 240
Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr
65 70 75 80

tta ata gat gca atg cta gga gac ccc cac tgt gac gcc ttt cag tat 288
Leu Ile Asp Ala Met Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Ala Phe Gln Tyr
85 90 95

gag agt tgg gac ctc ttc ata gaa aga agc aac gct ttc agc aat tgc 336
Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Asn Ala Phe Ser Asn Cys
100 105 110

tac cca tat gac atc cct gac tat gca tcg ctc cga tcc att gta gca 384
Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Ile Val Ala

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

Phe Lys Leu Lys Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Ala Pro	
275	280
285	
ata gac att tgt gtg tct gaa tgt att aca cca aat gga agc atc tcc	912
Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser	
290	295
300	
aac gac aag cca ttc caa aat gtg aac aaa gtt aca tat gga aaa tgc	960
Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys	
305	310
315	320
cct aag tat atc agg caa aac act tta aag ctg gcc act ggg atg agg	1008
Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg	
325	330
335	
aat gta cca gaa aag caa acc aga gga atc ttt gga gca ata gcg gga	1056
Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly	
340	345
350	
ttc atc gaa aac ggc tgg gaa gga atg gtt gat ggg tgg tat ggg ttc	1104
Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe	
355	360
365	
cga tat caa aac tct gaa gga aca ggg caa gct gca gat cta aag agc	1152
Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser	
370	375
380	
act caa gca gcc atc gac cag att aat gga aag tta aac aga gtg att	1200
Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile	
385	390
395	400
gaa aga acc aat gag aaa ttc cat caa ata gag aag gaa ttc tca gaa	1248
Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu	
405	410
415	
gta gaa gga aga att cag gac ctg gag aaa tat gta gaa gac acc aaa	1296
Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys	
420	425
430	
ata gac cta tgg tcc tac aat gca gaa ttg ctg gtg gct cta gaa aat	1344
Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn	

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

<210> 16

<211> 565

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 16

Met Lys Thr Thr Ile Ile Leu Ile Leu Leu Thr His Trp Ala Tyr Ser

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

 50 55 60
 Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr
 65 70 75 80
 Leu Ile Asp Ala Met Leu Gly Asp Pro His Cys Asp Ala Phe Gln Tyr
 85 90 95
 Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Asn Ala Phe Ser Asn Cys
 100 105 110
 Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Ile Val Ala

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

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

 245 250 255

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

 305 310 315 320
 Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg
 325 330 335
 Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly
 340 345 350
 Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe
 355 360 365
 Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser

 370 375 380
 Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile
 385 390 395 400
 Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu
 405 410 415
 Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys
 420 425 430
 Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn

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

```

                    500                505                510
Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp
                    515                520                525
Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val
                    530                535                540
Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Arg Gly Asn Ile Arg
545                550                555                560
Cys Asn Ile Cys Ile
                    565

<210
> 17
<211> 2277
<212> DNA
<213> Influenza virus
<220><221> CDS
<222> (1)..(2277)
<220><221> misc_feature
<222> (731)..(731)
<223> The 'Xaa' at location 731 stands for Val, or Ile
<400> 17

atg gag aga ata aaa gaa ctg aga gat ctg atg tta caa tcc cgc acc      48
Met Glu Arg Ile Lys Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr
1                5                10                15
cgc gag ata cta aca aaa act act gtg gac cac atg gcc ata atc aag      96

Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys
                20                25                30
aaa tac aca tca gga aga caa gag aag aac cct gca ctt agg atg aaa      144
Lys Tyr Thr Ser Gly Arg Gln Glu Lys Asn Pro Ala Leu Arg Met Lys
                35                40                45
tgg atg atg gca atg aaa tac cca att aca gca gat aag agg ata atg      192
Trp Met Met Ala Met Lys Tyr Pro Ile Thr Ala Asp Lys Arg Ile Met

                    50                55                60
gag atg att cct gag aga aat gaa cag gga caa acc ctt tgg agc aaa      240

```

Glu	Met	Ile	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Gln	Gly	Gln	Thr	Leu	Trp	Ser	Lys	
65				70				75				80				
acg	aac	gat	gct	ggc	tca	gac	cgc	gta	atg	gta	tca	cct	ctg	gca	gtg	288
Thr	Asn	Asp	Ala	Gly	Ser	Asp	Arg	Val	Met	Val	Ser	Pro	Leu	Ala	Val	
85				90				95								
aca	tgg	tgg	aat	agg	aat	gga	cca	aca	acg	agc	aca	att	cat	tat	cca	336
Thr	Trp	Trp	Asn	Arg	Asn	Gly	Pro	Thr	Thr	Ser	Thr	Ile	His	Tyr	Pro	
100				105				110								
aaa	gtc	tac	aaa	act	tat	ttt	gaa	aag	gtt	gaa	aga	ttg	aaa	cac	gga	384
Lys	Val	Tyr	Lys	Thr	Tyr	Phe	Glu	Lys	Val	Glu	Arg	Leu	Lys	His	Gly	
115				120				125								
acc	ttt	ggc	ccc	gtt	cat	ttt	agg	aat	caa	gtc	aag	ata	aga	cga	aga	432
Thr	Phe	Gly	Pro	Val	His	Phe	Arg	Asn	Gln	Val	Lys	Ile	Arg	Arg	Arg	
130				135				140								
gtt	gat	gta	aac	cct	ggt	cac	gcg	gac	ctc	agt	gcc	aaa	gaa	gca	caa	480
Val	Asp	Val	Asn	Pro	Gly	His	Ala	Asp	Leu	Ser	Ala	Lys	Glu	Ala	Gln	
145				150				155				160				
gat	gtg	atc	atg	gaa	gtt	gtt	ttc	cca	aat	gaa	gtg	gga	gcc	aga	att	528
Asp	Val	Ile	Met	Glu	Val	Val	Phe	Pro	Asn	Glu	Val	Gly	Ala	Arg	Ile	
165				170				175								
cta	aca	tcg	gaa	tca	caa	cta	aca	ata	acc	aaa	gag	aaa	aag	gaa	gaa	576
Leu	Thr	Ser	Glu	Ser	Gln	Leu	Thr	Ile	Thr	Lys	Glu	Lys	Lys	Glu	Glu	
180				185				190								
ctt	cag	gac	tgc	aaa	att	gct	ccc	ttg	atg	gta	gca	tac	atg	cta	gaa	624
Leu	Gln	Asp	Cys	Lys	Ile	Ala	Pro	Leu	Met	Val	Ala	Tyr	Met	Leu	Glu	
195				200				205								
aga	gag	ttg	gtc	cga	aaa	aca	agg	ttc	ctc	cca	gta	gca	ggc	gga	aca	672
Arg	Glu	Leu	Val	Arg	Lys	Thr	Arg	Phe	Leu	Pro	Val	Ala	Gly	Gly	Thr	
210				215				220								
agc	agt	gta	tac	att	gaa	gtg	ttg	cat	ctg	act	cag	gga	aca	tgc	tgg	720
Ser	Ser	Val	Tyr	Ile	Glu	Val	Leu	His	Leu	Thr	Gln	Gly	Thr	Cys	Trp	

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

Ile Val Ser Gly Arg Asp Glu Gln Ser Ile Ala Glu Ala Ile Ile Val

385 390 395 400
gcc atg gtg ttt tcg caa gaa gat tgc atg ata aaa gca gtt cga ggc 1248

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

 405 410 415
gat ttg aac ttt gtt aat aga gca aat cag cgt ttg aac ccc atg cat 1296

Asp Leu Asn Phe Val Asn Arg Ala Asn Gln Arg Leu Asn Pro Met His

 420 425 430
caa ctc ttg agg cat ttc caa aaa gat gca aaa gtg ctt ttc caa aat 1344

Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe Gln Asn

 435 440 445
tgg gga att gaa ccc atc gac aat gla atg ggg atg att gga ata ttg 1392

Trp Gly Ile Glu Pro Ile Asp Asn Val Met Gly Met Ile Gly Ile Leu

 450 455 460
cct gac atg acc cca agc acc gag atg tca ttg aga gga gtg aga gtc 1440

Pro Asp Met Thr Pro Ser Thr Glu Met Ser Leu Arg Gly Val Arg Val

465 470 475 480
agc aaa atg gga gtg gat gag tac tcc agc act gag aga gtg gtg gtg 1488

Ser Lys Met Gly Val Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Glu Arg Val Val Val

 485 490 495
agc att gac cgt ttt tta aga gtt cgg gat caa agg gga aac ata cta 1536

Ser Ile Asp Arg Phe Leu Arg Val Arg Asp Gln Arg Gly Asn Ile Leu

 500 505 510
ctg tcc cct gaa gaa gtc agt gaa aca caa gga acg gaa aag ctg aca 1584

Leu Ser Pro Glu Glu Val Ser Glu Thr Gln Gly Thr Glu Lys Leu Thr

 515 520 525
ata att tat tcg tca tca atg atg tgg gag att aat ggt ccc gaa tca 1632

Ile Ile Tyr Ser Ser Ser Met Met Trp Glu Ile Asn Gly Pro Glu Ser

 530 535 540

gtg ttg gtc aat act tat caa tgg atc atc agg aac tgg gaa att gta	1680
Val Leu Val Asn Thr Tyr Gln Trp Ile Ile Arg Asn Trp Glu Ile Val	
545 550 555 560	
aaa att cag tgg tca cag gac ccc aca atg tta tac aat aag ata gaa	1728
Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu	
565 570 575	
ttt gag cca ttc caa tcc ctg gtc cct agg gcc acc aga agc caa tac	1776
Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr	
580 585 590	
agc ggt ttc gta aga acc ctg ttt cag caa atg cga gat gta ctt gga	1824
Ser Gly Phe Val Arg Thr Leu Phe Gln Gln Met Arg Asp Val Leu Gly	
595 600 605	
aca ttt gat act gct caa ata ata aaa ctc ctc cct ttt gcc gct gct	1872
Thr Phe Asp Thr Ala Gln Ile Ile Lys Leu Leu Pro Phe Ala Ala Ala	
610 615 620	
cct ccg gaa cag agt agg atg cag ttc tct tct ttg act gtt aat gta	1920
Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val	
625 630 635 640	
aga ggt tcg gga atg agg ata ctt gta aga ggc aat tcc cca gtg ttc	1968
Arg Gly Ser Gly Met Arg Ile Leu Val Arg Gly Asn Ser Pro Val Phe	
645 650 655	
aac tac aat aaa gcc act aaa agg ctc aca gtc ctc gga aag gat gca	2016
Asn Tyr Asn Lys Ala Thr Lys Arg Leu Thr Val Leu Gly Lys Asp Ala	
660 665 670	
ggt gcg ctt act gag gac cca gat gaa ggt acg gct gga gta gaa tct	2064
Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser	
675 680 685	
gct gtt cta aga ggg ttt ctc att tta ggt aaa gaa aac aag aga tat	2112
Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr	
690 695 700	
ggc cca gca cta agc atc aat gaa cta agc aaa ctt gca aaa ggg gag	2160

Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu
 705 710 715 720
 aaa gcc aat gta cta att ggg caa ggg gac rta gtg ttg gta atg aaa 2208
 Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Xaa Val Leu Val Met Lys

 725 730 735
 cgg aaa cgt gac tct agc ata ctt act gac agc cag aca gcg acc aaa 2256
 Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys
 740 745 750
 agg att cgg atg gcc atc aat 2277
 Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn
 755

<210> 18
 <211> 759
 <212> PRT
 <213> Influenza virus
 <220><221> misc_feature
 <222> (731)..(731)
 <223> The 'Xaa' at location 731 stands for Val, or Ile.
 <400> 18

Met Glu Arg Ile Lys Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr
 1 5 10 15
 Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys
 20 25 30
 Lys Tyr Thr Ser Gly Arg Gln Glu Lys Asn Pro Ala Leu Arg Met Lys

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

Thr Trp Trp Asn Arg Asn Gly Pro Thr Thr Ser Thr Ile His Tyr Pro

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

115 120 125
Thr Phe Gly Pro Val His Phe Arg Asn Gln Val Lys Ile Arg Arg Arg

130 135 140
Val Asp Val Asn Pro Gly His Ala Asp Leu Ser Ala Lys Glu Ala Gln

145 150 155 160
Asp Val Ile Met Glu Val Val Phe Pro Asn Glu Val Gly Ala Arg Ile

165 170 175
Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu

180 185 190
Leu Gln Asp Cys Lys Ile Ala Pro Leu Met Val Ala Tyr Met Leu Glu

195 200 205
Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Ala Gly Gly Thr

210 215 220
Ser Ser Val Tyr Ile Glu Val Leu His Leu Thr Gln Gly Thr Cys Trp

225 230 235 240
Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Glu Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp

245 250 255
Gln Ser Leu Ile Ile Ala Ala Arg Asn Ile Val Arg Arg Ala Thr Val

260 265 270
Ser Ala Asp Pro Leu Ala Ser Leu Leu Glu Met Cys His Ser Thr Gln

275 280 285
Ile Gly Gly Ile Arg Met Val Asp Ile Leu Lys Gln Asn Pro Thr Glu

290 295 300
Glu Gln Ala Val Asp Ile Cys Lys Ala Ala Met Gly Leu Arg Ile Ser

305 310 315 320
Ser Ser Phe Ser Phe Gly Gly Phe Thr Phe Lys Arg Thr Ser Gly Ser

325 330 335
Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu

340 345 350
 Lys Ile Arg Val His Glu Gly Tyr Glu Glu Phe Thr Met Val Gly Arg

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

 420 425 430
 Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe Gln Asn
 435 440 445
 Trp Gly Ile Glu Pro Ile Asp Asn Val Met Gly Met Ile Gly Ile Leu
 450 455 460
 Pro Asp Met Thr Pro Ser Thr Glu Met Ser Leu Arg Gly Val Arg Val
 465 470 475 480
 Ser Lys Met Gly Val Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Glu Arg Val Val Val

 485 490 495
 Ser Ile Asp Arg Phe Leu Arg Val Arg Asp Gln Arg Gly Asn Ile Leu
 500 505 510
 Leu Ser Pro Glu Glu Val Ser Glu Thr Gln Gly Thr Glu Lys Leu Thr
 515 520 525
 Ile Ile Tyr Ser Ser Ser Met Met Trp Glu Ile Asn Gly Pro Glu Ser
 530 535 540
 Val Leu Val Asn Thr Tyr Gln Trp Ile Ile Arg Asn Trp Glu Ile Val

 545 550 555 560
 Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu
 565 570 575
 Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr
 580 585 590

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

Thr Phe Asp Thr Ala Gln Ile Ile Lys Leu Leu Pro Phe Ala Ala Ala

610 615 620
Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val
625 630 635 640

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

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

Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser

675 680 685
Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr
690 695 700

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

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

Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys

740 745 750

Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn

755

<210> 19

<211> 2274

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(2274)

<400> 19

atg gat gtc aat ccg act cta ctt ttc tta aag gtg cca gcg caa aat 48

Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn

1 5 10 15

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

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

cta agc att gca ccg att atg ttc tca aat aaa atg gca aga ctg ggg	1056
Leu Ser Ile Ala Pro Ile Met Phe Ser Asn Lys Met Ala Arg Leu Gly	
340 345 350	
aaa gga tat atg ttt gaa agc aaa agt atg aaa ttg aga act caa ata	1104
Lys Gly Tyr Met Phe Glu Ser Lys Ser Met Lys Leu Arg Thr Gln Ile	
355 360 365	
cca gca gaa atg cta gca agc att gac cta aaa tat ttc aat gat tca	1152
Pro Ala Glu Met Leu Ala Ser Ile Asp Leu Lys Tyr Phe Asn Asp Ser	
370 375 380	
aca aaa aag aaa att gaa aag ata cga cca ctt ctg gtt gac ggg act	1200
Thr Lys Lys Lys Ile Glu Lys Ile Arg Pro Leu Leu Val Asp Gly Thr	
385 390 395 400	
gct tca ctg agt cct ggc atg atg atg gga atg ttc aac atg ttg agc	1248
Ala Ser Leu Ser Pro Gly Met Met Met Gly Met Phe Asn Met Leu Ser	
405 410 415	
act gtg ctg ggt gta tcc ata tta aac ctg ggc cag agg aaa tac aca	1296
Thr Val Leu Gly Val Ser Ile Leu Asn Leu Gly Gln Arg Lys Tyr Thr	
420 425 430	
aag acc aca tac tgg tgg gat ggt ctg caa tca tcc gat gac ttt gct	1344
Lys Thr Thr Tyr Trp Trp Asp Gly Leu Gln Ser Ser Asp Asp Phe Ala	
435 440 445	
ttg ata gtg aat gcg cct aat cat gaa gga ata caa gct gga gta gac	1392
Leu Ile Val Asn Ala Pro Asn His Glu Gly Ile Gln Ala Gly Val Asp	
450 455 460	
aga ttc tat aga act tgc aaa ctg gtc ggg atc aac atg agc aaa aag	1440
Arg Phe Tyr Arg Thr Cys Lys Leu Val Gly Ile Asn Met Ser Lys Lys	
465 470 475 480	
aaa tcc tac ata aat aga act gga aca ttc gaa ttc aca agc ttt ttc	1488
Lys Ser Tyr Ile Asn Arg Thr Gly Thr Phe Glu Phe Thr Ser Phe Phe	
485 490 495	
tac cgg tat ggt ttt gta gcc aat ttc agc atg gaa cta ccc agt ttt	1536

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

tat gat gct gtt gca aca aca cat tct tgg atc ccc aag agg aac cgg 2016

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

660 665 670

tcc ata ttg aac aca agc caa agg gga ata ctc gaa gat gag cag atg 2064

Ser Ile Leu Asn Thr Ser Gln Arg Gly Ile Leu Glu Asp Glu Gln Met

675 680 685

tat cag aaa tgc tgc aac ctg ttt gaa aaa ttc ttc ccc agc agc tca 2112

Tyr Gln Lys Cys Cys Asn Leu Phe Glu Lys Phe Phe Pro Ser Ser Ser

690 695 700

tac aga aga cca gtc gga att tct agt atg gtt gag gcc atg gtg tcc 2160

Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser

705 710 715 720

agg gcc cgc att gat gca cga att gac ttc gaa tct gga cgg ata aag 2208

Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys

725 730 735

aag gat gag ttc gct gag atc atg aag atc tgt tcc acc att gaa gag 2256

Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu

740 745 750

ctc aga cgg caa aaa tag 2274

Leu Arg Arg Gln Lys

755

<210> 20

<211> 757

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 20

Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn

1 5 10 15

Ala Ile Ser Thr Thr Phe Pro Tyr Thr Gly Asp Pro Pro Tyr Ser His

20 25 30

Gly Thr Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Thr Val Asn Arg Thr His Gln

35 40 45

Tyr Ser Glu Lys Gly Lys Trp Thr Thr Asn Thr Glu Ile Gly Ala Pro

50 55 60
Gln Leu Asn Pro Ile Asp Gly Pro Leu Pro Glu Asp Asn Glu Pro Ser
65 70 75 80
Gly Tyr Ala Gln Thr Asp Cys Val Leu Glu Ala Met Ala Phe Leu Glu
85 90 95
Glu Ser His Pro Gly Ile Phe Glu Asn Ser Cys Leu Glu Thr Met Glu
100 105 110
Val Ile Gln Gln Thr Arg Val Asp Lys Leu Thr Gln Gly Arg Gln Thr

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

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

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

290 295 300
 Asp Asn Thr Lys Trp Asn Glu Asn Gln Asn Pro Arg Ile Phe Leu Ala

 305 310 315 320
 Met Ile Thr Tyr Ile Thr Arg Asn Gln Pro Glu Trp Phe Arg Asn Val

 325 330 335
 Leu Ser Ile Ala Pro Ile Met Phe Ser Asn Lys Met Ala Arg Leu Gly

 340 345 350
 Lys Gly Tyr Met Phe Glu Ser Lys Ser Met Lys Leu Arg Thr Gln Ile

 355 360 365
 Pro Ala Glu Met Leu Ala Ser Ile Asp Leu Lys Tyr Phe Asn Asp Ser

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

 405 410 415
 Thr Val Leu Gly Val Ser Ile Leu Asn Leu Gly Gln Arg Lys Tyr Thr

 420 425 430
 Lys Thr Thr Tyr Trp Trp Asp Gly Leu Gln Ser Ser Asp Asp Phe Ala

 435 440 445
 Leu Ile Val Asn Ala Pro Asn His Glu Gly Ile Gln Ala Gly Val Asp
 450 455 460
 Arg Phe Tyr Arg Thr Cys Lys Leu Val Gly Ile Asn Met Ser Lys Lys
 465 470 475 480
 Lys Ser Tyr Ile Asn Arg Thr Gly Thr Phe Glu Phe Thr Ser Phe Phe

 485 490 495
 Tyr Arg Tyr Gly Phe Val Ala Asn Phe Ser Met Glu Leu Pro Ser Phe

 500 505 510
 Gly Val Ser Gly Ile Asn Glu Ser Ala Asp Met Ser Ile Gly Val Thr

 515 520 525
 Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala

 530 535 540

Gln Met Ala Leu Gln Leu Phe Ile Lys Asp Tyr Arg Tyr Thr Tyr Arg
 545 550 555 560
 Cys His Arg Gly Asp Thr Gln Ile Gln Thr Arg Arg Ser Phe Glu Leu

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

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

 690 695 700
 Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser
 705 710 715 720
 Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys
 725 730 735
 Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu
 740 745 750
 Leu Arg Arg Gln Lys

755

<210

> 21

<211> 2151

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(2151)

<400> 21

atg gaa gac ttt gtg cga cag tgc ttc aat cca atg atc gtc gag ctt 48

Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu

1 5 10 15

gcg gaa aag gca atg aaa gaa tat gga gag aac ccg aaa atc gaa aca 96

Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr

20 25 30

aac aaa ttt gca gca ata tgc act cac ttg gaa gtc tgc ttc atg tac 144

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

35 40 45

tcg gat ttt cac ttt att aat gaa ctg ggt gag tca gtg gtc ata gag 192

Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu

50 55 60

tct ggt gac cca aat gct ctt ttg aaa cac aga ttt gaa atc att gag 240

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

65 70 75 80

ggg aga gat cga aca atg gca tgg aca gta gta aac agc atc tgc aac 288

Gly Arg Asp Arg Thr Met Ala Trp Thr Val Val Asn Ser Ile Cys Asn

85 90 95

acc aca aga gct gaa aaa cct aaa ttt ctt cca gat tta tac gac tat 336

Thr Thr Arg Ala Glu Lys Pro Lys Phe Leu Pro Asp Leu Tyr Asp Tyr

100 105 110

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

Lys Glu Asn Arg Phe Val Glu Ile Gly Val Thr Arg Arg Glu Val His

115 120 125

ata tac tac ctg gag aag gcc aac aaa ata aag tct gag aaa aca cat 432

Ile Tyr Tyr Leu Glu Lys Ala Asn Lys Ile Lys Ser Glu Lys Thr His

130 135 140

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

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

465	470	475	480	
caa tta att ccg atg ata agt aaa tgc agg acc aaa gaa ggg aga agg				1488
Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg				
	485	490	495	
aaa aca aat tta tat gga ttc ata ata aag gga agg tcc cat tta aga				1536
Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg				
	500	505	510	
aat gat act gac gtg gtg aac ttt gta agt atg gaa ttt tct ctc act				1584
Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr				
	515	520	525	
gat cca aga ttt gag cca cac aaa tgg gaa aaa tac tgc gtt cta gaa				1632
Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu				
	530	535	540	
att gga gac atg ctt cta aga act gct gta ggt caa gtg tca aga ccc				1680
Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro				
545	550	555	560	
atg ttt ttg tat gta agg aca aat gga acc tct aaa att aaa atg aaa				1728
Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys				
	565	570	575	
tgg gga atg gaa atg agg cgc tgc ctc ctt cag tct ctg caa cag att				1776
Trp Gly Met Glu Met Arg Arg Cys Leu Leu Gln Ser Leu Gln Gln Ile				
	580	585	590	
gaa agc atg atc gaa gct gag tcc tca gtc aaa gaa aag gac atg acc				1824
Glu Ser Met Ile Glu Ala Glu Ser Ser Val Lys Glu Lys Asp Met Thr				
	595	600	605	
aaa gaa ttt ttt gag aac aaa tca gag aca tgg cct ata gga gag tcc				1872
Lys Glu Phe Phe Glu Asn Lys Ser Glu Thr Trp Pro Ile Gly Glu Ser				
	610	615	620	
ccc aaa gga gtg gaa gag ggc tca atc ggg aag gtt tgc agg acc tta				1920

Pro Lys Gly Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Lys Val Cys Arg Thr Leu
625 630 635 640
tta gca aaa tct gtg ttt aac agt tta tat gca tct cca caa ctg gaa 1968
Leu Ala Lys Ser Val Phe Asn Ser Leu Tyr Ala Ser Pro Gln Leu Glu
 645 650 655
ggg ttt tca gct gaa tct agg aaa tta ctt ctc att gtt cag gct ctt 2016
Gly Phe Ser Ala Glu Ser Arg Lys Leu Leu Leu Ile Val Gln Ala Leu

 660 665 670
agg gat gac ctg gaa cct gga acc ttt gat att ggg ggg tta tat gaa 2064
Arg Asp Asp Leu Glu Pro Gly Thr Phe Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Glu
 675 680 685
tca att gag gag tgc ctg att aat gat ccc tgg gtt ttg ctt aat gca 2112
Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala
 690 695 700

tct tgg ttc aac tcc ttc ctt aca cat gca ctg aag tag 2151
Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys
705 710 715
<210> 22
<211> 716
<212> PRT
<213> Influenza virus
<400> 22
Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu
1 5 10 15
Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr
 20 25 30

Asn Lys Phe Ala Ala Ile Cys Thr His Leu Glu Val Cys Phe Met Tyr
 35 40 45
Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu
 50 55 60
Ser Gly Asp Pro Asn Ala Leu Leu Lys His Arg Phe Glu Ile Ile Glu
65 70 75 80

Gly Arg Asp Arg Thr Met Ala Trp Thr Val Val Asn Ser Ile Cys Asn
85 90 95

Thr Thr Arg Ala Glu Lys Pro Lys Phe Leu Pro Asp Leu Tyr Asp Tyr
100 105 110

Lys Glu Asn Arg Phe Val Glu Ile Gly Val Thr Arg Arg Glu Val His
115 120 125

Ile Tyr Tyr Leu Glu Lys Ala Asn Lys Ile Lys Ser Glu Lys Thr His
130 135 140

Ile His Ile Phe Ser Phe Thr Gly Glu Glu Met Ala Thr Lys Ala Asp
145 150 155 160

Tyr Thr Leu Asp Glu Glu Ser Arg Ala Arg Ile Lys Thr Arg Leu Phe
165 170 175

Thr Ile Arg Gln Glu Met Ala Ser Arg Gly Leu Trp Asp Ser Phe Arg
180 185 190

Gln Ser Glu Arg Gly Glu Glu Thr Ile Glu Glu Arg Phe Glu Ile Thr
195 200 205

Gly Thr Met Arg Lys Leu Ala Asn Tyr Ser Leu Pro Pro Asn Phe Ser
210 215 220

Ser Leu Glu Asn Phe Arg Val Tyr Val Asp Gly Phe Glu Pro Asn Gly
225 230 235 240

Cys Ile Glu Ser Lys Leu Ser Gln Met Ser Lys Glu Val Asn Ala Arg
245 250 255

Ile Glu Pro Phe Ser Lys Thr Thr Pro Arg Pro Leu Lys Met Pro Gly
260 265 270

Gly Pro Pro Cys His Gln Arg Ser Lys Phe Leu Leu Met Asp Ala Leu
275 280 285

Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu
290 295 300

Tyr Asp Ala Ile Lys Cys Met Lys Thr Phe Phe Gly Trp Lys Glu Pro
305 310 315 320

Ser Ile Val Lys Pro His Glu Lys Gly Ile Asn Pro Asn Tyr Leu Gln

	325	330	335
Thr Trp Lys Gln Val Leu Glu Glu Ile Gln Asp Leu Glu Asn Glu Glu			
	340	345	350
Arg Thr Pro Lys Thr Lys Asn Met Lys Lys Thr Ser Gln Leu Lys Trp			
	355	360	365
Ala Leu Gly Glu Asn Met Ala Pro Glu Lys Val Asp Phe Glu Asp Cys			
	370	375	380
Lys Asp Ile Asn Asp Leu Lys Gln Tyr Asp Ser Asp Glu Pro Glu Thr			
385	390	395	400
Arg Ser Leu Ala Ser Trp Ile Gln Ser Glu Phe Asn Lys Ala Cys Glu			
	405	410	415
Leu Thr Asp Ser Ser Trp Ile Glu Leu Asp Glu Ile Gly Glu Asp Val			
	420	425	430
Ala Pro Ile Glu Tyr Ile Ala Ser Met Arg Arg Asn Tyr Phe Thr Ala			
	435	440	445
Glu Ile Ser His Cys Arg Ala Thr Glu Tyr Ile Met Lys Gly Val Tyr			
	450	455	460
Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe			
465	470	475	480
Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg			
	485	490	495
Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg			
	500	505	510
Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr			
	515	520	525
Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu			
	530	535	540
Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro			
545	550	555	560
Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys			
	565	570	575

Trp Gly Met Glu Met Arg Arg Cys Leu Leu Gln Ser Leu Gln Gln Ile
580 585 590

Glu Ser Met Ile Glu Ala Glu Ser Ser Val Lys Glu Lys Asp Met Thr
595 600 605

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

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

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

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

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

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

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

<210> 23

<211> 838

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(657)

<400> 23

atg gat tcc aac act gtg tca agc ttt cag gta gac tgt ttt ctt tgg 48

Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp
1 5 10 15

cat gtc cgc aaa cga ttc gca gac caa gaa ctg ggt gat gcc cca ttc 96

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

ctt gac cgg ctt cgc cga gac cag aag tcc cta agg gga aga ggt agc 144

Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser

35	40	45	
act ctt ggt ctg gac atc gaa aca gcc act cat gca gga aag cag ata	192		
Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr His Ala Gly Lys Gln Ile			
50	55	60	
gtg gag cag att ctg gaa aag gaa tca gat gag gca ctt aaa atg acc	240		
Val Glu Gln Ile Leu Glu Lys Glu Ser Asp Glu Ala Leu Lys Met Thr			
65	70	75	80
att gcc tct gtt cct act tca cgc tac tta act gac atg act ctt gat	288		
Ile Ala Ser Val Pro Thr Ser Arg Tyr Leu Thr Asp Met Thr Leu Asp			
85	90	95	
gag atg tca aga gac tgg ttc atg ctc atg ccc aag caa aaa gta aca	336		
Glu Met Ser Arg Asp Trp Phe Met Leu Met Pro Lys Gln Lys Val Thr			
100	105	110	
ggc tcc cta tgt ata aga atg gac cag gca atc atg gat aag aac atc	384		
Gly Ser Leu Cys Ile Arg Met Asp Gln Ala Ile Met Asp Lys Asn Ile			
115	120	125	
ata ctt aaa gca aac ttt agt gtg att ttc gaa ggg ctg gaa aca cta	432		
Ile Leu Lys Ala Asn Phe Ser Val Ile Phe Glu Gly Leu Glu Thr Leu			
130	135	140	
ata cta ctt aga gcc ttc acc gaa gaa gga gca gtc gtt ggc gaa att	480		
Ile Leu Leu Arg Ala Phe Thr Glu Glu Gly Ala Val Val Gly Glu Ile			
145	150	155	160
tca cca tta cct tct ctt cca gga cat act aat gag gat gtc aaa aat	528		
Ser Pro Leu Pro Ser Leu Pro Gly His Thr Asn Glu Asp Val Lys Asn			
165	170	175	
gca att ggg gtc ctc atc gga gga ctt aaa tgg aat gat aat acg gtt	576		
Ala Ile Gly Val Leu Ile Gly Gly Leu Lys Trp Asn Asp Asn Thr Val			
180	185	190	

aga atc tct gaa act cta cag aga ttc gct tgg aga agc agt cat gag 624

Arg Ile Ser Glu Thr Leu Gln Arg Phe Ala Trp Arg Ser Ser His Glu

195 200 205

aat ggg aga cct tca ttc cct tca aag cag aaa tgaaaaatgg agagaacaat 677

Asn Gly Arg Pro Ser Phe Pro Ser Lys Gln Lys

210 215

taagccagaa atttgaagaa ataagatggt tgattgaaga agtgcgacat agattgaaaa 737

atacagaaaa tagttttgaa caaataacat ttatgcaagc cttacaacta ttgcttgaag 797

tagaacaaga gataagaact ttctcggttc agcttattta a 838

<210> 24

<211> 219

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 24

Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp

1 5 10 15

His Val Arg Lys Arg Phe Ala Asp Gln Glu Leu Gly Asp Ala Pro Phe

20 25 30

Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser

35 40 45

Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr His Ala Gly Lys Gln Ile

50 55 60

Val Glu Gln Ile Leu Glu Lys Glu Ser Asp Glu Ala Leu Lys Met Thr

65 70 75 80

Ile Ala Ser Val Pro Thr Ser Arg Tyr Leu Thr Asp Met Thr Leu Asp

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Leu Lys Ala Asn Phe Ser Val Ile Phe Glu Gly Leu Glu Thr Leu

130 135 140

Ile Leu Leu Arg Ala Phe Thr Glu Glu Gly Ala Val Val Gly Glu Ile
 145 150 155 160
 Ser Pro Leu Pro Ser Leu Pro Gly His Thr Asn Glu Asp Val Lys Asn

 165 170 175
 Ala Ile Gly Val Leu Ile Gly Gly Leu Lys Trp Asn Asp Asn Thr Val
 180 185 190

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

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

<210> 25

<211> 1497

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222>

(1)..(1497)

<400> 25

atg gcg tct caa ggc acc aaa cga tcc tat gaa cag atg gaa act gat 48

Met Ala Ser Gln Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Asp

1 5 10 15

ggg gaa cgc cag aat gca act gaa atc aga gca tct gtc gga agg atg 96

Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met

 20 25 30

gtg gga gga atc ggc cgg ttt tat gtt cag atg tgt act gag ctt aaa 144

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

 35 40 45

cta aac gac cat gaa ggg cgg ctg att cag aac agc ata aca ata gaa 192

Leu Asn Asp His Glu Gly Arg Leu Ile Gln Asn Ser Ile Thr Ile Glu

 50 55 60

agg atg gta ctt tgc gca ttc gac gaa aga aga aac aag tat ctc gag 240

Arg Met Val Leu Ser Ala Phe Asp Glu Arg Arg Asn Lys Tyr Leu Glu

65	70	75	80	
gag cat ccc agt gct ggg aaa gac cct aag aaa acg gga ggc ccg ata				288
Glu His Pro Ser Ala Gly Lys Asp Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Ile				
	85	90	95	
tac aga agg aaa gat ggg aaa tgg atg agg gaa ctc atc ctc cat gat				336
Tyr Arg Arg Lys Asp Gly Lys Trp Met Arg Glu Leu Ile Leu His Asp				
	100	105	110	
aaa gaa gaa atc atg aga atc tgg cgt cag gcc aac aat ggt gaa gac				384
Lys Glu Glu Ile Met Arg Ile Trp Arg Gln Ala Asn Asn Gly Glu Asp				
	115	120	125	
gct act gct ggt ctt act cat atg atg atc tgg cac tcc aat ctc aat				432
Ala Thr Ala Gly Leu Thr His Met Met Ile Trp His Ser Asn Leu Asn				
	130	135	140	
gac acc aca tac caa aga aca agg gct ctt gtt cgg act ggg atg gat				480
Asp Thr Thr Tyr Gln Arg Thr Arg Ala Leu Val Arg Thr Gly Met Asp				
145	150	155	160	
ccc aga atg tgc tct ctg atg caa ggc tca acc ctc cca cgg aga tct				528
Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser				
	165	170	175	
gga gcc gct ggt gct gca gta aaa ggt gtt gga aca atg gta atg gaa				576
Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu				
	180	185	190	
ctc atc aga atg atc aaa cgc gga ata aat gat cgg aat ttc tgg aga				624
Leu Ile Arg Met Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg				
	195	200	205	
ggt gaa aat ggt cga aga acc aga att gct tat gaa aga atg tgc aat				672
Gly Glu Asn Gly Arg Arg Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn				
	210	215	220	
atc ctc aaa ggg aaa ttt cag aca gca gca caa cgg gct atg atg gac				720
Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp				
225	230	235	240	

cag gtg agg gaa ggc cgc aat cct gga aac gct gag att gag gat ctc	768
Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu	
245 250 255	
att ttc ttg gca cga tca gca ctt att ttg aga gga tca gta gcc cat	816
Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His	
260 265 270	
aaa tca tgc cta cct gcc tgt gtt tat ggc ctt gca gta acc agt ggg	864
Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Val Thr Ser Gly	
275 280 285	
tat gac ttt gag aag gaa gga tac tct ctg gtt gga att gat cct ttc	912
Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe	
290 295 300	
aaa cta ctc cag aac agt caa att ttc agt cta atc aga cca aaa gaa	960
Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu	
305 310 315 320	
aac cca gca cac aag agc cag ttg gtg tgg atg gca tgc cat tct gca	1008
Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala	
325 330 335	
gca ttt gag gac ctg aga gtt tta aat ttc att aga gga acc aaa gta	1056
Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val	
340 345 350	
atc cca aga gga cag tta aca acc aga gga gtt caa att gct tca aat	1104
Ile Pro Arg Gly Gln Leu Thr Thr Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn	
355 360 365	
gaa aac atg gag aca ata gat tct agc aca ctt gaa ctg aga agc aaa	1152
Glu Asn Met Glu Thr Ile Asp Ser Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Lys	
370 375 380	
tat tgg gca ata agg acc aga agc gga gga aac acc agt caa cag aga	1200
Tyr Trp Ala Ile Arg Thr Arg Ser Gly Gly Asn Thr Ser Gln Gln Arg	
385 390 395 400	
gca tct gca gga cag ata agt gtg caa cct act ttc tca gta cag aga	1248

Ala Ser Ala Gly Gln Ile Ser Val Gln Pro Thr Phe Ser Val Gln Arg

405 410 415
aat ctt ccc ttt gag aga gca acc att atg gct gca ttc act ggt aac 1296

Asn Leu Pro Phe Glu Arg Ala Thr Ile Met Ala Ala Phe Thr Gly Asn

420 425 430
act gaa ggg agg act tcc gac atg aga acg gaa atc ata agg atg atg 1344
Thr Glu Gly Arg Thr Ser Asp Met Arg Thr Glu Ile Ile Arg Met Met

435 440 445
gaa aat gcc aaa tca gaa gat gtg tct ttc cag ggg cgg gga gtc ttc 1392
Glu Asn Ala Lys Ser Glu Asp Val Ser Phe Gln Gly Arg Gly Val Phe

450 455 460
gag ctc tcg gac gaa aag gca acg aac ccg atc gtg cct tcc ttt gac 1440
Glu Leu Ser Asp Glu Lys Ala Thr Asn Pro Ile Val Pro Ser Phe Asp

465 470 475 480
atg agc aat gaa ggg tct tat ttc ttc gga gac aat gct gag gag ttt 1488

Met Ser Asn Glu Gly Ser Tyr Phe Phe Gly Asp Asn Ala Glu Glu Phe

485 490 495
gac agt taa 1497

Asp Ser

<210> 26

<211> 498

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 26

Met Ala Ser Gln Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Asp

1 5 10 15
Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met

20 25 30
Val Gly Gly Ile Gly Arg Phe Tyr Val Gln Met Cys Thr Glu Leu Lys

35 40 45

Leu Asn Asp His Glu Gly Arg Leu Ile Gln Asn Ser Ile Thr Ile Glu
 50 55 60
 Arg Met Val Leu Ser Ala Phe Asp Glu Arg Arg Asn Lys Tyr Leu Glu

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

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

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

 260 265 270
 Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Val Thr Ser Gly
 275 280 285
 Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe

290 295 300
 Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu
 305 310 315 320
 Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala

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

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

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

<210> 27

<211> 1410

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(1410)

<400> 27

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

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

1 5 10 15

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

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

20 25 30

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

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

35 40 45

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

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

50 55 60

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

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

65 70 75 80

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

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

85 90 95

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

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

100 105 110

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

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

115 120 125

acc ttt ttc ctc aca cag ggc tca tta ctc aat gac aaa cat tct aac 432

Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn

130 135 140

ggc aca gta aag gac cga agt ccg tat agg act ttg atg agt gtc aaa 480

Gly Thr Val Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys

145	150	155	160	
ata ggg caa tca cct aat gta tat caa gct agg ttt gaa tcg gtg gca				528
Ile Gly Gln Ser Pro Asn Val Tyr Gln Ala Arg Phe Glu Ser Val Ala				
	165	170	175	
tgg tca gca aca gca tgc cat gat gga aaa aaa tgg atg aca gtt gga				576
Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly				
	180	185	190	
gtc aca ggg ccc gac aat caa gca att gca gta gtg aac tat gga ggt				624
Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly				
	195	200	205	
gtt ccg gtt gat att att aat tca tgg gca ggg gat att tta aga acc				672
Val Pro Val Asp Ile Ile Asn Ser Trp Ala Gly Asp Ile Leu Arg Thr				
	210	215	220	
caa gaa tca tca tgc acc tgc att aaa gga gac tgt tat tgg gta atg				720
Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met				
225	230	235	240	
act gat gga ccg gca aat agg caa gct aaa tat agg ata ttc aaa gca				768
Thr Asp Gly Pro Ala Asn Arg Gln Ala Lys Tyr Arg Ile Phe Lys Ala				
	245	250	255	
aaa gat gga aga gta att gga cag act gat ata agt ttc aat ggg gga				816
Lys Asp Gly Arg Val Ile Gly Gln Thr Asp Ile Ser Phe Asn Gly Gly				
	260	265	270	
cac ata gag gag tgt tct tgt tac ccc aat gaa ggg aag gtg gaa tgc				864
His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Asn Glu Gly Lys Val Glu Cys				
	275	280	285	
ata tgc agg gac aat tgg act gga aca aat aga cca att ctg gta ata				912
Ile Cys Arg Asp Asn Trp Thr Gly Thr Asn Arg Pro Ile Leu Val Ile				
	290	295	300	

tct tct gat cta tcg tac aca gtt gga tat ttg tgt gct ggc att ccc	960
Ser Ser Asp Leu Ser Tyr Thr Val Gly Tyr Leu Cys Ala Gly Ile Pro	
305 310 315 320	
act gac act cct agg gga gag gat agt caa ttc aca ggc tca tgt aca	1008
Thr Asp Thr Pro Arg Gly Glu Asp Ser Gln Phe Thr Gly Ser Cys Thr	
325 330 335	
agt cct ttg gga aat aaa gga tac ggt gta aaa ggt ttc ggg ttt cga	1056
Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg	
340 345 350	
caa gga act gac gta tgg gcc gga agg aca att agt agg act tca aga	1104
Gln Gly Thr Asp Val Trp Ala Gly Arg Thr Ile Ser Arg Thr Ser Arg	
355 360 365	
tca gga ttc gaa ata ata aaa atc agg aat ggt tgg aca cag aac agt	1152
Ser Gly Phe Glu Ile Ile Lys Ile Arg Asn Gly Trp Thr Gln Asn Ser	
370 375 380	
aaa gac caa atc agg agg caa gtg att atc gat gac cca aat tgg tca	1200
Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser	
385 390 395 400	
gga tat agc ggt tct ttc aca ttg ccg gtt gaa cta aca aaa aag gga	1248
Gly Tyr Ser Gly Ser Phe Thr Leu Pro Val Glu Leu Thr Lys Lys Gly	
405 410 415	
tgt ttg gtc ccc tgt ttc tgg gtt gaa atg att aga ggt aaa cct gaa	1296
Cys Leu Val Pro Cys Phe Trp Val Glu Met Ile Arg Gly Lys Pro Glu	
420 425 430	
gaa aca aca ata tgg acc tct agc agc tcc att gtg atg tgt gga gta	1344
Glu Thr Thr Ile Trp Thr Ser Ser Ser Ser Ile Val Met Cys Gly Val	
435 440 445	
gat cat aaa att gcc agt tgg tca tgg cac gat gga gct att ctt ccc	1392
Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro	
450 455 460	
ttt gac atc gat aag atg	1410

Phe Asp Ile Asp Lys Met

465 470

<210> 28

<211> 470

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 28

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

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

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

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

Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly

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

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

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

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

435 440 445
Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro

450 455 460
Phe Asp Ile Asp Lys Met

465 470
<210> 29
<211> 982
<212> DNA
<213> Influenza virus
<220><221> CDS
<222> (1)..(756)
<400> 29

atg agt ctt cta acc gag gtc gaa acg tac gtt ctc tct atc gta cca 48
Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro
1 5 10 15
tca ggc ccc ctc aaa gcc gag atc gcg cag aga ctt gaa gat gtc ttt 96

Ser Gly Pro Leu Lys Ala Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe
20 25 30
gca ggg aag aac acc gat ctt gag gca ctc atg gaa tgg cta aag aca 144
Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr
35 40 45
aga cca atc ctg tca cct ctg act aaa ggg att tta gga ttt gta ttc 192
Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe

50 55 60
acg ctc acc gtg ccc agt gag cga gga ctg cag cgt aga cgc ttt gtc 240
Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val
65 70 75 80
caa aat gcc ctt agt gga aac gga gat cca aac aac atg gac aga gca 288
Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala
85 90 95
gta aaa ctg tac agg aag ctt aaa aga gaa ata aca ttc cat ggg gca 336

Val Lys Leu Tyr Arg Lys Leu Lys Arg Glu Ile Thr Phe His Gly Ala	
100	105
aaa gag gtg gca ctc agc tat tcc act ggt gca cta gcc agc tgc atg	384
Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met	
115	120
gga ctc ata tac aac aga atg gga act gtt aca acc gaa gtg gca ttt	432
Gly Leu Ile Tyr Asn Arg Met Gly Thr Val Thr Thr Glu Val Ala Phe	
130	135
ggc ctg gta tgc gcc aca tgt gaa cag att gct gat tcc cag cat cga	480
Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg	
145	150
tct cac agg cag atg gtg aca aca acc aac cca tta atc aga cat gaa	528
Ser His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu	
165	170
aac aga atg gta tta gcc agt acc acg gct aaa gcc atg gaa cag atg	576
Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met	
180	185
gca gga tgc agt gag cag gca gca gag gcc atg gag gtt gct agt agg	624
Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Arg	
195	200
gct agg cag atg gta cag gca atg aga acc att ggg acc cac cct agc	672
Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser	
210	215
tcc agt gcc ggt ttg aaa gat gat ctc ctt gaa aat tta cag gcc tac	720
Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr	
225	230
cag aaa cgg atg gga gtg caa atg cag cga ttc aag tgatcctctc	766
Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys	
245	250
gttattgcag caagtatcat tgggatcttg cacttgatat tgtggattct tgatcgtctt	826
ttcttcaaat tcatttatcg tcgccttaaa tacgggttga aaagagggcc ttctacggaa	886

ggagtacctg agtctatgag ggaagaatat cggcaggaac agcagaatgc tgtggatgtt 946

gacgatggtc attttgtcaa catagagctg gagtaa 982

<210> 30

<211> 252

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 30

Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr

35 40 45

Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe

50 55 60

Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val

65 70 75 80

Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala

85 90 95

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

100 105 110

Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met

115 120 125

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

130 135 140

Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg

145 150 155 160

Ser His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu

165 170 175

Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met

180 185 190

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

<210> 31

<211

> 1698

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(1698)

<400> 31

atg aag aca acc att att ttg ata cta ctg acc cat tgg gcc tac agt 48

Met Lys Thr Thr Ile Ile Leu Ile Leu Leu Thr His Trp Ala Tyr Ser

1 5 10 15

caa aac cca atc agt gac aac aac aca gcc aca ctg tgt ctg gga cac 96

Gln Asn Pro Ile Ser Asp Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His

20 25 30

cat gca gta gca aat gga aca ttg gta aaa aca ata agt gat gat caa 144

His Ala Val Ala Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Ile Ser Asp Asp Gln

35 40 45

att gag gtg aca aat gct aca gaa tta gtt cag agc att tca atg ggg 192

Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly

50 55 60

aaa ata tgc aac aaa tca tat aga att cta gat gga aga aat tgc aca 240

Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr

65 70 75 80

tta ata gat gca atg cta gga gac ccc cac tgt gac gcc ttt cag tat 288

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

85	90	95	
gag agt tgg gac ctc ttt ata gaa aga agc agc gct ttc agc aat tgc			336
Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Ser Ala Phe Ser Asn Cys			
100	105	110	
tac cca tat gac atc cct gac tat gca tgc ctc cga tcc att gta gca			384
Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Ile Val Ala			
115	120	125	
tcc tca gga aca ttg gaa ttc aca gca gag gga ttc aca tgg aca ggt			432
Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly			
130	135	140	
gtc act caa aac gga aga agt gga gcc tgc aaa agg gga tca gcc gat			480
Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp			
145	150	155	160
agt ttc ttt agc cga ctg aat tgg cta aca aaa tct gga agc tct tac			528
Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr			
165	170	175	
ccc aca ttg aat gtg aca atg cct aac aat aaa aat ttc gac aag cta			576
Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu			
180	185	190	
tac atc tgg ggg att cat cac ccg agc tca aat caa gag cag aca aaa			624
Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Ser Asn Gln Glu Gln Thr Lys			
195	200	205	
ttg tac atc caa gaa tca gga cga gta aca gtc tca aca aaa aga agt			672
Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser			
210	215	220	
caa caa aca ata atc cct aac atc gga tct aga ccg ttg gtc aga ggt			720
Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly			
225	230	235	240
caa tca ggc agg ata agc ata tac tgg acc att gta aaa cct gga gat			768
Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp			

245	250	255	
atc cta atg ata aac agt aat ggc aac tta gtt gca ccg cgg gga tat			816
Ile Leu Met Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Val Ala Pro Arg Gly Tyr			
260	265	270	
ttt aaa ttg aaa aca ggg aaa agc tct gta atg aga tca gat gta ccc			864
Phe Lys Leu Lys Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Val Pro			
275	280	285	
ata gac att tgt gtg tct gaa tgt att aca cca aat gga agc atc tcc			912
Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser			
290	295	300	
aac gac aag cca ttc caa aat gtg aac aaa gtt aca tat gga aaa tgc			960
Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys			
305	310	315	320
ccc aag tat atc agg caa aac act tta aag ctg gcc act ggg atg agg			1008
Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg			
325	330	335	
aat gta cca gaa aag caa acc aga gga atc ttt gga gca ata gcg gga			1056
Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly			
340	345	350	
ttc atc gaa aac ggc tgg gaa gga atg gtt gat ggg tgg tat ggg ttc			1104
Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe			
355	360	365	
cga tat caa aac tct gaa gga aca ggg caa gct gca gat cta aag agc			1152
Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser			
370	375	380	
act caa gca gcc atc gac cag att aat gga aag tta aac aga gtg att			1200
Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile			
385	390	395	400
gaa aga acc aat gag aaa ttc cat caa ata gag aag gaa ttc tca gaa			1248

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

565

<210> 32

<211> 565

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 32

Met Lys Thr Thr Ile Ile Leu Ile Leu Leu Thr His Trp Ala Tyr Ser

1 5 10 15

Gln Asn Pro Ile Ser Asp Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His

20

25

30

His Ala Val Ala Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Ile Ser Asp Asp Gln

35

40

45

Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly

50

55

60

Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr

65

70

75

80

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

85

90

95

Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Ser Ala Phe Ser Asn Cys

100

105

110

Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Ile Val Ala

115

120

125

Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly

130

135

140

Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp

145

150

155

160

Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr

165

170

175

Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu

180

185

190

Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Ser Asn Gln Glu Gln Thr Lys

195

200

205

Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser

210 215 220
Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly

225 230 235 240
Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp
245 250 255

Ile Leu Met Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Val Ala Pro Arg Gly Tyr
260 265 270

Phe Lys Leu Lys Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Val Pro

275 280 285
Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser

290 295 300

Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe

355 360 365

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

370 375 380

Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile

385 390 395 400

Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu

405 410 415

Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys

420 425 430

Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn

435 440 445

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

450 455 460
Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly

465 470 475 480
Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser Ile

485 490 495
Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Arg Asp Glu Ala Leu Asn

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

515 520 525
Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val

530 535 540
Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile Arg

545 550 555 560
Cys Asn Ile Cys Ile

565

<210> 33

<211> 549

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 33

Gln Asn Pro Ile Ser Gly Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His

1 5 10 15

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

20 25 30

Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly

35 40 45

Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Asn Ala Phe Ser Asn Cys

	85	90	95
Tyr	Pro	Tyr	Asp
Ile	Pro	Asp	Tyr
Ala	Ser	Leu	Arg
Ser	Ile	Val	Ala
	100	105	110
Ser	Ser	Gly	Thr
Leu	Glu	Phe	Thr
Ala	Glu	Gly	Phe
Thr	Trp	Thr	Gly
	115	120	125
Val	Thr	Gln	Asn
Gly	Arg	Ser	Gly
Ala	Cys	Lys	Arg
Gly	Ser	Ala	Asp
	130	135	140
Ser	Phe	Phe	Ser
Arg	Leu	Asn	Trp
Leu	Thr	Lys	Ser
Gly	Ser	Ser	Tyr
	145	150	155
Pro	Thr	Leu	Asn
Val	Thr	Met	Pro
Asn	Asn	Lys	Asn
Phe	Asp	Lys	Leu
	165	170	175
Tyr	Ile	Trp	Gly
Ile	His	His	Pro
Ser	Ser	Asn	Gln
Glu	Gln	Thr	Lys
	180	185	190
Leu	Tyr	Ile	Gln
Glu	Ser	Gly	Arg
Val	Thr	Val	Ser
Thr	Lys	Arg	Ser
	195	200	205
Gln	Gln	Thr	Ile
Ile	Pro	Asn	Ile
Gly	Ser	Arg	Pro
Leu	Val	Arg	Gly
	210	215	220
Gln	Ser	Gly	Arg
Ile	Ser	Ile	Tyr
Trp	Thr	Ile	Val
Lys	Pro	Gly	Asp
	225	230	235
Ile	Leu	Met	Ile
Asn	Ser	Asn	Gly
Asn	Leu	Val	Ala
Pro	Arg	Gly	Tyr
	245	250	255
Phe	Lys	Leu	Lys
Thr	Gly	Lys	Ser
Ser	Val	Met	Arg
Ser	Asp	Ala	Pro
	260	265	270
Ile	Asp	Ile	Cys
Val	Ser	Glu	Cys
Ile	Thr	Pro	Asn
Gly	Ser	Ile	Ser
	275	280	285
Asn	Asp	Lys	Pro
Phe	Gln	Asn	Val
Asn	Lys	Val	Thr
Tyr	Gly	Lys	Cys
	290	295	300
Pro	Lys	Tyr	Ile
Arg	Gln	Asn	Thr
Leu	Lys	Leu	Ala
Thr	Gly	Met	Arg
	305	310	315
Asn	Val	Pro	Glu
Lys	Gln	Thr	Arg
Gly	Ile	Phe	Gly
Ala	Ile	Ala	Gly
	325	330	335

Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe

340 345 350
Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser

355 360 365
Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile

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

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

405 410 415
Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn

420 425 430
Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu

435 440 445
Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly

450 455 460
Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser Ile

465 470 475 480
Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Arg Asp Glu Ala Leu Asn

485 490 495
Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp

500 505 510
Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val

515 520 525
Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Arg Gly Asn Ile Arg

530 535 540
Cys Asn Ile Cys Ile

545

<210> 34

<211> 549

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 34

Gln Asn Pro Ile Ser Asp Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His

1 5 10 15

His Ala Val Ala Asn Gly Thr Leu Val Lys Thr Ile Ser Asp Asp Gln

20 25 30

Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly

35 40 45

Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Ser Ala Phe Ser Asn Cys

85 90 95

Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Ser Leu Arg Ser Ile Val Ala

100 105 110

Ser Ser Gly Thr Leu Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly

115 120 125

Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp

130 135 140

Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr

145 150 155 160

Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu

165 170 175

Tyr Ile Trp Gly Ile His His Pro Ser Ser Asn Gln Glu Gln Thr Lys

180 185 190

Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser

195 200 205

Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly

210 215 220

Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp

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

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

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

 420 425 430
 Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu
 435 440 445
 Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly
 450 455 460
 Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Gly Ser Ile
 465 470 475 480

Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Arg Asp Glu Ala Leu Asn

485 490 495
 Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp
 500 505 510
 Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val
 515 520 525
 Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile Arg
 530 535 540
 Cys Asn Ile Cys Ile

545

<210

> 35

<211> 9

<212> DNA

<213> Influenza virus

<400> 35

gagagttgg

9

<210> 36

<211> 9

<212> DNA

<213> Influenza virus

<400> 36

ccgttggtc

9

<210> 37

<211> 9

<212> DNA

<213> Influenza virus

<400> 37

caaaccaga

9

<210> 38

<211> 9

<212> DNA

<213> Influenza virus

<400> 38	
agaactggg	9
<210> 39	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Influenza virus	
<400> 39	
tatgagagtt gggac	15
<210> 40	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Influenza virus	
<400> 40	
agaccgttgg tcaga	15
<210> 41	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Influenza virus	
<400> 41	
aagcaaacca gagga	15
<210> 42	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> Influenza virus	
<400> 42	
ataagaactg ggaca	15
<210> 43	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> Influenza virus	
<400> 43	
acaatgagt	9
<210> 44	

<211> 15
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 44
 aaaacaatga gtgat 15
 <210> 45
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 45

 gatgtaccc 9
 <210> 46
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 46
 tcagatgtac ccata 15
 <210> 47
 <211> 2280
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <220><221> CDS
 <222> (1)..(2280)
 <400> 47
 atg gag aga ata aaa gaa ctg aga gat ctg atg tta caa tcc cgc acc 48
 Met Glu Arg Ile Lys Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr
 1 5 10 15

 cgc gag ata cta aca aaa act act gtg gac cac atg gcc ata atc aag 96
 Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys
 20 25 30
 aaa tac aca tca gga aga caa gag aag aac cct gca ctt agg atg aaa 144
 Lys Tyr Thr Ser Gly Arg Gln Glu Lys Asn Pro Ala Leu Arg Met Lys
 35 40 45

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

195	200	205	
aga gag ttg gtc cga aaa aca agg ttc ctc cca gta gta ggc gga aca			672
Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Val Gly Gly Thr			
210	215	220	
agc agt gta tac att gaa gtg ttg cat ctg act cag gga aca tgc tgg			720
Ser Ser Val Tyr Ile Glu Val Leu His Leu Thr Gln Gly Thr Cys Trp			
225	230	235	240
gag caa atg tac acc cca gga gga aaa gtt aga aac gat gat att gat			768
Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Lys Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp			
245	250	255	
caa agt tta att att gca gcc cgg aac ata gtg aga aga gca aca gta			816
Gln Ser Leu Ile Ile Ala Ala Arg Asn Ile Val Arg Arg Ala Thr Val			
260	265	270	
tca gca gat cca cta gca tcc cta ctg gaa atg tgc cac agt aca cag			864
Ser Ala Asp Pro Leu Ala Ser Leu Leu Glu Met Cys His Ser Thr Gln			
275	280	285	
att ggt gga aca agg atg gta gac atc ctt aag cag aac cca aca gag			912
Ile Gly Gly Thr Arg Met Val Asp Ile Leu Lys Gln Asn Pro Thr Glu			
290	295	300	
gaa caa gct gtg gat ata tgc aaa gca gca atg gga ttg aga att agc			960
Glu Gln Ala Val Asp Ile Cys Lys Ala Ala Met Gly Leu Arg Ile Ser			
305	310	315	320
tca tca ttc agc ttt ggt gga ttc acc ttc aaa agg aca agt gga tca			1008
Ser Ser Phe Ser Phe Gly Gly Phe Thr Phe Lys Arg Thr Ser Gly Ser			
325	330	335	
tca gtc aag aga gaa gaa gaa atg ctt acg ggc aac ctt caa aca ttg			1056
Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu			
340	345	350	
aaa ata aga gtg cat gag ggc tat gaa gaa ttc aca atg gtc gga aga			1104
Lys Ile Arg Val His Glu Gly Tyr Glu Glu Phe Thr Met Val Gly Arg			
355	360	365	

aga gca aca gcc att atc aga aag gca acc aga aga ttg att caa ttg	1152
Arg Ala Thr Ala Ile Ile Arg Lys Ala Thr Arg Arg Leu Ile Gln Leu	
370 375 380	
ata gta agt ggg aga gat gaa caa tca att gct gaa gca ata att gta	1200
Ile Val Ser Gly Arg Asp Glu Gln Ser Ile Ala Glu Ala Ile Ile Val	
385 390 395 400	
gcc atg gtg ttt tgc caa gaa gat tgc atg ata aaa gca gtt cga ggc	1248
Ala Met Val Phe Ser Gln Glu Asp Cys Met Ile Lys Ala Val Arg Gly	
405 410 415	
gat ttg aac ttt gtt aat aga gca aat cag cgt ttg aac ccc atg cat	1296
Asp Leu Asn Phe Val Asn Arg Ala Asn Gln Arg Leu Asn Pro Met His	
420 425 430	
caa ctc ttg agg cat ttc caa aaa gat gca aaa gtg ctt ttc caa aat	1344
Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe Gln Asn	
435 440 445	
tgg gga att gaa ccc atc gac aat gta atg ggg atg att gga ata ttg	1392
Trp Gly Ile Glu Pro Ile Asp Asn Val Met Gly Met Ile Gly Ile Leu	
450 455 460	
cct gac atg acc cca agc acc gag atg tca ttg aga gga gtg aga gtc	1440
Pro Asp Met Thr Pro Ser Thr Glu Met Ser Leu Arg Gly Val Arg Val	
465 470 475 480	
agc aaa atg gga gtg gat gag tac tcc agc act gag aga gtg gtg gtg	1488
Ser Lys Met Gly Val Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Glu Arg Val Val Val	
485 490 495	
agc att gac cgt ttt tta aga gtt cgg gat caa agg gga aac ata cta	1536
Ser Ile Asp Arg Phe Leu Arg Val Arg Asp Gln Arg Gly Asn Ile Leu	
500 505 510	
ctg tcc cct gaa gaa gtc agt gaa aca caa gga acg gaa aag ctg aca	1584
Leu Ser Pro Glu Glu Val Ser Glu Thr Gln Gly Thr Glu Lys Leu Thr	
515 520 525	
ata att tat tgc tca tca atg atg tgg gag att aat ggt ccc gaa tca	1632

Ile Ile Tyr Ser Ser Ser Met Met Trp Glu Ile Asn Gly Pro Glu Ser

530 535 540
gtg ttg gtc aat act tat caa tgg atc atc aga aac tgg gaa att gta 1680
Val Leu Val Asn Thr Tyr Gln Trp Ile Ile Arg Asn Trp Glu Ile Val

545 550 555 560
aaa att cag tgg tca cag gac ccc aca atg tta tac aat aag ata gaa 1728
Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu
565 570 575

ttt gaa cca ttc caa tcc ctg gtc cct agg gcc acc aga agc caa tac 1776
Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr

580 585 590
agc ggt ttc gta aga acc ctg ttt cag caa atg cga gat gta ctt gga 1824
Ser Gly Phe Val Arg Thr Leu Phe Gln Gln Met Arg Asp Val Leu Gly

595 600 605
aca ttt gat act gct caa ata ata aaa ctc ctc cct ttt gcc gct gct 1872

Thr Phe Asp Thr Ala Gln Ile Ile Lys Leu Leu Pro Phe Ala Ala Ala

610 615 620
cct ccg gaa cag agt agg atg cag ttc tct tct ttg act gtt aat gta 1920
Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val

625 630 635 640
aga ggt tcg gga atg agg ata ctt gta aga ggc aat tcc cca gtg ttc 1968
Arg Gly Ser Gly Met Arg Ile Leu Val Arg Gly Asn Ser Pro Val Phe

645 650 655
aac tac aat aaa gtc act aaa agg ctc aca gtc ctc gga aag gat gca 2016
Asn Tyr Asn Lys Val Thr Lys Arg Leu Thr Val Leu Gly Lys Asp Ala

660 665 670
ggg gcg ctt act gag gac cca gat gaa ggt acg gct gga gta gag tct 2064
Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser

675 680 685

gct gtt cta aga ggg ttt ctc att tta ggt aaa gaa aac aag aga tat 2112
Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr
690 695 700
ggc cca gca cta agc atc aat gaa ctt agc aaa ctt gca aaa ggg gag 2160
Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu
705 710 715 720
aaa gcc aat gta cta att ggg caa ggg gac gta gtg ttg gta atg aaa 2208

Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Val Val Leu Val Met Lys
725 730 735
cgg aaa cgt gac tct agc ata ctt act gac agc cag aca gcg acc aaa 2256
Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys
740 745 750
agg att cgg atg gcc atc aat tag 2280
Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn

755
<210> 48
<211> 759
<212> PRT
<213> Influenza virus
<400> 48
Met Glu Arg Ile Lys Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr
1 5 10 15
Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys
20 25 30
Lys Tyr Thr Ser Gly Arg Gln Glu Lys Asn Pro Ala Leu Arg Met Lys
35 40 45

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu

340	345	350
Lys Ile Arg Val His Glu Gly Tyr	Glu Glu Phe Thr Met Val Gly Arg	
355	360	365
Arg Ala Thr Ala Ile Ile Arg Lys Ala Thr Arg Arg Leu Ile Gln Leu		
370	375	380
Ile Val Ser Gly Arg Asp Glu Gln Ser Ile Ala Glu Ala Ile Ile Val		
385	390	395
Ala Met Val Phe Ser Gln Glu Asp Cys Met Ile Lys Ala Val Arg Gly		
405	410	415
Asp Leu Asn Phe Val Asn Arg Ala Asn Gln Arg Leu Asn Pro Met His		
420	425	430
Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe Gln Asn		
435	440	445
Trp Gly Ile Glu Pro Ile Asp Asn Val Met Gly Met Ile Gly Ile Leu		
450	455	460
Pro Asp Met Thr Pro Ser Thr Glu Met Ser Leu Arg Gly Val Arg Val		
465	470	475
Ser Lys Met Gly Val Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Glu Arg Val Val Val		
485	490	495
Ser Ile Asp Arg Phe Leu Arg Val Arg Asp Gln Arg Gly Asn Ile Leu		
500	505	510
Leu Ser Pro Glu Glu Val Ser Glu Thr Gln Gly Thr Glu Lys Leu Thr		
515	520	525
Ile Ile Tyr Ser Ser Ser Met Met Trp Glu Ile Asn Gly Pro Glu Ser		
530	535	540
Val Leu Val Asn Thr Tyr Gln Trp Ile Ile Arg Asn Trp Glu Ile Val		
545	550	555
Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu		
565	570	575
Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr		
580	585	590

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn
755

<210> 49

<211> 2274

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(2274)

<400> 49

atg gat gtc aat ccg act cta ctt ttc tta aag gtc cca gcg caa aat 48

Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn

1 5 10 15

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

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

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

485	490	495	
tac cgg tat ggt ttt gta gcc aat ttc agc atg gaa cta ccc agt ttt	1536		
Tyr Arg Tyr Gly Phe Val Ala Asn Phe Ser Met Glu Leu Pro Ser Phe			
500	505	510	
ggg gtt tcc gga ata aat gaa tct gca gac atg agc att gga gtg aca	1584		
Gly Val Ser Gly Ile Asn Glu Ser Ala Asp Met Ser Ile Gly Val Thr			
515	520	525	
gtc atc aaa aac aac atg ata aat aat gat ctc ggt cct gcc acg gca	1632		
Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala			
530	535	540	
caa atg gca ctc caa ctc ttc att aag gat tat cgg tac aca tac cgg	1680		
Gln Met Ala Leu Gln Leu Phe Ile Lys Asp Tyr Arg Tyr Thr Tyr Arg			
545	550	555	560
tgc cat aga ggt gat acc cag ata caa acc aga aga tct ttt gag ttg	1728		
Cys His Arg Gly Asp Thr Gln Ile Gln Thr Arg Arg Ser Phe Glu Leu			
565	570	575	
aag aaa ctg tgg gaa cag act cga tca aag act ggt cta ctg gta tca	1776		
Lys Lys Leu Trp Glu Gln Thr Arg Ser Lys Thr Gly Leu Leu Val Ser			
580	585	590	
gat ggg ggt cca aac cta tat aac atc aga aac cta cac atc ccg gaa	1824		
Asp Gly Gly Pro Asn Leu Tyr Asn Ile Arg Asn Leu His Ile Pro Glu			
595	600	605	
gtc tgt tta aaa tgg gag cta atg gat gaa gat tat aag ggg agg cta	1872		
Val Cys Leu Lys Trp Glu Leu Met Asp Glu Asp Tyr Lys Gly Arg Leu			
610	615	620	
tgc aat cca ttg aat cct ttc gtt agt cac aaa gaa att gaa tca gtc	1920		
Cys Asn Pro Leu Asn Pro Phe Val Ser His Lys Glu Ile Glu Ser Val			
625	630	635	640
aac agt gca gta gta atg cct gct cat ggc cct gcc aaa agc atg gag	1968		
Asn Ser Ala Val Val Met Pro Ala His Gly Pro Ala Lys Ser Met Glu			
645	650	655	

tat gat gct gtt gca aca aca cat tct tgg atc ccc aag agg aac cgg 2016

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

tcc ata ttg aac aca agc caa agg gga ata cta gaa gat gag cag atg 2064

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

tat cag aaa tgc tgc aac ctg ttt gaa aaa ttc ttc ccc agc agc tca 2112

Tyr Gln Lys Cys Cys Asn Leu Phe Glu Lys Phe Phe Pro Ser Ser Ser

690 695 700

tac aga aga cca gtc gga att tct agt atg gtt gag gcc atg gta tcc 2160

Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser

705 710 715 720

agg gcc cgc att gat gca cga att gac ttc gaa tct gga cgg ata aag 2208

Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys

725 730 735

aag gat gag ttc gct gag atc atg aag atc tgt tcc acc att gaa gag 2256

Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu

740 745 750

ctc aga cgg caa aaa tag 2274

Leu Arg Arg Gln Lys

755

<210> 50

<211> 757

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 50

Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn

1 5 10 15

Ala Ile Ser Thr Thr Phe Pro Tyr Thr Gly Asp Pro Pro Tyr Ser His

20 25 30

Gly Thr Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Thr Val Asn Arg Thr His Gln

35	40	45
Tyr Ser Glu Lys Gly Lys Trp Thr Thr Asn Thr Glu Ile Gly Ala Pro		
50	55	60
Gln Leu Asn Pro Ile Asp Gly Pro Leu Pro Glu Asp Asn Glu Pro Ser		
65	70	75
Gly Tyr Ala Gln Thr Asp Cys Val Leu Glu Ala Met Ala Phe Leu Glu		
85	90	95
Glu Ser His Pro Gly Ile Phe Glu Asn Ser Cys Leu Glu Thr Met Glu		
100	105	110
Val Ile Gln Gln Thr Arg Val Asp Lys Leu Thr Gln Gly Arg Gln Thr		
115	120	125
Tyr Asp Trp Thr Leu Asn Arg Asn Gln Pro Ala Ala Thr Ala Leu Ala		
130	135	140
Asn Thr Ile Glu Val Phe Arg Ser Asn Gly Leu Thr Ser Asn Glu Ser		
145	150	155
Gly Arg Leu Met Asp Phe Leu Lys Asp Val Met Glu Ser Met Asn Lys		
165	170	175
Glu Glu Met Glu Ile Thr Thr His Phe Gln Arg Lys Arg Arg Val Arg		
180	185	190
Asp Asn Met Thr Lys Arg Met Ile Thr Gln Arg Thr Ile Gly Lys Lys		
195	200	205
Lys Gln Arg Leu Ser Arg Lys Ser Tyr Leu Ile Arg Thr Leu Thr Leu		
210	215	220
Asn Thr Met Thr Lys Asp Ala Glu Arg Gly Lys Leu Lys Arg Arg Ala		
225	230	235
Ile Ala Thr Pro Gly Met Gln Ile Arg Gly Phe Val Tyr Phe Val Glu		
245	250	255
Thr Leu Ala Arg Arg Ile Cys Glu Lys Leu Glu Gln Ser Gly Leu Pro		
260	265	270
Val Gly Gly Asn Glu Lys Lys Ala Lys Leu Ala Asn Val Val Arg Lys		
275	280	285

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala

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

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

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

 Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser
 705 710 715 720
 Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys
 725 730 735
 Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu
 740 745 750
 Leu Arg Arg Gln Lys
 755
 <210> 51
 <211> 2151
 <212> DNA

<213> Influenza virus

<220><

221> CDS

<222> (1)..(2151)

<400> 51

atg gaa gac ttt gtg cga cag tgc ttc aat cca atg atc gtc gag ctt 48

Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu

1 5 10 15

gcg gaa aag gca atg aaa gaa tat gga gag aac ccg aaa atc gaa aca 96

Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr

20 25 30

aac aaa ttt gca gca ata tgc act cac ttg gaa gtc tgc ttc atg tac 144

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

35 40 45

tcg gat ttc cac ttt ata aat gaa ctg ggt gag tca gtg gtc ata gag 192

Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu

50 55 60

tct ggt gac cca aat gct ctt ttg aaa cac aga ttt gaa atc att gag 240

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

65 70 75 80

ggg aga gat cga aca atg gca tgg aca gta gta aac agc atc tgc aac 288

Gly Arg Asp Arg Thr Met Ala Trp Thr Val Val Asn Ser Ile Cys Asn

85 90 95

acc aca aga gct gaa aaa cct aaa ttt ctt cca gat tta tac gac tat 336

Thr Thr Arg Ala Glu Lys Pro Lys Phe Leu Pro Asp Leu Tyr Asp Tyr

100 105 110

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

Lys Glu Asn Arg Phe Val Glu Ile Gly Val Thr Arg Arg Glu Val His

115 120 125

ata tac tac ctg gag aag gcc aac aaa ata aag tct gag aaa aca cat 432

Ile Tyr Tyr Leu Glu Lys Ala Asn Lys Ile Lys Ser Glu Lys Thr His

130 135 140

atc cac att ttc tca ttt aca gga gaa gaa atg gct aca aaa gcg gac 480

Ile His Ile Phe Ser Phe Thr Gly Glu Glu Met Ala Thr Lys Ala Asp
145 150 155 160

tat act ctt gat gaa gag agt aga gcc agg atc aag acc aga cta ttc 528

Tyr Thr Leu Asp Glu Glu Ser Arg Ala Arg Ile Lys Thr Arg Leu Phe
165 170 175

act ata aga caa gaa atg gcc agt aga ggc ctc tgg gat tcc ttt cgt 576

Thr Ile Arg Gln Glu Met Ala Ser Arg Gly Leu Trp Asp Ser Phe Arg

180 185 190

cag tcc gag aga ggc gaa gag aca att gaa gaa aga ttt gaa atc aca 624

Gln Ser Glu Arg Gly Glu Glu Thr Ile Glu Glu Arg Phe Glu Ile Thr

195 200 205

ggg acg atg cgc aag ctt gcc aat tac agt ctc cca ccg aac ttc tcc 672

Gly Thr Met Arg Lys Leu Ala Asn Tyr Ser Leu Pro Pro Asn Phe Ser

210 215 220

agc ctt gaa aat ttt aga gtc tat ata gat gga ttc gaa ccg aac ggc 720

Ser Leu Glu Asn Phe Arg Val Tyr Ile Asp Gly Phe Glu Pro Asn Gly

225 230 235 240

tgc att gag agt aag ctt tct caa atg tcc aaa gaa gta aat gcc aaa 768

Cys Ile Glu Ser Lys Leu Ser Gln Met Ser Lys Glu Val Asn Ala Lys

245 250 255

ata gaa cca ttt tca aag aca aca ccc cga cca ctc aaa atg cca ggt 816

Ile Glu Pro Phe Ser Lys Thr Thr Pro Arg Pro Leu Lys Met Pro Gly

260 265 270

ggt cca ccc tgc cat cag cga tcc aaa ttc ttg cta atg gat gct ctg 864

Gly Pro Pro Cys His Gln Arg Ser Lys Phe Leu Leu Met Asp Ala Leu

275 280 285

aaa ctg agc att gag gac cca agt cac gag gga gag ggg ata cca cta 912

Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu

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

atc aac act gct cta ctc aat gca tcc tgt gct gcg atg gat gaa ttt	1440
Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe	
465 470 475 480	
caa tta att ccg atg ata agt aaa tgc agg acc aaa gaa ggg aga agg	1488
Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg	
485 490 495	
aaa aca aat tta tat gga ttc ata ata aag gga agg tcc cat tta aga	1536
Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg	
500 505 510	
aat gat act gac gtg gtg aac ttt gta agt atg gaa ttt tct ctc act	1584
Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr	
515 520 525	
gat cca aga ttt gag cca cac aaa tgg gaa aaa tac tgc gtt cta gaa	1632
Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu	
530 535 540	
att gga gac atg ctt tta aga act gct gta ggt caa gtg tca aga ccc	1680
Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro	
545 550 555 560	
atg ttt ttg tat gta agg aca aat gga acc tct aaa att aaa atg aaa	1728
Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys	
565 570 575	
tgg gga atg gaa atg agg cgc tgc ctc ctt cag tct ctg caa cag att	1776
Trp Gly Met Glu Met Arg Arg Cys Leu Leu Gln Ser Leu Gln Gln Ile	
580 585 590	
gaa agc atg atc gaa gct gag tcc tca gtc aaa gaa aag gac atg acc	1824
Glu Ser Met Ile Glu Ala Glu Ser Ser Val Lys Glu Lys Asp Met Thr	
595 600 605	
aaa gaa ttt ttt gag aac aaa tca gag aca tgg cct ata gga gag tcc	1872
Lys Glu Phe Phe Glu Asn Lys Ser Glu Thr Trp Pro Ile Gly Glu Ser	
610 615 620	
ccc aaa gga gtg gaa gag ggc tca atc ggg aag gtt tgc agg acc tta	1920

Pro Lys Gly Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Lys Val Cys Arg Thr Leu

625 630 635 640
tta gca aaa tct gtg ttt aac agt tta tat gca tct cca caa ctg gaa 1968

Leu Ala Lys Ser Val Phe Asn Ser Leu Tyr Ala Ser Pro Gln Leu Glu

645 650 655
gga ttt tca gct gaa tct agg aaa tta ctt ctc att gtt cag gct ctt 2016

Gly Phe Ser Ala Glu Ser Arg Lys Leu Leu Leu Ile Val Gln Ala Leu

660 665 670
aga gat gac ctg gaa cct gga acc ttt gat att ggg ggg tta tat gaa 2064

Arg Asp Asp Leu Glu Pro Gly Thr Phe Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Glu

675 680 685
tca att gag gag tgc ctg att aat gat ccc tgg gtt ttg ctt aat gca 2112

Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala

690 695 700
tct tgg ttc aac tcc ttc ctc aca cat gca ctg aag tag 2151

Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys

705 710 715
<210> 52

<211> 716

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 52

Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu

1 5 10 15

Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu

50 55 60

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

65 70 75 80
 Gly Arg Asp Arg Thr Met Ala Trp Thr Val Val Asn Ser Ile Cys Asn
 85 90 95
 Thr Thr Arg Ala Glu Lys Pro Lys Phe Leu Pro Asp Leu Tyr Asp Tyr

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

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

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

 290 295 300
 Tyr Asp Ala Ile Lys Cys Met Lys Thr Phe Phe Gly Trp Lys Glu Pro
 305 310 315 320

Ser Ile Val Lys Pro His Lys Lys Gly Ile Asn Pro Asn Tyr Leu Gln
 325 330 335
 Thr Trp Lys Gln Val Leu Glu Glu Ile Gln Asp Leu Glu Asn Glu Glu
 340 345 350
 Arg Thr Pro Lys Thr Lys Asn Met Lys Lys Thr Ser Gln Leu Lys Trp
 355 360 365
 Ala Leu Gly Glu Asn Met Ala Pro Glu Lys Val Asp Phe Glu Asp Cys
 370 375 380
 Lys Asp Ile Asn Asp Leu Lys Gln Tyr Asp Ser Asp Glu Pro Glu Ala
 385 390 395 400
 Arg Ser Leu Ala Ser Trp Ile Gln Ser Glu Phe Asn Lys Ala Cys Glu
 405 410 415
 Leu Thr Asp Ser Ser Trp Ile Glu Leu Asp Glu Ile Gly Glu Asp Val
 420 425 430
 Ala Pro Ile Glu Tyr Ile Ala Ser Met Arg Arg Asn Tyr Phe Thr Ala
 435 440 445
 Glu Ile Ser His Cys Arg Ala Thr Glu Tyr Ile Met Lys Gly Val Tyr
 450 455 460
 Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe
 465 470 475 480
 Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg
 485 490 495
 Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg
 500 505 510
 Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr
 515 520 525
 Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu
 530 535 540
 Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro
 545 550 555 560
 Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys

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

610 615 620
 Pro Lys Gly Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Lys Val Cys Arg Thr Leu
 625 630 635 640
 Leu Ala Lys Ser Val Phe Asn Ser Leu Tyr Ala Ser Pro Gln Leu Glu
 645 650 655
 Gly Phe Ser Ala Glu Ser Arg Lys Leu Leu Leu Ile Val Gln Ala Leu
 660 665 670
 Arg Asp Asp Leu Glu Pro Gly Thr Phe Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Glu

675 680 685
 Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala
 690 695 700
 Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys
 705 710 715

<210> 53

<211> 844

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(690)

<400> 53

atg gat tcc aac act gtg tca agc ttt cag gta gac tgt ttt ctt tgg 48

Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp

1 5 10 15
 cat gtc cgt aaa cga ttc gca gac caa gaa ctg ggt gat gcc cca ttc 96
 His Val Arg Lys Arg Phe Ala Asp Gln Glu Leu Gly Asp Ala Pro Phe

20 25 30

ctt gac cgg ctt cgc cga gac cag aag tcc cta agg gga aga ggt agc	144
Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser	
35 40 45	
act ctt ggt ctg gac atc gaa aca gcc act cat gca gga aag cag ata	192
Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr His Ala Gly Lys Gln Ile	
50 55 60	
gtg gag cag att ctg gaa aag gaa tca gat gag gca ctt aaa atg acc	240
Val Glu Gln Ile Leu Glu Lys Glu Ser Asp Glu Ala Leu Lys Met Thr	
65 70 75 80	
att gcc tct gtt cct gct tca cgc tac tta act gac atg act ctt gat	288
Ile Ala Ser Val Pro Ala Ser Arg Tyr Leu Thr Asp Met Thr Leu Asp	
85 90 95	
gag atg tca aga gac tgg ttc atg ctc atg ccc aag caa aaa gta aca	336
Glu Met Ser Arg Asp Trp Phe Met Leu Met Pro Lys Gln Lys Val Thr	
100 105 110	
ggc tcc cta tgt ata aga atg gac cag gca atc atg gat aag aac atc	384
Gly Ser Leu Cys Ile Arg Met Asp Gln Ala Ile Met Asp Lys Asn Ile	
115 120 125	
ata ctt aaa gca aac ttt agt gtg att ttc gaa agg ctg gaa aca cta	432
Ile Leu Lys Ala Asn Phe Ser Val Ile Phe Glu Arg Leu Glu Thr Leu	
130 135 140	
ata cta ctt aga gcc ttc acc gaa gaa gga gca gtc gtt ggc gaa att	480
Ile Leu Leu Arg Ala Phe Thr Glu Glu Gly Ala Val Val Gly Glu Ile	
145 150 155 160	
tca cca tta cct tct ctt cca gga cat act aat gag gat gtc aaa aat	528
Ser Pro Leu Pro Ser Leu Pro Gly His Thr Asn Glu Asp Val Lys Asn	
165 170 175	
gca att ggg gtc ctc atc gga gga ctt aaa tgg aat gat aat acg gtt	576
Ala Ile Gly Val Leu Ile Gly Gly Leu Lys Trp Asn Asp Asn Thr Val	
180 185 190	

aga atc tct gaa act cta cag aga ttc gct tgg aga agc agt cat gaa 624

Arg Ile Ser Glu Thr Leu Gln Arg Phe Ala Trp Arg Ser Ser His Glu

195 200 205

aat ggg aga cct tca ttc cct tca aaa cag aaa cga aaa atg gag aga 672

Asn Gly Arg Pro Ser Phe Pro Ser Lys Gln Lys Arg Lys Met Glu Arg

210 215 220

aca att aag cca gaa att tgaagaaata agatggttga ttgaagaagt 720

Thr Ile Lys Pro Glu Ile

225 230

gcgacataga ttgaaaaata cagaaaatag ttttgaacaa ataacattta tgcaagcctt 780

acaactattg cttgaagtag aacaagagat aagaactttc tcgtttcagc ttatttaatg 840

ataa 844

<210> 54

<211> 230

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 54

Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp

1 5 10 15

His Val Arg Lys Arg Phe Ala Asp Gln Glu Leu Gly Asp Ala Pro Phe

20 25 30

Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser

35 40 45

Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr His Ala Gly Lys Gln Ile

50 55 60

Val Glu Gln Ile Leu Glu Lys Glu Ser Asp Glu Ala Leu Lys Met Thr

65 70 75 80

Ile Ala Ser Val Pro Ala Ser Arg Tyr Leu Thr Asp Met Thr Leu Asp

85 90 95

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

100 105 110

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

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

Ile Leu Leu Arg Ala Phe Thr Glu Glu Gly Ala Val Val Gly Glu Ile

145 150 155 160

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

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

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

Asn Gly Arg Pro Ser Phe Pro Ser Lys Gln Lys Arg Lys Met Glu Arg

210 215 220

Thr Ile Lys Pro Glu Ile

225 230

<210> 55

<211> 1497

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(1497)

<400> 55

atg gcg tct caa ggc acc aaa cga tcc tat gaa cag atg gaa act gat 48

Met Ala Ser Gln Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Asp

1 5 10 15

ggg gaa cgc cag aat gca act gaa atc aga gca tct gtc gga agg atg 96

Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met

20 25 30

gtg gga gga atc gga cgg ttt tat gtc cag atg tgt act gag ctt aaa 144

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

35 40 45

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

195	200	205	
ggt gaa aat ggt cga aga acc aga att gct tat gaa aga atg tgc aat			672
Gly Glu Asn Gly Arg Arg Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn			
210	215	220	
atc ctc aaa ggg aaa ttt cag aca gca gca caa cgg gct atg atg gac			720
Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp			
225	230	235	240
cag gtg agg gaa ggc cgc aat cct gga aac gct gag att gag gat ctc			768
Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu			
245	250	255	
att ttc ttg gca cga tca gca ctt att ttg aga gga tca gta gcc cat			816
Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His			
260	265	270	
aaa tca tgc cta cct gcc tgt gtt tat ggc ctt gca gta acc agt ggg			864
Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Val Thr Ser Gly			
275	280	285	
tat gac ttt gag aag gaa gga tac tct ctg gtt gga att gat cct ttc			912
Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe			
290	295	300	
aaa cta ctc cag aac agt caa att ttc agt cta atc aga cca aaa gaa			960
Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu			
305	310	315	320
aac cca gca cac aaa agc cag ttg gtg tgg atg gca tgc cat tct gca			1008
Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala			
325	330	335	
gca ttt gag gat ctg aga gtt tta aat ttc att aga gga acc aaa gta			1056
Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val			
340	345	350	
atc cca aga gga cag tta aca acc aga gga gtt caa att gct tca aat			1104

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

<210> 56

<211> 498

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 56

Met Ala Ser Gln Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Asp

1 5 10 15

Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met

20 25 30

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

35 40 45

Leu Asn Asp His Glu Gly Arg Leu Ile Gln Asn Ser Ile Thr Ile Glu

50 55 60

Arg Met Val Leu Ser Ala Phe Asp Glu Arg Arg Asn Lys Tyr Leu Glu

65 70 75 80

Glu His Pro Ser Ala Gly Lys Asp Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Ile

85 90 95

Tyr Arg Arg Lys Asp Gly Lys Trp Met Arg Glu Leu Ile Leu His Asp

100 105 110

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

115 120 125

Ala Thr Ala Gly Leu Thr His Met Met Ile Trp His Ser Asn Leu Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser

165 170 175

Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu

180 185 190

Leu Ile Arg Met Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg

195 200 205

Gly Glu Asn Gly Arg Arg Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn

210 215 220

Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp

225 230 235 240

 Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu
 245 250 255
 Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His
 260 265 270
 Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Val Thr Ser Gly
 275 280 285
 Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe
 290 295 300

 Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu
 305 310 315 320
 Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala
 325 330 335
 Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val
 340 345 350
 Ile Pro Arg Gly Gln Leu Thr Thr Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn
 355 360 365

 Glu Asn Met Glu Thr Ile Asn Ser Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Lys
 370 375 380
 Tyr Trp Ala Ile Arg Thr Arg Ser Gly Gly Asn Thr Ser Gln Gln Arg
 385 390 395 400
 Ala Ser Ala Gly Gln Ile Ser Val Gln Pro Thr Phe Ser Val Gln Arg
 405 410 415
 Asn Leu Pro Phe Glu Arg Ala Thr Ile Met Ala Ala Phe Thr Gly Asn
 420 425 430

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

Met Ser Asn Glu Gly Ser Tyr Phe Phe Gly Asp Asn Ala Glu Glu Phe
485 490 495

Asp Ser

<210> 57

<211> 1413

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(1413)

<400> 57

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

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

1 5 10 15

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

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

20 25 30

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

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

35 40 45

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

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

50 55 60

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

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

65 70 75 80

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

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

85 90 95

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

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

100	105	110	
ttt gtg ata aga gaa cct ttt gta tca tgt tcg ccc tca gaa tgt aga			384
Phe Val Ile Arg Glu Pro Phe Val Ser Cys Ser Pro Ser Glu Cys Arg			
115	120	125	
acc ttt ttc ctc aca cag ggc tca tta ctc aat gac aaa cat tct aac			432
Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn			
130	135	140	
ggc aca ata aag gat cga agt ccg tat agg act ttg atg agt gtc aaa			480
Gly Thr Ile Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys			
145	150	155	160
ata ggg caa tca cct aat gta tat caa gct agg ttt gaa tcg gtg gca			528
Ile Gly Gln Ser Pro Asn Val Tyr Gln Ala Arg Phe Glu Ser Val Ala			
165	170	175	
tgg tca gca aca gca tgc cat gat gga aaa aaa tgg atg aca gtt gga			576
Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly			
180	185	190	
gtc aca ggg ccc gac aat caa gca att gca gta gtg aac tat gga ggt			624
Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly			
195	200	205	
gtt ccg gtt gat att att aat tca tgg gca ggg gat att tta aga acc			672
Val Pro Val Asp Ile Ile Asn Ser Trp Ala Gly Asp Ile Leu Arg Thr			
210	215	220	
caa gaa tca tca tgc acc tgc att aaa gga gac tgt tat tgg gta atg			720
Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met			
225	230	235	240
act gat gga ccg gca aat agg caa gct aaa tat agg ata ttc aaa gca			768
Thr Asp Gly Pro Ala Asn Arg Gln Ala Lys Tyr Arg Ile Phe Lys Ala			
245	250	255	
aaa gat gga aga gta att gga caa act gat ata agt ttc aat ggg gga			816
Lys Asp Gly Arg Val Ile Gly Gln Thr Asp Ile Ser Phe Asn Gly Gly			
260	265	270	

cac ata gag gag tgt tct tgt tac ccc aat gaa ggg aag gtg gaa tgc	864
His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Asn Glu Gly Lys Val Glu Cys	
275 280 285	
ata tgc agg gac aat tgg act gga aca aat aga cca att ctg gta ata	912
Ile Cys Arg Asp Asn Trp Thr Gly Thr Asn Arg Pro Ile Leu Val Ile	
290 295 300	
tct tct gat cta tcg tac aca gtt gga tat ttg tgt gct ggc att ccc	960
Ser Ser Asp Leu Ser Tyr Thr Val Gly Tyr Leu Cys Ala Gly Ile Pro	
305 310 315 320	
act gac act cct agg gga gag gat agt caa ttc aca ggc tca tgt aca	1008
Thr Asp Thr Pro Arg Gly Glu Asp Ser Gln Phe Thr Gly Ser Cys Thr	
325 330 335	
agt cct ttg gga aat aaa gga tac ggt gta aaa ggc ttc ggg ttt cga	1056
Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg	
340 345 350	
caa gga act gac gta tgg gcc gga agg aca att agt agg act tca aga	1104
Gln Gly Thr Asp Val Trp Ala Gly Arg Thr Ile Ser Arg Thr Ser Arg	
355 360 365	
tca gga ttc gaa ata ata aaa atc agg aat ggt tgg aca cag aac agt	1152
Ser Gly Phe Glu Ile Ile Lys Ile Arg Asn Gly Trp Thr Gln Asn Ser	
370 375 380	
aag gac caa atc agg agg caa gtg att atc gat gac cca aat tgg tca	1200
Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser	
385 390 395 400	
gga tat agc ggt tct ttc aca ttg ccg gtt gaa ctg aca aaa aag gga	1248
Gly Tyr Ser Gly Ser Phe Thr Leu Pro Val Glu Leu Thr Lys Lys Gly	
405 410 415	
tgt ttg gtc ccc tgt ttc tgg gtt gaa atg att aga ggt aaa cct gaa	1296
Cys Leu Val Pro Cys Phe Trp Val Glu Met Ile Arg Gly Lys Pro Glu	
420 425 430	
gaa aca aca ata tgg acc tct agc agc tcc att gtg atg tgt gga gta	1344

Glu Thr Thr Ile Trp Thr Ser Ser Ser Ser Ile Val Met Cys Gly Val

435 440 445
gat cat aaa att gcc agt tgg tca tgg cac gat gga gct att ctt ccc 1392

Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro

450 455 460
ttt gac atc gat aag atg taa 1413

Phe Asp Ile Asp Lys Met

465 470

<210> 58

<211> 470

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 58

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn

130 135 140

Gly Thr Ile Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys
 145 150 155 160
 Ile Gly Gln Ser Pro Asn Val Tyr Gln Ala Arg Phe Glu Ser Val Ala
 165 170 175
 Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly
 180 185 190
 Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly
 195 200 205
 Val Pro Val Asp Ile Ile Asn Ser Trp Ala Gly Asp Ile Leu Arg Thr
 210 215 220
 Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met
 225 230 235 240
 Thr Asp Gly Pro Ala Asn Arg Gln Ala Lys Tyr Arg Ile Phe Lys Ala
 245 250 255
 Lys Asp Gly Arg Val Ile Gly Gln Thr Asp Ile Ser Phe Asn Gly Gly
 260 265 270
 His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Asn Glu Gly Lys Val Glu Cys
 275 280 285
 Ile Cys Arg Asp Asn Trp Thr Gly Thr Asn Arg Pro Ile Leu Val Ile
 290 295 300
 Ser Ser Asp Leu Ser Tyr Thr Val Gly Tyr Leu Cys Ala Gly Ile Pro
 305 310 315 320
 Thr Asp Thr Pro Arg Gly Glu Asp Ser Gln Phe Thr Gly Ser Cys Thr
 325 330 335
 Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg
 340 345 350
 Gln Gly Thr Asp Val Trp Ala Gly Arg Thr Ile Ser Arg Thr Ser Arg
 355 360 365
 Ser Gly Phe Glu Ile Ile Lys Ile Arg Asn Gly Trp Thr Gln Asn Ser
 370 375 380
 Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser

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

 435 440 445
 Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro
 450 455 460
 Phe Asp Ile Asp Lys Met
 465 470
 <210> 59
 <211> 981
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <220><221> CDS
 <222> (1)..(756)
 <400> 59
 atg agt ctt cta acc gag gtc gaa acg tac gtt ctc tct atc gta cca 48
 Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro

 1 5 10 15
 tca ggc ccc ctc aaa gcc gag atc gcg cag aga ctt gaa gat gtc ttt 96
 Ser Gly Pro Leu Lys Ala Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe
 20 25 30
 gcg gga aag aac acc gat ctt gag gca ctc atg gaa tgg cta aag aca 144
 Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr
 35 40 45

 aga cca atc ctg tca cct ctg act aaa ggg att tta gga ttt gta ttc 192
 Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe
 50 55 60
 acg ctc acc gtg ccc agt gag cga gga ctg cag cgt aga cgc ttt gtc 240
 Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val

65	70	75	80	
caa aat gcc ctt agt gga aac gga gat cca aac aac atg gac aga gca				288
Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala				
85	90	95		
gta aaa ctg tac agg aag ctt aaa aga gaa ata aca ttc cat ggg gca				336
Val Lys Leu Tyr Arg Lys Leu Lys Arg Glu Ile Thr Phe His Gly Ala				
100	105	110		
aaa gag gtg gca ctc agc tat tcc act ggt gca cta gcc agc tgc atg				384
Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met				
115	120	125		
gga ctc ata tac aac aga atg gga act gtt aca acc gaa gtg gca ttt				432
Gly Leu Ile Tyr Asn Arg Met Gly Thr Val Thr Thr Glu Val Ala Phe				
130	135	140		
ggc ctg gta tgc gcc aca tgt gaa cag att gct gat tcc cag cat cga				480
Gly Leu Val Cys Ala Thr Cys Glu Gln Ile Ala Asp Ser Gln His Arg				
145	150	155	160	
tct cac agg cag atg gtg aca aca acc aac cca tta atc aga cat gaa				528
Ser His Arg Gln Met Val Thr Thr Thr Asn Pro Leu Ile Arg His Glu				
165	170	175		
aac aga atg gta tta gcc agt acc acg gct aaa gcc atg gaa cag atg				576
Asn Arg Met Val Leu Ala Ser Thr Thr Ala Lys Ala Met Glu Gln Met				
180	185	190		
gca gga tgc agt gag cag gca gca gag gcc atg gag gtt gct agt agg				624
Ala Gly Ser Ser Glu Gln Ala Ala Glu Ala Met Glu Val Ala Ser Arg				
195	200	205		
gct agg cag atg gta cag gca atg aga acc att ggg acc cac cct agc				672
Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser				
210	215	220		
tcc agt gcc ggt ttg aaa gat gat ctc ctt gaa aat tta cag gcc tac				720

Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr

225 230 235 240
cag aaa cgg atg gga gtg caa atg cag cga ttc aag tgatcctctc 766

Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys

245 250
gtcattgcag caagtatcat tgggatcttg cacttgatat tgtggattct tgatcgtctt 826
ttcttcaaat tcatttatcg tcgccttaaa tacgggttga aaagagggcc ttctacggaa 886
ggagtacctg agtctatgag ggaagaatat cggcaggaac agcagaatgc tgtggatgtt 946

gacgatggtc attttgtcaa catagagctg gagta 981

<210> 60

<211> 252

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 60

Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr

35 40 45

Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe

50 55 60

Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val

65 70 75 80

Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala

85 90 95

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

100 105 110

Lys Glu Val Ala Leu Ser Tyr Ser Thr Gly Ala Leu Ala Ser Cys Met

115 120 125

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

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

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

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

<210> 61

<211> 1698

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(1698)

<400> 61

atg aag aca acc att att tta ata cta ctg acc cat tgg gcc tac agt 48

Met Lys Thr Thr Ile Ile Leu Ile Leu Leu Thr His Trp Ala Tyr Ser

1 5 10 15

caa aac cca atc agt ggc aat aac aca gcc aca ctg tgt ctg gga cac 96

Gln Asn Pro Ile Ser Gly Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His

20 25 30

cat gca gta gca aat gga aca ttg gta aaa aca atg agt gat gat caa 144

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

35 40 45

att gag gtg aca aat gct aca gaa tta gtt cag agc att tca atg ggg 192

Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly

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

ttg tac atc caa gaa tca gga cga gta aca gtc tca aca aaa aga agt	672
Leu Tyr Ile Gln Glu Ser Gly Arg Val Thr Val Ser Thr Lys Arg Ser	
210 215 220	
caa caa aca ata atc cct aac atc gga tct aga ccg ttg gtc aga ggt	720
Gln Gln Thr Ile Ile Pro Asn Ile Gly Ser Arg Pro Leu Val Arg Gly	
225 230 235 240	
caa tca ggc agg ata agc ata tac tgg acc att gta aaa cct gga gat	768
Gln Ser Gly Arg Ile Ser Ile Tyr Trp Thr Ile Val Lys Pro Gly Asp	
245 250 255	
atc cta atg ata aac agt aat ggc aac tta gtt gca ccg cgg gga tat	816
Ile Leu Met Ile Asn Ser Asn Gly Asn Leu Val Ala Pro Arg Gly Tyr	
260 265 270	
ttt aaa ttg aac aca ggg aaa agc tct gta atg aga tcc gat gta ccc	864
Phe Lys Leu Asn Thr Gly Lys Ser Ser Val Met Arg Ser Asp Val Pro	
275 280 285	
ata gac att tgt gtg tct gaa tgt att aca cca aat gga agc atc tcc	912
Ile Asp Ile Cys Val Ser Glu Cys Ile Thr Pro Asn Gly Ser Ile Ser	
290 295 300	
aac gac aag cca ttc caa aat gtg aac aaa gtt aca tat gga aaa tgc	960
Asn Asp Lys Pro Phe Gln Asn Val Asn Lys Val Thr Tyr Gly Lys Cys	
305 310 315 320	
ccc aag tat atc agg caa aac act tta aag ctg gcc act ggg atg agg	1008
Pro Lys Tyr Ile Arg Gln Asn Thr Leu Lys Leu Ala Thr Gly Met Arg	
325 330 335	
aat gta cca gaa aag caa acc aga gga atc ttt gga gca ata gcg gga	1056
Asn Val Pro Glu Lys Gln Thr Arg Gly Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly	
340 345 350	
ttc atc gaa aac ggc tgg gaa gga atg gtt gat ggg tgg tat ggg ttc	1104
Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe	
355 360 365	
cga tat caa aac tct gaa gga aca ggg caa gct gca gat cta aag agc	1152

Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser	
370 375 380	
act caa gca gcc atc gac cag att aat gga aag tta aac aga gtg att	1200
Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile	
385 390 395 400	
gaa aga acc aat gag aaa ttc cat caa ata gag aag gaa ttc tca gaa	1248
Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu	
405 410 415	
gta gaa gga aga att cag gac ttg gag aaa tat gta gaa gac acc aaa	1296
Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys	
420 425 430	
ata gac cta tgg tcc tac aat gca gaa ttg ctg gtg gct cta gaa aat	1344
Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn	
435 440 445	
caa cat aca att gac tta aca gat gca gaa atg aat aaa tta ttt gag	1392
Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu	
450 455 460	
aag act aga cgc cag tta aga gaa aac gca gaa gac atg gga ggt gga	1440
Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly	
465 470 475 480	
tgt ttc aag att tac cac aaa tgt gat aat gca tgc att gaa tca ata	1488
Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Glu Ser Ile	
485 490 495	
aga act ggg aca tat gac cat tac ata tac aaa gat gaa gca tta aac	1536
Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Lys Asp Glu Ala Leu Asn	
500 505 510	
aat cga ttt cag atc aaa ggt gta gag ttg aaa tca ggc tac aaa gat	1584
Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys Asp	
515 520 525	
tgg ata ctg tgg att tca ttc gcc ata tca tgc ttc tta att tgc gtt	1632
Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val	

[illegible]

145 150 155 160
 Ser Phe Phe Ser Arg Leu Asn Trp Leu Thr Lys Ser Gly Ser Ser Tyr
 165 170 175
 Pro Thr Leu Asn Val Thr Met Pro Asn Asn Lys Asn Phe Asp Lys Leu
 180 185 190

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile Arg
545 550 555 560

Cys Asn Ile Cys Ile
565

<210> 63

<211> 2280

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221

> CDS

<222> (1)..(2280)

<400> 63

atg gag aga ata aaa gaa ctg aga gat ctg atg tta caa tcc cgc acc 48

Met Glu Arg Ile Lys Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr

1 5 10 15

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

Leu Thr Ser Glu Ser Gln Leu Thr Ile Thr Lys Glu Lys Lys Glu Glu

180 185 190

ctt cag gac tgc aaa att gct ccc ttg atg gta gca tac atg cta gaa 624

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

195 200 205

aga gag ttg gtc cga aaa aca agg ttc ctc cca gta gta ggc gga aca 672

Arg Glu Leu Val Arg Lys Thr Arg Phe Leu Pro Val Val Gly Gly Thr

210 215 220

agc agt gta tac att gaa gtg ttg cat ctg act cag gga aca tgc tgg 720

Ser Ser Val Tyr Ile Glu Val Leu His Leu Thr Gln Gly Thr Cys Trp

225 230 235 240

gag caa atg tac acc cca gga gga aaa gtt aga aac gat gat att gat 768

Glu Gln Met Tyr Thr Pro Gly Gly Lys Val Arg Asn Asp Asp Ile Asp

245 250 255

caa agt tta att att gca gcc cgg aac ata gtg aga aga gca aca gta 816

Gln Ser Leu Ile Ile Ala Ala Arg Asn Ile Val Arg Arg Ala Thr Val

260 265 270

tca gca gat cca cta gca tcc cta ctg gaa atg tgc cac agt aca cag 864

Ser Ala Asp Pro Leu Ala Ser Leu Leu Glu Met Cys His Ser Thr Gln

275 280 285

att ggt gga aca agg atg gta gac atc ctt aag cag aac cca aca gag 912

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

290 295 300

gaa caa gct gtg gat ata tgc aaa gca gca atg gga ttg aga att agc 960

Glu Gln Ala Val Asp Ile Cys Lys Ala Ala Met Gly Leu Arg Ile Ser

305 310 315 320

tca tca ttc agc ttt ggt gga ttc acc ttc aaa agg aca agt gga tca 1008

Ser Ser Phe Ser Phe Gly Gly Phe Thr Phe Lys Arg Thr Ser Gly Ser

325 330 335

tca gtc aag aga gaa gaa gaa atg ctt acg ggc aac ctt caa aca ttg	1056
Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu	
340 345 350	
aaa ata aga gtg cat gag ggc tat gaa gaa ttc aca atg gtc gga aga	1104
Lys Ile Arg Val His Glu Gly Tyr Glu Glu Phe Thr Met Val Gly Arg	
355 360 365	
aga gca aca gcc att atc aga aag gca acc aga aga ttg att caa ttg	1152
Arg Ala Thr Ala Ile Ile Arg Lys Ala Thr Arg Arg Leu Ile Gln Leu	
370 375 380	
ata gta agt ggg aga gat gaa caa tca att gct gaa gca ata att gta	1200
Ile Val Ser Gly Arg Asp Glu Gln Ser Ile Ala Glu Ala Ile Ile Val	
385 390 395 400	
gcc atg gtg ttt tgc caa gaa gat tgc atg ata aaa gca gtt cga ggc	1248
Ala Met Val Phe Ser Gln Glu Asp Cys Met Ile Lys Ala Val Arg Gly	
405 410 415	
gat ttg aac ttt gtt aat aga gca aat cag cgt ttg aac ccc atg cat	1296
Asp Leu Asn Phe Val Asn Arg Ala Asn Gln Arg Leu Asn Pro Met His	
420 425 430	
caa ctc ttg agg cat ttc caa aaa gat gca aaa gtg ctt ttc caa aat	1344
Gln Leu Leu Arg His Phe Gln Lys Asp Ala Lys Val Leu Phe Gln Asn	
435 440 445	
tgg gga att gaa ccc atc gac aat gta atg ggg atg att gga ata ttg	1392
Trp Gly Ile Glu Pro Ile Asp Asn Val Met Gly Met Ile Gly Ile Leu	
450 455 460	
cct gac atg acc cca agc acc gag atg tca ttg aga gga gtg aga gtc	1440
Pro Asp Met Thr Pro Ser Thr Glu Met Ser Leu Arg Gly Val Arg Val	
465 470 475 480	
agc aaa atg gga gtg gat gag tac tcc agc act gag aga gtg gtg gtg	1488
Ser Lys Met Gly Val Asp Glu Tyr Ser Ser Thr Glu Arg Val Val Val	
485 490 495	
agc att gac cgt ttt tta aga gtt cgg gat caa agg gga aac ata cta	1536

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

660	665	670	
ggt gcg ctt act gag gac cca gat gaa ggt acg gct gga gta gag tct			2064
Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser			
675	680	685	
gct gtt cta aga ggg ttt ctc att tta ggt aaa gaa aac aag aga tat			2112
Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr			
690	695	700	
ggc cca gca cta agc atc aat gaa ctt agc aaa ctt gca aaa ggg gag			2160
Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu			
705	710	715	720
aaa gcc aat gta cta att ggg caa ggg gac gta gtg ttg gta atg aaa			2208
Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Val Val Leu Val Met Lys			
725	730	735	
cgg aaa cgt gac tct agc ata ctt act gac agc cag aca gcg acc aaa			2256
Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys			
740	745	750	
agg att cgg atg gcc atc aat tag			2280
Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn			
755			
<210> 64			
<211> 759			
<212> PRT			
<213> Influenza virus			
<400> 64			
Met Glu Arg Ile Lys Glu Leu Arg Asp Leu Met Leu Gln Ser Arg Thr			
1	5	10	15
Arg Glu Ile Leu Thr Lys Thr Thr Val Asp His Met Ala Ile Ile Lys			
20	25	30	
Lys Tyr Thr Ser Gly Arg Gln Glu Lys Asn Pro Ala Leu Arg Met Lys			
35	40	45	
Trp Met Met Ala Met Lys Tyr Pro Ile Thr Ala Asp Lys Arg Ile Met			

50 55 60
 Glu Met Ile Pro Glu Arg Asn Glu Gln Gly Gln Thr Leu Trp Ser Lys
 65 70 75 80
 Thr Asn Asp Ala Gly Ser Asp Arg Val Met Val Ser Pro Leu Ala Val

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

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

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

 275 280 285
 Ile Gly Gly Thr Arg Met Val Asp Ile Leu Lys Gln Asn Pro Thr Glu
 290 295 300

Glu Gln Ala Val Asp Ile Cys Lys Ala Ala Met Gly Leu Arg Ile Ser
 305 310 315 320
 Ser Ser Phe Ser Phe Gly Gly Phe Thr Phe Lys Arg Thr Ser Gly Ser
 325 330 335
 Ser Val Lys Arg Glu Glu Glu Met Leu Thr Gly Asn Leu Gln Thr Leu

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

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

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

 530 535 540
 Val Leu Val Asn Thr Tyr Gln Trp Ile Ile Arg Asn Trp Glu Ile Val

545 550 555 560
 Lys Ile Gln Trp Ser Gln Asp Pro Thr Met Leu Tyr Asn Lys Ile Glu
 565 570 575
 Phe Glu Pro Phe Gln Ser Leu Val Pro Arg Ala Thr Arg Ser Gln Tyr
 580 585 590
 Ser Gly Phe Val Arg Thr Leu Phe Gln Gln Met Arg Asp Val Leu Gly

 595 600 605
 Thr Phe Asp Thr Ala Gln Ile Ile Lys Leu Leu Pro Phe Ala Ala Ala
 610 615 620
 Pro Pro Glu Gln Ser Arg Met Gln Phe Ser Ser Leu Thr Val Asn Val
 625 630 635 640
 Arg Gly Ser Gly Met Arg Ile Leu Val Arg Gly Asn Ser Pro Val Phe
 645 650 655
 Asn Tyr Asn Lys Val Thr Lys Arg Leu Thr Val Leu Gly Lys Asp Ala

 660 665 670
 Gly Ala Leu Thr Glu Asp Pro Asp Glu Gly Thr Ala Gly Val Glu Ser
 675 680 685
 Ala Val Leu Arg Gly Phe Leu Ile Leu Gly Lys Glu Asn Lys Arg Tyr
 690 695 700
 Gly Pro Ala Leu Ser Ile Asn Glu Leu Ser Lys Leu Ala Lys Gly Glu
 705 710 715 720
 Lys Ala Asn Val Leu Ile Gly Gln Gly Asp Val Val Leu Val Met Lys

 725 730 735
 Arg Lys Arg Asp Ser Ser Ile Leu Thr Asp Ser Gln Thr Ala Thr Lys
 740 745 750
 Arg Ile Arg Met Ala Ile Asn
 755
 <210> 65
 <211> 2274
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <220><221> CDS

<222> (1)..(2274)

<400> 65

atg gat gtc aat ccg act cta ctt ttc tta aag gtg cca gcg caa aat 48

Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn

1 5 10 15

gct ata agc aca aca ttc cct tat act gga gat cct ccc tac agt cat 96

Ala Ile Ser Thr Thr Phe Pro Tyr Thr Gly Asp Pro Pro Tyr Ser His

20 25 30

gga aca ggg aca gga tac acc atg gat act gtc aac aga aca cac caa 144

Gly Thr Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Thr Val Asn Arg Thr His Gln

35 40 45

tat tca gaa aaa ggg aaa tgg aca aca aac act gag att gga gca cca 192

Tyr Ser Glu Lys Gly Lys Trp Thr Thr Asn Thr Glu Ile Gly Ala Pro

50 55 60

caa ctt aat cca atc gat gga cca ctt cct gaa gac aat gaa cca agt 240

Gln Leu Asn Pro Ile Asp Gly Pro Leu Pro Glu Asp Asn Glu Pro Ser

65 70 75 80

ggg tac gcc caa aca gat tgt gta ttg gaa gca atg gct ttc ctt gaa 288

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

85 90 95

gaa tcc cat ccc gga atc ttt gaa aat tcg tgt ctt gaa acg atg gag 336

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

100 105 110

gtg att cag cag aca aga gtg gac aaa cta aca caa ggc cga caa act 384

Val Ile Gln Gln Thr Arg Val Asp Lys Leu Thr Gln Gly Arg Gln Thr

115 120 125

tat gat tgg acc ttg aat agg aat caa cct gcc gca aca gca ctt gct 432

Tyr Asp Trp Thr Leu Asn Arg Asn Gln Pro Ala Ala Thr Ala Leu Ala

130 135 140

aat acg att gaa gta ttc aga tca aat ggt ctg acc tcc aat gaa tcg 480

Asn Thr Ile Glu Val Phe Arg Ser Asn Gly Leu Thr Ser Asn Glu Ser

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

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

465	470	475	480	
aag tcc tac ata aat aga act gga aca ttc gaa ttc aca agc ttt ttc				1488
Lys Ser Tyr Ile Asn Arg Thr Gly Thr Phe Glu Phe Thr Ser Phe Phe				
	485	490	495	
tac cgg tat ggt ttt gta gcc aat ttc agc atg gaa cta ccc agt ttt				1536
Tyr Arg Tyr Gly Phe Val Ala Asn Phe Ser Met Glu Leu Pro Ser Phe				
	500	505	510	
ggg gtt tcc gga ata aat gaa tct gca gac atg agc att gga gtg aca				1584
Gly Val Ser Gly Ile Asn Glu Ser Ala Asp Met Ser Ile Gly Val Thr				
	515	520	525	
gtc atc aaa aac aac atg ata aat aat gat ctc ggt cct gcc acg gca				1632
Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala				
	530	535	540	
caa atg gca ctc caa ctc ttc att aag gat tat cgg tac aca tac cgg				1680
Gln Met Ala Leu Gln Leu Phe Ile Lys Asp Tyr Arg Tyr Thr Tyr Arg				
545	550	555	560	
tgc cat aga ggt gat acc cag ata caa acc aga aga tct ttt gag ttg				1728
Cys His Arg Gly Asp Thr Gln Ile Gln Thr Arg Arg Ser Phe Glu Leu				
	565	570	575	
aag aaa ctg tgg gaa cag act cga tca aag act ggt cta ctg gta tca				1776
Lys Lys Leu Trp Glu Gln Thr Arg Ser Lys Thr Gly Leu Leu Val Ser				
	580	585	590	
gat ggg ggt cca aac cta tat aac atc aga aac cta cac atc ccg gaa				1824
Asp Gly Gly Pro Asn Leu Tyr Asn Ile Arg Asn Leu His Ile Pro Glu				
	595	600	605	
gtc tgt tta aaa tgg gag cta atg gat gaa gat tat aag ggg agg cta				1872
Val Cys Leu Lys Trp Glu Leu Met Asp Glu Asp Tyr Lys Gly Arg Leu				
	610	615	620	
tgc aat cca ttg aat cct ttc gtt agt cac aaa gaa att gaa tca gtc				1920
Cys Asn Pro Leu Asn Pro Phe Val Ser His Lys Glu Ile Glu Ser Val				
625	630	635	640	

aac agt gca gta gta atg cct gct cat ggc cct gcc aaa agc atg gag 1968

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

tat gat gct gtt gca aca aca cat tct tgg atc ccc aag agg aac cgg 2016

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

tcc ata ttg aac aca agc caa agg gga ata cta gaa gat gag cag atg 2064

Ser Ile Leu Asn Thr Ser Gln Arg Gly Ile Leu Glu Asp Glu Gln Met

675 680 685

tat cag aaa tgc tgc aac ctg ttt gaa aaa ttc ttc ccc agc agc tca 2112

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

tac aga aga cca gtc gga att tct agt atg gtt gag gcc atg gta tcc 2160

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

agg gcc cgc att gat gca cga att gac ttc gaa tct gga cgg ata aag 2208

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

aag gat gag ttc gct gag atc atg aag atc tgt tcc acc att gaa gag 2256

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

ctc aga cgg caa aaa tag 2274

Leu Arg Arg Gln Lys

755

<210> 66

<211> 757

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 66

Met Asp Val Asn Pro Thr Leu Leu Phe Leu Lys Val Pro Ala Gln Asn

1 5 10 15

Ala Ile Ser Thr Thr Phe Pro Tyr Thr Gly Asp Pro Pro Tyr Ser His
20 25 30
Gly Thr Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Thr Val Asn Arg Thr His Gln
35 40 45
Tyr Ser Glu Lys Gly Lys Trp Thr Thr Asn Thr Glu Ile Gly Ala Pro
50 55 60
Gln Leu Asn Pro Ile Asp Gly Pro Leu Pro Glu Asp Asn Glu Pro Ser
65 70 75 80
Gly Tyr Ala Gln Thr Asp Cys Val Leu Glu Ala Met Ala Phe Leu Glu
85 90 95
Glu Ser His Pro Gly Ile Phe Glu Asn Ser Cys Leu Glu Thr Met Glu
100 105 110
Val Ile Gln Gln Thr Arg Val Asp Lys Leu Thr Gln Gly Arg Gln Thr
115 120 125
Tyr Asp Trp Thr Leu Asn Arg Asn Gln Pro Ala Ala Thr Ala Leu Ala
130 135 140
Asn Thr Ile Glu Val Phe Arg Ser Asn Gly Leu Thr Ser Asn Glu Ser
145 150 155 160
Gly Arg Leu Met Asp Phe Leu Lys Asp Val Met Glu Ser Met Asn Lys
165 170 175
Glu Glu Met Glu Ile Thr Thr His Phe Gln Arg Lys Arg Arg Val Arg
180 185 190
Asp Asn Met Thr Lys Arg Met Ile Thr Gln Arg Thr Ile Gly Lys Lys
195 200 205
Lys Gln Arg Leu Ser Arg Lys Ser Tyr Leu Ile Arg Thr Leu Thr Leu
210 215 220
Asn Thr Met Thr Lys Asp Ala Glu Arg Gly Lys Leu Lys Arg Arg Ala
225 230 235 240
Ile Ala Thr Pro Gly Met Gln Ile Arg Gly Phe Val Tyr Phe Val Glu
245 250 255
Thr Leu Ala Arg Arg Ile Cys Glu Lys Leu Glu Gln Ser Gly Leu Pro

260 265 270
 Val Gly Gly Asn Glu Lys Lys Ala Lys Leu Ala Asn Val Val Arg Lys
 275 280 285
 Met Met Thr Asn Ser Gln Asp Thr Glu Leu Ser Phe Thr Ile Thr Gly

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

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

 420 425 430
 Lys Thr Thr Tyr Trp Trp Asp Gly Leu Gln Ser Ser Asp Asp Phe Ala
 435 440 445
 Leu Ile Val Asn Ala Pro Asn His Glu Gly Ile Gln Ala Gly Val Asp
 450 455 460
 Arg Phe Tyr Arg Thr Cys Lys Leu Val Gly Ile Asn Met Ser Lys Lys
 465 470 475 480
 Lys Ser Tyr Ile Asn Arg Thr Gly Thr Phe Glu Phe Thr Ser Phe Phe

 485 490 495
 Tyr Arg Tyr Gly Phe Val Ala Asn Phe Ser Met Glu Leu Pro Ser Phe
 500 505 510

Gly Val Ser Gly Ile Asn Glu Ser Ala Asp Met Ser Ile Gly Val Thr
 515 520 525
 Val Ile Lys Asn Asn Met Ile Asn Asn Asp Leu Gly Pro Ala Thr Ala
 530 535 540
 Gln Met Ala Leu Gln Leu Phe Ile Lys Asp Tyr Arg Tyr Thr Tyr Arg

 545 550 555 560
 Cys His Arg Gly Asp Thr Gln Ile Gln Thr Arg Arg Ser Phe Glu Leu
 565 570 575
 Lys Lys Leu Trp Glu Gln Thr Arg Ser Lys Thr Gly Leu Leu Val Ser
 580 585 590
 Asp Gly Gly Pro Asn Leu Tyr Asn Ile Arg Asn Leu His Ile Pro Glu
 595 600 605
 Val Cys Leu Lys Trp Glu Leu Met Asp Glu Asp Tyr Lys Gly Arg Leu

 610 615 620
 Cys Asn Pro Leu Asn Pro Phe Val Ser His Lys Glu Ile Glu Ser Val
 625 630 635 640
 Asn Ser Ala Val Val Met Pro Ala His Gly Pro Ala Lys Ser Met Glu
 645 650 655
 Tyr Asp Ala Val Ala Thr Thr His Ser Trp Ile Pro Lys Arg Asn Arg
 660 665 670
 Ser Ile Leu Asn Thr Ser Gln Arg Gly Ile Leu Glu Asp Glu Gln Met

 675 680 685
 Tyr Gln Lys Cys Cys Asn Leu Phe Glu Lys Phe Phe Pro Ser Ser Ser
 690 695 700
 Tyr Arg Arg Pro Val Gly Ile Ser Ser Met Val Glu Ala Met Val Ser
 705 710 715 720
 Arg Ala Arg Ile Asp Ala Arg Ile Asp Phe Glu Ser Gly Arg Ile Lys
 725 730 735
 Lys Asp Glu Phe Ala Glu Ile Met Lys Ile Cys Ser Thr Ile Glu Glu

 740 745 750
 Leu Arg Arg Gln Lys

755

<210> 67

<211> 2151

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(2151)

<400> 67

atg gaa gac ttt gtg cga cag tgc ttc aat cca atg atc gtc gag ctt 48

Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu

1 5 10 15

gcg gaa aag gca atg aaa gaa tat gga gag aac ccg aaa atc gaa aca 96

Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr

20 25 30

aac aaa ttt gca gca ata tgc act cac ttg gaa gtc tgc ttc atg tac 144

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

35 40 45

tcg gat ttc cac ttt ata aat gaa ctg ggt gag tca gtg gtc ata gag 192

Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu

50 55 60

tct ggt gac cca aat gct ctt ttg aaa cac aga ttt gaa atc att gag 240

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

65 70 75 80

ggg aga gat cga aca atg gca tgg aca gta gta aac agc atc tgc aac 288

Gly Arg Asp Arg Thr Met Ala Trp Thr Val Val Asn Ser Ile Cys Asn

85 90 95

acc aca aga gct gaa aaa cct aaa ttt ctt cca gat tta tac gac tat 336

Thr Thr Arg Ala Glu Lys Pro Lys Phe Leu Pro Asp Leu Tyr Asp Tyr

100 105 110

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

Lys Glu Asn Arg Phe Val Glu Ile Gly Val Thr Arg Arg Glu Val His

115 120 125

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

275	280	285	
aaa ctg agc att gag gac cca agt cac gag gga gag ggg ata cca cta			912
Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu			
290	295	300	
tat gat gca atc aaa tgc atg aaa act ttc ttt gga tgg aaa gag ccc			960
Tyr Asp Ala Ile Lys Cys Met Lys Thr Phe Phe Gly Trp Lys Glu Pro			
305	310	315	320
agt att gtt aaa cca cat aaa aag ggt ata aac ccg aac tat ctc caa			1008
Ser Ile Val Lys Pro His Lys Lys Gly Ile Asn Pro Asn Tyr Leu Gln			
325	330	335	
act tgg aag caa gta tta gaa gaa ata caa gac ctt gag aac gaa gaa			1056
Thr Trp Lys Gln Val Leu Glu Glu Ile Gln Asp Leu Glu Asn Glu Glu			
340	345	350	
agg acc ccc aag acc aag aat atg aaa aaa aca agc caa ttg aaa tgg			1104
Arg Thr Pro Lys Thr Lys Asn Met Lys Lys Thr Ser Gln Leu Lys Trp			
355	360	365	
gca cta ggt gaa aat atg gca cca gag aaa gtg gat ttt gag gat tgt			1152
Ala Leu Gly Glu Asn Met Ala Pro Glu Lys Val Asp Phe Glu Asp Cys			
370	375	380	
aaa gac atc aat gat tta aaa caa tat gac agt gat gag cca gaa gca			1200
Lys Asp Ile Asn Asp Leu Lys Gln Tyr Asp Ser Asp Glu Pro Glu Ala			
385	390	395	400
agg tct ctt gca agt tgg att caa agt gag ttc aac aag gct tgt gag			1248
Arg Ser Leu Ala Ser Trp Ile Gln Ser Glu Phe Asn Lys Ala Cys Glu			
405	410	415	
ctg aca gat tca agc tgg ata gag ctc gat gaa att ggg gag gat gtc			1296
Leu Thr Asp Ser Ser Trp Ile Glu Leu Asp Glu Ile Gly Glu Asp Val			
420	425	430	
gcc cca ata gaa tac att gcg agc atg agg aga aat tat ttt act gct			1344
Ala Pro Ile Glu Tyr Ile Ala Ser Met Arg Arg Asn Tyr Phe Thr Ala			
435	440	445	

gag att tcc cat tgt aga gca aca gaa tat ata atg aaa gga gtg tac	1392
Glu Ile Ser His Cys Arg Ala Thr Glu Tyr Ile Met Lys Gly Val Tyr	
450 455 460	
atc aac act gct cta ctc aat gca tcc tgt gct gcg atg gat gaa ttt	1440
Ile Asn Thr Ala Leu Leu Asn Ala Ser Cys Ala Ala Met Asp Glu Phe	
465 470 475 480	
caa tta att ccg atg ata agt aaa tgc agg acc aaa gaa ggg aga agg	1488
Gln Leu Ile Pro Met Ile Ser Lys Cys Arg Thr Lys Glu Gly Arg Arg	
485 490 495	
aaa aca aat tta tat gga ttc ata ata aag gga agg tcc cat tta aga	1536
Lys Thr Asn Leu Tyr Gly Phe Ile Ile Lys Gly Arg Ser His Leu Arg	
500 505 510	
aat gat act gac gtg gtg aac ttt gta agt atg gaa ttt tct ctc act	1584
Asn Asp Thr Asp Val Val Asn Phe Val Ser Met Glu Phe Ser Leu Thr	
515 520 525	
gat cca aga ttt gag cca cac aaa tgg gaa aaa tac tgc gtt cta gaa	1632
Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu	
530 535 540	
att gga gac atg ctt tta aga act gct gta ggt caa gtg tca aga ccc	1680
Ile Gly Asp Met Leu Leu Arg Thr Ala Val Gly Gln Val Ser Arg Pro	
545 550 555 560	
atg ttt ttg tat gta agg aca aat gga acc tct aaa att aaa atg aaa	1728
Met Phe Leu Tyr Val Arg Thr Asn Gly Thr Ser Lys Ile Lys Met Lys	
565 570 575	
tgg gga atg gaa atg agg cgc tgc ctc ctt cag tct ctg caa cag att	1776
Trp Gly Met Glu Met Arg Arg Cys Leu Leu Gln Ser Leu Gln Gln Ile	
580 585 590	
gaa agc atg atc gaa gct gag tcc tca gtc aaa gaa aag gac atg acc	1824
Glu Ser Met Ile Glu Ala Glu Ser Ser Val Lys Glu Lys Asp Met Thr	
595 600 605	
aaa gaa ttt ttt gag aac aaa tca gag aca tgg cct ata gga gag tcc	1872

Lys Glu Phe Phe Glu Asn Lys Ser Glu Thr Trp Pro Ile Gly Glu Ser

610 615 620
ccc aaa gga gtg gaa gag ggc tca atc ggg aag gtt tgc agg acc tta 1920

Pro Lys Gly Val Glu Glu Gly Ser Ile Gly Lys Val Cys Arg Thr Leu

625 630 635 640
tta gca aaa tct gtg ttt aac agt tta tat gca tct cca caa ctg gaa 1968

Leu Ala Lys Ser Val Phe Asn Ser Leu Tyr Ala Ser Pro Gln Leu Glu

645 650 655

gga ttt tca gct gaa tct agg aaa tta ctt ctc att gtt cag gct ctt 2016

Gly Phe Ser Ala Glu Ser Arg Lys Leu Leu Leu Ile Val Gln Ala Leu

660 665 670

aga gat gac ctg gaa cct gga acc ttt gat att ggg ggg tta tat gaa 2064

Arg Asp Asp Leu Glu Pro Gly Thr Phe Asp Ile Gly Gly Leu Tyr Glu

675 680 685

tca att gag gag tgc ctg att aat gat ccc tgg gtt ttg ctt aat gca 2112

Ser Ile Glu Glu Cys Leu Ile Asn Asp Pro Trp Val Leu Leu Asn Ala

690 695 700

tct tgg ttc aac tcc ttc ctc aca cat gca ctg aag tag 2151

Ser Trp Phe Asn Ser Phe Leu Thr His Ala Leu Lys

705 710 715

<210> 68

<211> 716

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 68

Met Glu Asp Phe Val Arg Gln Cys Phe Asn Pro Met Ile Val Glu Leu

1 5 10 15

Ala Glu Lys Ala Met Lys Glu Tyr Gly Glu Asn Pro Lys Ile Glu Thr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Asp Phe His Phe Ile Asn Glu Leu Gly Glu Ser Val Val Ile Glu
 50 55 60
 Ser Gly Asp Pro Asn Ala Leu Leu Lys His Arg Phe Glu Ile Ile Glu

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

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

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

 260 265 270
 Gly Pro Pro Cys His Gln Arg Ser Lys Phe Leu Leu Met Asp Ala Leu
 275 280 285
 Lys Leu Ser Ile Glu Asp Pro Ser His Glu Gly Glu Gly Ile Pro Leu

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

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

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

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

 515 520 525
 Asp Pro Arg Phe Glu Pro His Lys Trp Glu Lys Tyr Cys Val Leu Glu
 530 535 540

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

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

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

705 710 715

<210> 69

<211> 844

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(690)

<400> 69

atg gat tcc aac act gtg tca agc ttt cag gta gac tgt ttt ctt tgg 48

Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp

1 5 10 15

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

165	170	175	
gca att ggg gtc ctc atc gga gga ctt aaa tgg aat gat aat acg gtt			576
Ala Ile Gly Val Leu Ile Gly Gly Leu Lys Trp Asn Asp Asn Thr Val			
180	185	190	
aga atc tct gaa act cta cag aga ttc gct tgg aga agc agt cat gaa			624
Arg Ile Ser Glu Thr Leu Gln Arg Phe Ala Trp Arg Ser Ser His Glu			
195	200	205	
aat ggg aga cct tca ttc cct tca aaa cag aaa cga aaa atg gag aga			672
Asn Gly Arg Pro Ser Phe Pro Ser Lys Gln Lys Arg Lys Met Glu Arg			
210	215	220	
aca att aag cca gaa att tgaagaaata agatggttga ttgaagaagt			720
Thr Ile Lys Pro Glu Ile			
225	230		
gcgacataga ttgaaaaata cagaaaatag ttttgaacaa ataacattta tgcaagcctt			780
acaactattg cttgaagtag aacaagagat aagaactttc tcgtttcagc ttattttaatg			840
ataa			844
<210> 70			
<211> 230			
<212> PRT			
<213> Influenza virus			
<400> 70			
Met Asp Ser Asn Thr Val Ser Ser Phe Gln Val Asp Cys Phe Leu Trp			
1	5	10	15
His Val Arg Lys Arg Phe Ala Asp Gln Glu Leu Gly Asp Ala Pro Phe			
20	25	30	
Leu Asp Arg Leu Arg Arg Asp Gln Lys Ser Leu Arg Gly Arg Gly Ser			
35	40	45	
Thr Leu Gly Leu Asp Ile Glu Thr Ala Thr His Ala Gly Lys Gln Ile			
50	55	60	
Val Glu Gln Ile Leu Glu Lys Glu Ser Asp Glu Ala Leu Lys Met Thr			
65	70	75	80

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Gly Arg Pro Ser Phe Pro Ser Lys Gln Lys Arg Lys Met Glu Arg
210 215 220

Thr Ile Lys Pro Glu Ile
225 230

<210> 71

<211> 1497

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(1497)

<400> 71

atg gcg tct caa ggc acc aaa cga tcc tat gaa cag atg gaa act gat 48

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

ggg gaa cgc cag aat gca act gaa atc aga gca tct gtc gga agg atg 96

Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met

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

Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu

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

gca ttt gag gat ctg aga gtt tta aat ttc att aga gga acc aaa gta	1056
Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val	
340 345 350	
atc cca aga gga cag tta aca acc aga gga gtt caa att gct tca aat	1104
Ile Pro Arg Gly Gln Leu Thr Thr Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn	
355 360 365	
gaa aac atg gag aca ata aat tct agc aca ctt gaa ctg aga agc aaa	1152
Glu Asn Met Glu Thr Ile Asn Ser Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Lys	
370 375 380	
tat tgg gca ata agg acc aga agc gga gga aac acc agt caa cag aga	1200
Tyr Trp Ala Ile Arg Thr Arg Ser Gly Gly Asn Thr Ser Gln Gln Arg	
385 390 395 400	
gca tct gca gga cag ata agt gtg caa cct act ttc tca gta cag aga	1248
Ala Ser Ala Gly Gln Ile Ser Val Gln Pro Thr Phe Ser Val Gln Arg	
405 410 415	
aat ctt ccc ttt gag aga gca acc att atg gct gca ttc act ggt aac	1296
Asn Leu Pro Phe Glu Arg Ala Thr Ile Met Ala Ala Phe Thr Gly Asn	
420 425 430	
act gaa gga agg act tcc gac atg aga acg gaa atc ata agg atg atg	1344
Thr Glu Gly Arg Thr Ser Asp Met Arg Thr Glu Ile Ile Arg Met Met	
435 440 445	
gaa aat gcc aaa tca gaa gat gtg tct ttc cag ggg cgg gga gtc ttc	1392
Glu Asn Ala Lys Ser Glu Asp Val Ser Phe Gln Gly Arg Gly Val Phe	
450 455 460	
gag ctc tcg gac gaa aag gca acg aac ccg atc gtg cct tcc ttt gac	1440
Glu Leu Ser Asp Glu Lys Ala Thr Asn Pro Ile Val Pro Ser Phe Asp	
465 470 475 480	
atg agc aat gaa ggg tct tat ttc ttc gga gac aat gct gag gag ttt	1488
Met Ser Asn Glu Gly Ser Tyr Phe Phe Gly Asp Asn Ala Glu Glu Phe	
485 490 495	
gac agt taa	1497

Asp Ser

<210> 72

<211> 498

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 72

Met Ala Ser Gln Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Asp

1 5 10 15
Gly Glu Arg Gln Asn Ala Thr Glu Ile Arg Ala Ser Val Gly Arg Met

 20 25 30
Val Gly Gly Ile Gly Arg Phe Tyr Val Gln Met Cys Thr Glu Leu Lys

 35 40 45
Leu Asn Asp His Glu Gly Arg Leu Ile Gln Asn Ser Ile Thr Ile Glu

 50 55 60
Arg Met Val Leu Ser Ala Phe Asp Glu Arg Arg Asn Lys Tyr Leu Glu

65 70 75 80
Glu His Pro Ser Ala Gly Lys Asp Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Ile

 85 90 95
Tyr Arg Arg Lys Asp Gly Lys Trp Met Arg Glu Leu Ile Leu His Asp

 100 105 110
Lys Glu Glu Ile Met Arg Ile Trp Arg Gln Ala Asn Asn Gly Glu Asp

 115 120 125
Ala Thr Ala Gly Leu Thr His Met Met Ile Trp His Ser Asn Leu Asn

 130 135 140
Asp Thr Thr Tyr Gln Arg Thr Arg Ala Leu Val Arg Thr Gly Met Asp

145 150 155 160
Pro Arg Met Cys Ser Leu Met Gln Gly Ser Thr Leu Pro Arg Arg Ser

 165 170 175
Gly Ala Ala Gly Ala Ala Val Lys Gly Val Gly Thr Met Val Met Glu

 180 185 190

Leu Ile Arg Met Ile Lys Arg Gly Ile Asn Asp Arg Asn Phe Trp Arg

195 200 205
Gly Glu Asn Gly Arg Arg Thr Arg Ile Ala Tyr Glu Arg Met Cys Asn

210 215 220
Ile Leu Lys Gly Lys Phe Gln Thr Ala Ala Gln Arg Ala Met Met Asp
225 230 235 240

Gln Val Arg Glu Gly Arg Asn Pro Gly Asn Ala Glu Ile Glu Asp Leu
245 250 255
Ile Phe Leu Ala Arg Ser Ala Leu Ile Leu Arg Gly Ser Val Ala His

260 265 270
Lys Ser Cys Leu Pro Ala Cys Val Tyr Gly Leu Ala Leu Thr Ser Gly
275 280 285

Tyr Asp Phe Glu Lys Glu Gly Tyr Ser Leu Val Gly Ile Asp Pro Phe
290 295 300

Lys Leu Leu Gln Asn Ser Gln Ile Phe Ser Leu Ile Arg Pro Lys Glu
305 310 315 320
Asn Pro Ala His Lys Ser Gln Leu Val Trp Met Ala Cys His Ser Ala

325 330 335
Ala Phe Glu Asp Leu Arg Val Leu Asn Phe Ile Arg Gly Thr Lys Val
340 345 350

Ile Pro Arg Gly Gln Leu Thr Thr Arg Gly Val Gln Ile Ala Ser Asn
355 360 365

Glu Asn Met Glu Thr Ile Asn Ser Ser Thr Leu Glu Leu Arg Ser Lys
370 375 380

Tyr Trp Ala Ile Arg Thr Arg Ser Gly Gly Asn Thr Ser Gln Gln Arg

385 390 395 400
Ala Ser Ala Gly Gln Ile Ser Val Gln Pro Thr Phe Ser Val Gln Arg

405 410 415
Asn Leu Pro Phe Glu Arg Ala Thr Ile Met Ala Ala Phe Thr Gly Asn

420 425 430
Thr Glu Gly Arg Thr Ser Asp Met Arg Thr Glu Ile Ile Arg Met Met

435 440 445
Glu Asn Ala Lys Ser Glu Asp Val Ser Phe Gln Gly Arg Gly Val Phe

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

<210> 73

<211> 1413

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(1413)

<400> 73

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

Met Asn Pro Asn Gln Lys Ile Ile Ala Ile Gly Phe Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
ata tta atc att aat gtc att ctc cat gta gtc agc att ata gta aca 96
Ile Leu Ile Ile Asn Val Ile Leu His Val Val Ser Ile Ile Val Thr
20 25 30
gta ctg gtc ctc aat aac aat aga aca gat ctg aac tgc aaa ggg acg 144
Val Leu Val Leu Asn Asn Asn Arg Thr Asp Leu Asn Cys Lys Gly Thr

35 40 45
atc ata aga gaa tac aat gaa aca gta aga gta gaa aaa ctt act caa 192
Ile Ile Arg Glu Tyr Asn Glu Thr Val Arg Val Glu Lys Leu Thr Gln
50 55 60
tgg tat aat acc agt aca att aag tac ata gag aga cct tca aat gaa 240
Trp Tyr Asn Thr Ser Thr Ile Lys Tyr Ile Glu Arg Pro Ser Asn Glu
65 70 75 80

tac tac atg aat aac act gaa cca ctt tgt gag gcc caa ggc ttt gca	288
Tyr Tyr Met Asn Asn Thr Glu Pro Leu Cys Glu Ala Gln Gly Phe Ala	
85 90 95	
cca ttt tcc aaa gat aat gga ata cga att ggg tcg aga ggc cat gtt	336
Pro Phe Ser Lys Asp Asn Gly Ile Arg Ile Gly Ser Arg Gly His Val	
100 105 110	
ttt gtg ata aga gaa cct ttt gta tca tgt tcg ccc tca gaa tgt aga	384
Phe Val Ile Arg Glu Pro Phe Val Ser Cys Ser Pro Ser Glu Cys Arg	
115 120 125	
acc ttt ttc ctc aca cag ggc tca tta ctc aat gac aaa cat tct aac	432
Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn	
130 135 140	
ggc aca ata aag gat cga agt ccg tat agg act ttg atg agt gtc aaa	480
Gly Thr Ile Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys	
145 150 155 160	
ata ggg caa tca cct aat gta tat caa gct agg ttt gaa tcg gtg gca	528
Ile Gly Gln Ser Pro Asn Val Tyr Gln Ala Arg Phe Glu Ser Val Ala	
165 170 175	
tgg tca gca aca gca tgc cat gat gga aaa aaa tgg atg aca gtt gga	576
Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly	
180 185 190	
gtc aca ggg ccc gac aat caa gca att gca gta gtg aac tat gga ggt	624
Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly	
195 200 205	
gtt ccg gtt gat att att aat tca tgg gca ggg gat att tta aga acc	672
Val Pro Val Asp Ile Ile Asn Ser Trp Ala Gly Asp Ile Leu Arg Thr	
210 215 220	
caa gaa tca tca tgc acc tgc att aaa gga gac tgt tat tgg gta atg	720
Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met	
225 230 235 240	
act gat gga ccg gca aat agg caa gct aaa tat agg ata ttc aaa gca	768

Thr Asp Gly Pro Ala Asn Arg Gln Ala Lys Tyr Arg Ile Phe Lys Ala	
245 250 255	
aaa gat gga aga gta att gga caa act gat ata agt ttc aat ggg gga	816
Lys Asp Gly Arg Val Ile Gly Gln Thr Asp Ile Ser Phe Asn Gly Gly	
260 265 270	
cac ata gag gag tgt tct tgt tac ccc aat gaa ggg aag gtg gaa tgc	864
His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Asn Glu Gly Lys Val Glu Cys	
275 280 285	
ata tgc agg gac aat tgg act gga aca aat aga cca att ctg gta ata	912
Ile Cys Arg Asp Asn Trp Thr Gly Thr Asn Arg Pro Ile Leu Val Ile	
290 295 300	
tct tct gat cta tcg tac aca gtt gga tat ttg tgt gct ggc att ccc	960
Ser Ser Asp Leu Ser Tyr Thr Val Gly Tyr Leu Cys Ala Gly Ile Pro	
305 310 315 320	
act gac act cct agg gga gag gat agt caa ttc aca ggc tca tgt aca	1008
Thr Asp Thr Pro Arg Gly Glu Asp Ser Gln Phe Thr Gly Ser Cys Thr	
325 330 335	
agt cct ttg gga aat aaa gga tac ggt gta aaa ggc ttc ggg ttt cga	1056
Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg	
340 345 350	
caa gga act gac gta tgg gcc gga agg aca att agt agg act tca aga	1104
Gln Gly Thr Asp Val Trp Ala Gly Arg Thr Ile Ser Arg Thr Ser Arg	
355 360 365	
tca gga ttc gaa ata ata aaa atc agg aat ggt tgg aca cag aac agt	1152
Ser Gly Phe Glu Ile Ile Lys Ile Arg Asn Gly Trp Thr Gln Asn Ser	
370 375 380	
aag gac caa atc agg agg caa gtg att atc gat gac cca aat tgg tca	1200
Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser	
385 390 395 400	
gga tat agc ggt tct ttc aca ttg ccg gtt gaa ctg aca aaa aag gga	1248
Gly Tyr Ser Gly Ser Phe Thr Leu Pro Val Glu Leu Thr Lys Lys Gly	

405	410	415	
tgt ttg gtc ccc tgt ttc tgg gtt gaa atg att aga ggt aaa cct gaa			1296
Cys Leu Val Pro Cys Phe Trp Val Glu Met Ile Arg Gly Lys Pro Glu			
420	425	430	
gaa aca aca ata tgg acc tct agc agc tcc att gtg atg tgt gga gta			1344
Glu Thr Thr Ile Trp Thr Ser Ser Ser Ser Ile Val Met Cys Gly Val			
435	440	445	
gat cat aaa att gcc agt tgg tca tgg cac gat gga gct att ctt ccc			1392
Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro			
450	455	460	
ttt gac atc gat aag atg taa			1413
Phe Asp Ile Asp Lys Met			
465	470		
<210> 74			
<211> 470			
<212> PRT			
<213> Influenza virus			
<400> 74			
Met Asn Pro Asn Gln Lys Ile Ile Ala Ile Gly Phe Ala Ser Leu Gly			
1	5	10	15
Ile Leu Ile Ile Asn Val Ile Leu His Val Val Ser Ile Ile Val Thr			
20	25	30	
Val Leu Val Leu Asn Asn Asn Arg Thr Asp Leu Asn Cys Lys Gly Thr			
35	40	45	
Ile Ile Arg Glu Tyr Asn Glu Thr Val Arg Val Glu Lys Leu Thr Gln			
50	55	60	
Trp Tyr Asn Thr Ser Thr Ile Lys Tyr Ile Glu Arg Pro Ser Asn Glu			
65	70	75	80
Tyr Tyr Met Asn Asn Thr Glu Pro Leu Cys Glu Ala Gln Gly Phe Ala			
85	90	95	
Pro Phe Ser Lys Asp Asn Gly Ile Arg Ile Gly Ser Arg Gly His Val			

100	105	110	
Phe Val Ile Arg Glu Pro Phe Val Ser Cys Ser Pro Ser Glu Cys Arg			
115	120	125	
Thr Phe Phe Leu Thr Gln Gly Ser Leu Leu Asn Asp Lys His Ser Asn			
130	135	140	
Gly Thr Ile Lys Asp Arg Ser Pro Tyr Arg Thr Leu Met Ser Val Lys			
145	150	155	160
Ile Gly Gln Ser Pro Asn Val Tyr Gln Ala Arg Phe Glu Ser Val Ala			
165	170	175	
Trp Ser Ala Thr Ala Cys His Asp Gly Lys Lys Trp Met Thr Val Gly			
180	185	190	
Val Thr Gly Pro Asp Asn Gln Ala Ile Ala Val Val Asn Tyr Gly Gly			
195	200	205	
Val Pro Val Asp Ile Ile Asn Ser Trp Ala Gly Asp Ile Leu Arg Thr			
210	215	220	
Gln Glu Ser Ser Cys Thr Cys Ile Lys Gly Asp Cys Tyr Trp Val Met			
225	230	235	240
Thr Asp Gly Pro Ala Asn Arg Gln Ala Lys Tyr Arg Ile Phe Lys Ala			
245	250	255	
Lys Asp Gly Arg Val Ile Gly Gln Thr Asp Ile Ser Phe Asn Gly Gly			
260	265	270	
His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Asn Glu Gly Lys Val Glu Cys			
275	280	285	
Ile Cys Arg Asp Asn Trp Thr Gly Thr Asn Arg Pro Ile Leu Val Ile			
290	295	300	
Ser Ser Asp Leu Ser Tyr Thr Val Gly Tyr Leu Cys Ala Gly Ile Pro			
305	310	315	320
Thr Asp Thr Pro Arg Gly Glu Asp Ser Gln Phe Thr Gly Ser Cys Thr			
325	330	335	
Ser Pro Leu Gly Asn Lys Gly Tyr Gly Val Lys Gly Phe Gly Phe Arg			
340	345	350	

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

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

Lys Asp Gln Ile Arg Arg Gln Val Ile Ile Asp Asp Pro Asn Trp Ser

385 390 395 400

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

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

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

Asp His Lys Ile Ala Ser Trp Ser Trp His Asp Gly Ala Ile Leu Pro

450 455 460

Phe Asp Ile Asp Lys Met

465 470

<210> 75

<211> 981

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(756)

<400> 75

atg agt ctt cta acc gag gtc gaa acg tac gtt ctc tct atc gta cca 48

Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro

1 5 10 15

tca ggc ccc ctc aaa gcc gag atc gcg cag aga ctt gaa gat gtc ttt 96

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

20 25 30

gcg gga aag aac acc gat ctt gag gca ctc atg gaa tgg cta aag aca 144

Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr

35 40 45

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

195	200	205	
gct agg cag atg gta cag gca atg aga acc att ggg acc cac cct agc			672
Ala Arg Gln Met Val Gln Ala Met Arg Thr Ile Gly Thr His Pro Ser			
210	215	220	
tcc agt gcc ggt ttg aaa gat gat ctc ctt gaa aat tta cag gcc tac			720
Ser Ser Ala Gly Leu Lys Asp Asp Leu Leu Glu Asn Leu Gln Ala Tyr			
225	230	235	240
cag aaa cgg atg gga gtg caa atg cag cga ttc aag tgatcctctc			766
Gln Lys Arg Met Gly Val Gln Met Gln Arg Phe Lys			
245	250		
gtcattgcag caagtatcat tgggatcttg cacttgatat tgtggattct tgatcgtctt			826
ttcttcaaat tcatttatcg tcgccttaaa tacgggttga aaagagggcc ttctacggaa			886
ggagtacctg agtctatgag ggaagaatat cggcaggaac agcagaatgc tgtggatgtt			946
gacgatggtc attttgtcaa catagagctg gagta			981
<210> 76			
<211> 252			
<212> PRT			
<213> Influenza virus			
<400> 76			
Met Ser Leu Leu Thr Glu Val Glu Thr Tyr Val Leu Ser Ile Val Pro			
1	5	10	15
Ser Gly Pro Leu Lys Ala Glu Ile Ala Gln Arg Leu Glu Asp Val Phe			
20	25	30	
Ala Gly Lys Asn Thr Asp Leu Glu Ala Leu Met Glu Trp Leu Lys Thr			
35	40	45	
Arg Pro Ile Leu Ser Pro Leu Thr Lys Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe			
50	55	60	
Thr Leu Thr Val Pro Ser Glu Arg Gly Leu Gln Arg Arg Arg Phe Val			
65	70	75	80
Gln Asn Ala Leu Ser Gly Asn Gly Asp Pro Asn Asn Met Asp Arg Ala			
85	90	95	

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 77

<211

> 1698

<212> DNA

<213> Influenza virus

<220><221> CDS

<222> (1)..(1698)

<400> 77

atg aag aca acc att att tta ata cta ctg acc cat tgg gcc tac agt 48

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

caa aac cca atc agt ggc aat aac aca gcc aca ctg tgt ctg gga cac 96

Gln Asn Pro Ile Ser Gly Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His

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

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

340	345	350	
ttc atc gaa aac ggc tgg gaa gga atg gtt gat ggg tgg tat ggg ttc			1104
Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe			
355	360	365	
cga tat caa aac tct gaa gga aca ggg caa gct gca gat cta aag agc			1152
Arg Tyr Gln Asn Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Ala Asp Leu Lys Ser			
370	375	380	
act caa gca gcc atc gac cag att aat gga aag tta aac aga gtg att			1200
Thr Gln Ala Ala Ile Asp Gln Ile Asn Gly Lys Leu Asn Arg Val Ile			
385	390	395	400
gaa aga acc aat gag aaa ttc cat caa ata gag aag gaa ttc tca gaa			1248
Glu Arg Thr Asn Glu Lys Phe His Gln Ile Glu Lys Glu Phe Ser Glu			
405	410	415	
gta gaa gga aga att cag gac ttg gag aaa tat gta gaa gac acc aaa			1296
Val Glu Gly Arg Ile Gln Asp Leu Glu Lys Tyr Val Glu Asp Thr Lys			
420	425	430	
ata gac cta tgg tcc tac aat gca gaa ttg ctg gtg gct cta gaa aat			1344
Ile Asp Leu Trp Ser Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Ala Leu Glu Asn			
435	440	445	
caa cat aca att gac tta aca gat gca gaa atg aat aaa tta ttt gag			1392
Gln His Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ala Glu Met Asn Lys Leu Phe Glu			
450	455	460	
aag act aga cgc cag tta aga gaa aac gca gaa gac atg gga ggt gga			1440
Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Gly Gly			
465	470	475	480
tgt ttc aag att tac cac aaa tgt gat aat gca tgc att gaa tca ata			1488
Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Glu Ser Ile			
485	490	495	
aga act ggg aca tat gac cat tac ata tac aaa gat gaa gca tta aac			1536
Arg Thr Gly Thr Tyr Asp His Tyr Ile Tyr Lys Asp Glu Ala Leu Asn			
500	505	510	

aat cga ttt cag atc aaa ggt gta gag ttg aaa tca ggc tac aaa gat 1584

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

515 520 525

tgg ata ctg tgg att tca ttc gcc ata tca tgc ttc tta att tgc gtt 1632

Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Ile Cys Val

530 535 540

gtt cta ttg ggt ttc att atg tgg gct tgc caa aaa ggc aac atc aga 1680

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

545 550 555 560

tgc aac att tgc att tga 1698

Cys Asn Ile Cys Ile

565

<210> 78

<211> 565

<212> PRT

<213> Influenza virus

<400> 78

Met Lys Thr Thr Ile Ile Leu Ile Leu Leu Thr His Trp Ala Tyr Ser

1 5 10 15

Gln Asn Pro Ile Ser Gly Asn Asn Thr Ala Thr Leu Cys Leu Gly His

20 25 30

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

35 40 45

Ile Glu Val Thr Asn Ala Thr Glu Leu Val Gln Ser Ile Ser Met Gly

50 55 60

Lys Ile Cys Asn Lys Ser Tyr Arg Ile Leu Asp Gly Arg Asn Cys Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Ser Trp Asp Leu Phe Ile Glu Arg Ser Ser Ala Phe Ser Asn Cys

100 105 110

Tyr Pro Tyr Asp Ile Pro Asp Tyr Ala Pro Leu Arg Ser Ile Val Ala
 115 120 125
 Ser Ser Gly Thr Val Glu Phe Thr Ala Glu Gly Phe Thr Trp Thr Gly
 130 135 140
 Val Thr Gln Asn Gly Arg Ser Gly Ala Cys Lys Arg Gly Ser Ala Asp

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

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

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

 340 345 350
 Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Phe

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

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

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

530 535 540
 Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Lys Gly Asn Ile Arg
 545 550 555 560
 Cys Asn Ile Cys Ile

565

<210> 79

<211> 20

<212> DNA

<213> Influenza virus

<400> 79

tatgcatcgc tccgatccat	20
<210> 80	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Influenza virus	
<400> 80	
gctccacttc ttccgttttg a	21
<210> 81	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> Influenza virus	
<400> 81	
aattcacagc agagggattc acatggacag	30
<210> 82	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Influenza Virus	
<220><221> variation	
<222> (7)..(7)	
<223> r = a or g	
<400> 82	
catggartgg ctaaagacaa gacc	24
<210> 83	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Influenza virus	
<220><221> variation	
<222> (18)..(18)	
<223> k = g or t	
<400> 83	
agggcatttt ggacaaakcg tcta	24
<210> 84	
<211> 18	

<212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 84
 acgtcaccg tgcccagt 18
 <210> 85
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 85
 tattcgtctc agggagcaaa agcagggg 28
 <210> 86
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 86
 tgtaatacga ctactatag ggctccactt cttccgtttt ga 42
 <210> 87
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400>
 > 87
 gatcgctctt caggagcaa aagcaggtag 30
 <210> 88
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Influenza virus
 <400> 88
 tgtaatacga ctactatag ggcatTTTgg acaaagcgtc 40