

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 383 158**

51 Int. Cl.:
A61K 39/145 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)
C07K 14/11 (2006.01)
C12N 9/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07834095 .7**
96 Fecha de presentación: **16.11.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2078083**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **15.07.2009**

54 Título: **Un nuevo virus de influenza canina y la vacuna correspondiente**

30 Prioridad:
30.10.2007 KR 20070109535

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
18.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
18.06.2012

73 Titular/es:
Bionote,INC.
2-9 Seoku-dong Hwaseong-si
Gyeonggi-do 445-170 , KR

72 Inventor/es:
CHO, Young Shik;
HA, Gun Woo;
OH, Jin Sik;
KANG, Dong Seok;
SONG, Dae Sub;
KANG, Bo Kyu y
LEE, Chul-Seung

74 Agente/Representante:
Carvajal y Urquijo, Isabel

ES 2 383 158 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Un nuevo virus de influenza canina y la vacuna correspondiente

Campo de la técnica

5 La presente invención se refiere a nuevos virus de influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2), A/Canine/Korea/02/07 (H3N2) y A/Canine/Korea/03/07 (H3N2), una composición de vacuna que contiene al menos uno de los virus como ingrediente activo, siendo tales vacunas utilizadas para prevenir o tratar enfermedades que resultan de la infección por el virus de la influenza, y un kit de ensayo para la detección de los virus.

Antecedentes en el estado del arte

10 La influenza, causada por el virus de la Influenza tipo A de la familia *Orthomyxoviridae*, es la enfermedad de mayor importancia económica en los seres humanos, cerdos, caballos y aves de corral.

15 Los virus de la influenza tipo A se clasifican además con base en las características de dos proteínas de superficie conocidas como hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N). El virus de influenza tipo A se expresa como una combinación del subtipo H (hemaglutinina) y del subtipo N (neuraminidasa) (por ejemplo, H9N2). Existen 16 diferentes subtipos H y 9 subtipos N, dando como resultado un total de 144 diferentes combinaciones posibles de subtipos H y N de virus de la influenza tipo A.

20 La influenza es una zoonosis. Los virus de tipo A son los patógenos humanos más virulentos entre los tres tipos de influenza, y causan la enfermedad más grave. Además, son muy propensos a mutar y se transmiten fácilmente de una especie a otra, causando una pandemia. En consecuencia, el estallido de una pandemia de influenza se está convirtiendo en un gran problema que debe ser resuelto. Además, existen diferentes informes de que los virus de influenza están infectando nuevas especies que hasta ahora se creía que eran resistentes a la infección por el virus.

La influenza canina se refiere a nuevas variedades del virus de la influenza tipo A que causan influenza en los caninos. Debido a la falta de exposición previa a este virus, los perros no tienen inmunidad natural a este virus. Por lo tanto, todas las especies y edades son susceptibles a este virus. Los perros con influenza canina pueden sufrir de neumonía aguda, mostrando los síntomas de una tos severa, fiebre alta y rinorrea.

25 Se ha encontrado que un virus de la influenza altamente contagioso ha sido el causante de las muertes del perro de carreras galgo de una enfermedad respiratoria en una pista de la Florida en 2004. Entonces, ya que se han reportaron brotes del mismo en Texas, Alabama, Arkansas y otros estados en los EE.UU., la influenza canina fue considerada como una nueva epidemia en los perros. Un estudio epidemiológico mostró que el virus, aislado de un perro con la influenza canina, era casi idéntico al virus de la influenza equina H3N8, lo que indica la creación de la
30 influenza canina como resultado de la transmisión de caballos a perros. Existen informes del virus de la influenza equina H3N8 que causa la neumonía hemorrágica en perros de carreras y de aislamiento del virus de la influenza humana H3N8 de los perros. Sin embargo, debe hallarse suficiente evidencia serológica y virológica, para la influenza canina.

35 Además, se han reportado casos de brote de influenza aviar en los caninos. Se infiere que el mecanismo epidemiológico de la transmisión de la influenza de las aves a los perros tiene dos vías: una es por la alimentación de los perros con aves crudas que portan la influenza, tales como patos, gallinas, etc.; y la otra forma principal de que el virus de la influenza se propague es de los perros infectados a los perros sanos en las gotitas respiratorias al toser y estornudar. Como tal, se infiere que la influenza canina se establece después de que los perros infectados son expuestos a ambientes nuevos y entran en contacto con los perros sanos. Es importante prevenir la influenza
40 canina ya que los virus de la influenza canina pueden provocar una infección secundaria con diferentes grados de mortandad. No existe vacuna disponible para los perros en este momento.

El número de acceso en la base de datos del GenBank AY862607 divulga un gen que codifica para la hemaglutinina del virus de la influenza tipo A virus. El número de acceso en la base de datos del GenBank AY862641 divulga un gen que codifica para la neuraminidasa del virus de la influenza tipo A.

45 Choi et al., *Virology* 2005 332 (2): 529 - 537 divulga virus de la influenza aviar en los mercados de aves de corral vivas en Corea y su potencial patógeno

Problema técnico

En relación con la presente invención, la investigación profunda y exhaustiva sobre la producción del virus de la influenza en los caninos, realizada por los presentes inventores con base en los antecedentes anteriormente

mencionados, resultó en el hallazgo de que los virus de la influenza de algunos perros en Corea eran variantes del serotipo A, que se diferencian de los virus de influenza anteriores y, a pesar de pertenecer a un grupo aviar, mostró transmisión entre especies entre aves y perros a través de análisis virológico, serológico, patológico y filogenético. Además, se ha desarrollado con éxito una vacuna altamente estable contra a estos virus.

5 Solución Técnica

Un objetivo de la presente invención es el de proporcionar un nuevo virus de la influenza canina del serotipo H3N2.

Otro objetivo de la presente invención es el de proporcionar una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína constituyente del virus de la influenza.

Aún un objetivo adicional de la presente invención es proporcionar una composición de vacuna contra el nuevo virus.

- 10 Es todavía un objeto adicional de la presente invención es proporcionar un kit de análisis para la detección del virus de la influenza del serotipo H3N2, que incluye al virus de la presente invención o a una proteína HA y NA del mismo.

Descripción de los dibujos

- 15 La Figura 1 muestra la secuencia completa de aminoácidos codificada por un gen que codifica para NA del virus de influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2) en comparación con aquellos de los virus de la influenza A/Dove/Korea/S11/03 (H3N2), A/Duck/Korea/S7/03 (H3N2) y A/Chicken/Korea/S6/03 (H3N2).

La Figura 2 muestra la secuencia completa de aminoácidos codificada por un gen que codifica para HA del virus de la influenza A/Equine/Jilin/1/1989 (H3N8) en comparación con aquellos de los virus de la influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2), A/Dove/Coera/S11/03 (H3N2), A/Duck/Korea/S7/03 (H3N2) y A/Chicken/Korea/S6/03 (H3N2).

- 20 La Figura 3 muestra una secuencia parcial de aminoácidos codificada por un gen que codifica para HA del virus de la influenza A/Equine/Jilin/1/1989 (H3N8) en comparación con los virus de la influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2), A/Canine/Korea/02/07 (H3N2), A/Canine/Korea/03/07 (H3N2), A/Dove/Korea/S11/03 (H3N2), A/Duck/Korea/S7/03 (H3N2) y A/Chicken/Korea/S6/03 (H3N2).

- 25 La Figura 4 muestra un árbol filogenético para el gen que codifica para HA, enraizado con el virus de la influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2).

La Figura 5 muestra un árbol filogenético para el gen que codifica para NA, enraizado con el virus de la influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2).

- 30 La Figura 6 es un gráfico que muestra los cambios en la temperatura corporal, el título de los anticuerpos y la producción de la progenie viral durante una semana en animales inmunizados con la influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2) y los animales no inmunizados con la misma.

- 35 La Figura 7 muestra lesiones histopatológicas en los órganos y los pulmones de los animales inmunizados con virus de la influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2) (grupo inmunizado B, D y F) y los animales no inmunizados con la misma (control, A y C): (A) el revestimiento epitelial de la columna pseudoestratificada en un órgano normal del grupo de control 9 días después de la inoculación agresiva (amplificación 400 veces), (B) órgano necrótico (n), metaplasia escamosa (s), e hiperplasia epitelial e inflamación crónica sobre tejido conectivo (C) en el grupo inmunizado 9 días después de la inoculación agresiva (amplificación 400 veces), (C) alvéolos normales del grupo de control 3 días después de la inoculación agresiva (amplificación 200 veces), (D) bronquitis necrotizante difusa severa y bronquiolitis purulenta en el lumen bronquial del grupo inmunizado 3 días después del grupo agresivo (amplificación 100 veces); (E) bronquiolitis necrotizante severa en el grupo inmunizado 6 días después de la inoculación agresiva (llena de células necrotizantes separadas y neutrófilos, e inflamación crónica leve o moderada observada alrededor de los bronquiolos (amplificación 200 veces), (F) alveolitis necrotizante severa en el grupo inmunizado 9 días después de inoculación agresiva (infiltración necrotizante de las células en el conducto alveolar (ad) y en los alvéolos (a) (amplificación 200 veces) teñido con H & E).

Mejor modo de realizar la invención

- 45 De acuerdo con un aspecto de la misma, la presente invención pertenece a nuevos virus de la influenza canina serotipo H3N2.

Los nuevos virus de influenza canina serotipo H3N2 de acuerdo con la presente invención tienen una proteína

hemaglutinina (HA) representada por la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO. 10 y una proteína neuraminidasa (NA) representada por la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12.

5 Cuando se compara con el virus de la influenza equina H3N8 previamente conocido, se encontró que el virus de la influenza canina de la presente invención tenía un cambio muy característico en la secuencia de aminoácidos, como el analizado para la secuencia completa de aminoácidos de la neuraminidasa (NA) (FIG. 1) y la secuencia completa de aminoácidos de la hemaglutinina (HA) (FIG. 2). En particular, las secuencias de aminoácidos de la HA de A/Canine/Korea/01/07 (H3N2), A/Canine/Korea/02/07 (H3N2) y A/Canine/Korea/03/07 (H3N2) se alteran en forma característica para tener N (Asparagina) en la posición 27, I (Isoleucina) en la posición 127, T (Treonina) en la posición 142, T (Treonina) en la posición 176, N (Asparagina) en la posición 188, S (Serina) en la posición 209, I (Isoleucina) en la posición 212 e I (Isoleucina) en la posición 252 (FIG. 3).

15 Además, los nuevos virus de la influenza canina de acuerdo con la presente invención pueden incluir además una proteína seleccionada entre una proteína no estructural (NS), codificada por la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 3, una proteína matriz (M) codificada por la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 4, una nucleoproteína (NP) codificada por la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 5, una polimerasa (PA), codificada por la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO. 6, una proteína polimerasa 2 (PB2) codificada por la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 7, una proteína polimerasa 1 (PB1) codificada por la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 8, y combinaciones de las mismas.

20 Tal como se utiliza aquí para hemaglutinina o neuraminidasa, el término "homología" pretende hacer referencia a la similitud con una secuencia de aminoácidos de tipo silvestre. En general, un homólogo de la proteína tiene el mismo sitio activo que el prototipo de la misma. La comparación de la homología entre las secuencias de aminoácidos se puede hacer a simple vista o mediante un software. La homología entre dos o más secuencias de aminoácidos puede ser calculada y expresada como porcentajes utilizando software disponible comercialmente.

Los virus de la influenza canina de la presente invención comprenden A/Canine/Korea/01/07 (H3N2), A/Canine/Korea/02/07 (H3N2) y A/Canine/Korea/03/07 (H3N2).

25 Las proteínas del virus de la influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2) muestran una homología del 95,5 a 98,9% con aquellas del virus de la influenza aviar. Por ejemplo, el virus de la influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2) de la presente invención comparte la homología más alta con A/Dove/Korea/S11/03 (H3N2) con respecto a los genes que codifican para HA (hemaglutinina) y NA (neuraminidasa) y con A/Chicken/Nanchang/7-010/2000 (H3N6) en relación con un gen que codifica para NS (no estructural). Como para los genes de PB1 (proteína básica de la polimerasa 1), PB2, PA (polimerasa), NP (nucleoproteína) y M (matriz), muestran homologías altas con los virus de la influenza aviar que se encuentran en Hong Kong, Japón y China. El virus de la influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2) fue depositado en el Instituto Coreano de Investigación de Biociencia y Biotecnología, ubicado en (Mokpo?) el 19 de septiembre de 2007, con el número de acceso 11205BP de la KCTC.

35 El virus de la influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2) tiene un gen que codifica para la hemaglutinina (HA) que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 1 y el gen que codifica para la neuraminidasa (NA) que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 2. Se da la secuencia completa de nucleótidos de HA, junto con la secuencia completa de aminoácidos de la misma, en la SEQ ID NO. 9, mientras que la secuencia completa de nucleótidos de NA se da, junto con la secuencia completa de aminoácidos de la misma, en la SEQ ID NO. 11. Además, la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 3 está contenida en el gen que codifica para NS, el nucleótido de la SEQ ID NO. 4 está contenido en el gen que codifica para M, la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 5 está contenida en el gen que codifica para NP, la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 6 está contenida en el gen que codifica para PA, la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 7 está contenida en el gen que codifica para PB2, y la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 8 está contenida en el gen que codifica para PB1.

45 El virus de la influenza A/Canine/Korea/02/07 (H3N2) de la presente invención tiene un gen que codifica para HA que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 13 y un gen que codifica para NA que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 14. Se encontró que este virus era sustancialmente el mismo que el de la influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2), ya que se analizó que las secuencias de nucleótidos para HA y NA y las secuencias de aminoácidos comparten 98% de homología entre los dos virus. El virus de la influenza A/Canine/Korea/02/07 (H3N2) fue depositado en la Colección de Cultivos Tipo de Corea (KCTC) del Instituto Coreano de Investigación de Biociencia y Biotecnología, ubicado en Eoeun-dong, Yusung Gu, Daejeon City, Corea del Sur el 19 de septiembre de 2007, con el número de acceso 11206BP de la KCTC.

55 El virus de la influenza A/Canine/Korea/03/07 (H3N2) tiene un gen que codifica para HA que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 1 y un gen que codifica para NA que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 16. Se identificó que este virus es sustancialmente el mismo que el virus de la influenza A/Canine/Korea/02/07 (H3N2) y el virus de la influenza A/Canine/Korea/03/07 (H3N2), ya que se analizó

que las secuencias de nucleótidos para HA y NA y las secuencias de aminoácidos comparten un 99% de homología entre el virus de la influenza A/Canine/Korea/03/07 (H3N2) y el virus de la influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2) y un 98% de homología entre el virus de la influenza A/Canine/Korea/03/07 (H3N2) y el virus de la influenza A/Canine/Korea/02/07 (H3N2). El virus de la influenza A/Canine/Korea/03/07 (H3N2) fue depositado en la Colección de Cultivos Tipo de Corea (KCTC) del Instituto Coreano de Investigación de Biociencia y Biotecnología, ubicado en Eoeun-dong, Yusung Gu, Daejeon City, Corea del Sur el 19 de septiembre de 2007, con el número de acceso 11207BP de la KCTC.

Los virus de la influenza canina de acuerdo con la presente invención, aislados de la cavidad nasal de los perros coreanos, tienen la relación filogenética mostrada en los diagramas filogenéticos de las FIGS. 4 y 5. Los árboles filogenéticos de las FIGS. 4 y 5, ambos basados en el virus de la influenza A/Canine/Korea/01/07 (H3N2), se construyeron para el gen que codifica para HA y el gen que codifica para NA. Como se observa en estos árboles filogenéticos de los genes que codifican para HA y NA, los virus de la influenza de la presente invención, junto con los virus de la influenza aviar, forman un grupo que es diferente del grupo al cual pertenecen los virus H3N8 aislados de caballos y de perros.

Cuando se utilizan para infectar perros, los virus de la influenza canina de acuerdo con la presente invención mostraron patogenicidad, causando fiebre y neumonía, y por lo tanto son virus epidémicos en los perros en Corea. Cuando se los administra con vacunas contra los virus de la influenza canina de la presente invención, se encontró que la mayor parte de los perros tienen inmunidad a los virus y para suprimir la propagación y la generación de virus a través de los mismos.

De acuerdo con otro aspecto de la misma, la presente invención pertenece a un gen que codifica una proteína hemaglutinina (HA) que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO. 10. Preferiblemente, el gen tiene una secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 9.

Además, la presente invención se relaciona con un gen que codifica una proteína neuraminidasa (NA) que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO. 12. Preferiblemente, el gen tiene la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 11.

De acuerdo con un aspecto adicional del mismo, la presente invención se relaciona con una composición de vacuna que puede proporcionar inmunidad para los virus de la influenza canina.

Preferiblemente, la composición de vacuna de la presente invención contiene al virus de la influenza canina o a un antígeno del mismo como un ingrediente activo. El virus de la influenza canina para su uso en la composición de la vacuna se selecciona de entre A/Canine/Korea/01/07 (H3N2), A/Canine/Korea/02/07 (H3N2), A/Canine/Korea/03/07 (H3N2) y combinaciones de los mismos.

El primer antígeno útil en la presente invención es una proteína hemaglutinina (HA) que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO. 10.

El segundo antígeno útil en la presente invención es una proteína neuraminidasa (NA) que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12.

La vacuna de acuerdo con la presente invención puede incluir una vacuna viva atenuada o muerta, una vacuna de subunidades, una vacuna sintética, y una vacuna modificada por ingeniería genética, con preferencia por una vacuna viva debido a la capacidad de la misma para inducir una respuesta inmune efectiva.

Tal como se usa aquí, el término "vacuna viva" se refiere a una vacuna preparada a partir de un virus que ha sido atenuado, pero todavía se puede replicar en las células del organismo huésped. El término "atenuación", como se usa aquí, se pretende que signifique reducción artificial de la toxicidad de los agentes patógenos mediante la mutación de un gen implicado en el metabolismo esencial del patógeno de tal manera que pierda patogenicidad, pero retenga antigenicidad. Generalmente, la atenuación se logra a través de radiación ultravioleta, tratamiento químico, o por medio de un subcultivo secuencial de orden superior *in vitro*. Una alteración genética explícita, tal como la supresión de un nucleótido específico en una secuencia conocida para proporcionar toxicidad o la inserción de un nucleótido en un genoma viral, también puede resultar en atenuación.

Tal como se usa aquí, el término "vacuna muerta", también llamado vacuna inactivada, se refiere a una suspensión de virus muerto utilizado como un antígeno para producir inmunidad. Los ejemplos de vacunas muertas incluyen vacunas de virus enteros y vacunas de virus fraccionados. La vacuna de virus muertos puede ser fácilmente producida usando métodos conocidos. Por ejemplo, se puede obtener una vacuna de un virus entero por tratamiento de un virus con formalina. Las vacunas de virus fraccionados se preparan a partir de envolturas de virus después de tratamiento con éter.

El término "vacuna de subunidades" se refiere a una vacuna compuesta de proteína HA y de proteína NA que se separa del organismo virulento por extracción. Es menos probable que cause reacciones adversas que la vacuna del virus entero.

5 Por el término "vacuna sintética" se entiende una vacuna que consiste principalmente de la proteína HA y de la proteína NA modificadas genéticamente o sintetizadas químicamente.

Una vacuna modificada por medio de ingeniería genética puede estar libre de un gen específico que es responsable de la patogenicidad o pueden contener un gen modificado.

10 Además, la vacuna contra la influenza de la presente invención puede ser utilizada en combinación con otros organismos inactivados o antígenos para preparar una vacuna mixta o compleja contra diferentes enfermedades incluida la influenza. El término "vacuna mixta", como se usa aquí, pretende referirse a una vacuna preparada a partir de una mezcla viral del virus de la influenza canina de la presente invención y al menos un virus diferente. El término "vacuna compleja" significa una vacuna preparada a partir de un virus y de bacterias. Por ejemplo, los virus de la influenza canina de la presente invención pueden mezclarse o combinarse con virus de la parainfluenza canina, virus del moquillo canino, adenovirus canino, y / o Bordetella bronchiseptica.

15 La vacuna contra el virus de la influenza canina de acuerdo con la presente invención puede ser preparada utilizando un método que comprende: (a) inyectar el virus de la influenza canina de la presente invención en un huevo embrionado y proliferar el virus en él; (b) tratar un fluido corioalantoico del huevo embrionado con formalina PBL (beta-propiolactona) o BEI (etilenimina binaria); y recolectar el virus inactivado del fluido corioalantoico tratado químicamente.

20 En la etapa (a), se inyecta el virus de la influenza canina en un huevo embrionado de 9 -11 días de edad y se incuba a 30 - 40° C durante 24 a 72 horas. En la etapa (b), se obtiene un fluido corioalantoico a partir del huevo incubado utilizando un método convencional, se lo trató con 0,005 - 0,2% (v / p) de formalina, BEI o BPL y se incubó a una temperatura baja para inactivar el virus. En la etapa (c), se recogió el virus inactivado a partir del fluido corioalantoico tratados con formalina, BEI o BPL por centrifugación o por filtración. Entonces, se absorbió el virus sobre gel de hidróxido de aluminio. Este método puede comprender técnicas bien conocidas, o puede ser modificado en versiones más fácilmente realizables.

25 Además, la composición de la vacuna de la presente invención puede incluir además un medio, un adyuvante, y / o un excipiente. Se puede utilizar como medio agua destilada o solución salina fisiológica. Los ejemplos del adyuvante útil en la composición de la vacuna incluyen un adyuvante completo o incompleto de Freund, gel de hidróxido de aluminio, aceite vegetal o mineral, etc. Los ejemplos del excipiente incluyen fosfato de aluminio, hidróxido de aluminio, y sulfato de potasio y aluminio, pero no se limita a ellos. En la práctica, pueden aplicarse todos los materiales conocidos para uso en la preparación de la vacuna por parte de aquellos expertos en la técnica a la composición de la vacuna de la presente invención.

35 Preferiblemente, la composición de la vacuna de la presente invención puede incluir al virus de la influenza canina en una cantidad de 2⁵ HAU (unidad de hemaglutinación). Cuando se usa el virus de la influenza canina en una cantidad menor a 2⁵ HAU, la vacuna no puede inducir la producción de anticuerpos en forma efectiva. Por otro lado, una cantidad superior a 2⁵ HAU puede ser antieconómica.

40 La composición de la vacuna de acuerdo con la presente invención se puede preparar en forma de dosificaciones orales o en formas de dosificación no orales. Preferible son formas de dosificación no orales que pueden ser administradas a través de vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, o epidural.

45 La composición de la vacuna de acuerdo con la presente invención puede ser aplicada a todos los individuos que son susceptibles a A/Canine/Korea/01/07 (H3N2), A/Canine/Korea/02/07 (H3N2) o A/Canine/Korea/03/07 (H3N2) y actúan como huéspedes, incluidos los humanos, animales domésticos, aves de corral, y aves, tales como perros, cerdos, pollos, patos, pavos, etc.

De acuerdo con un aspecto adicional de la misma, la presente invención se relaciona con composiciones para la vacuna para la prevención y el tratamiento de enfermedades relacionadas con el virus de la influenza, en individuos que se encuentran en riesgo.

50 Tal como se usa aquí, el término "enfermedad relacionada con el virus de la influenza" se refiere a una enfermedad que resulta de la infección con el virus de la influenza. Los ejemplos del mismo incluyen la sinusitis paranasal, el asma espasmódica, la timpanitis, la fibrosis quística, la bronquitis, la neumonía, la diarrea, etc. (Pitkäranta y Hayden, 1998. Ann. Med.), pero no se limitan a estos.

El término "individuos", tal como se usa aquí, pretende referirse a todos los vertebrados, incluyendo los seres humanos, que ya están infectadas con, o pueden ser infectados con los virus de la influenza. Por medio de la administración con la composición de la vacuna de la presente invención, las enfermedades pueden ser efectivamente prevenidas y tratadas. Por ejemplo, los humanos infectados con diferentes subtipos o variantes de los virus de la influenza pueden ser tratados con la composición de la vacuna de la presente invención. Además, los pollos o los cerdos pueden ser inmunizados con la composición de la vacuna con el fin de tomar precauciones contra la influenza. La composición de la vacuna de la presente invención puede ser administrada en combinación con terapias convencionales contra las enfermedades relacionadas con el virus de la influenza.

Tal como se usa aquí, el término "prevención" significa todas las acciones para inhibir la infección por el virus de la influenza o retrasar el brote de la influenza a través de la administración de la composición de la vacuna de acuerdo con la presente invención. El término "tratamiento", significa todas las acciones por medio de las cuales los síntomas que resultan de la infección por el virus de la influenza se alivian o tienden a mejorar a través de la administración de la composición de la vacuna de acuerdo con la presente invención.

En una cantidad farmacéuticamente efectiva, se administra la composición de la vacuna de acuerdo con la presente invención. El término "cantidad farmacéuticamente efectiva", como se usa aquí, pretende referirse a una cantidad que es útil para tratar las enfermedades relacionadas con el virus de la influenza en una proporción razonable de beneficio con respecto al peligro para la terapia con el medicamento. Las dosis del compuesto de la presente invención dependen del tipo y de la severidad de las enfermedades, de la actividad del fármaco, de la sensibilidad al fármaco, de la frecuencia y del periodo de tiempo que dura su administración, de la vía de administración, de la tasa de eliminación, y de factores bien conocidos en la técnica, incluyendo, por ejemplo, los fármacos administrados en forma simultánea, etc. La composición de la vacuna de la presente invención puede ser utilizada como una medicina única o en combinación con otros medicamentos administrados al mismo tiempo o en forma secuencial, y puede ser administrada en dosis únicas o en dosis múltiples. Teniendo en cuenta los factores mencionados anteriormente, es importante determinar la dosis que provoca máximos efectos terapéuticos sin efectos secundarios indeseables, lo cual es fácil para aquellos capacitados en la técnica.

De acuerdo con un aspecto adicional de la misma, la presente invención se relaciona con un kit de ensayo para la detección del virus de la influenza serotipo H3N2, que comprende al virus de la influenza de la presente invención o a una proteína HA y NA del mismo.

A través de una reacción del complejo antígeno-anticuerpo, el virus de la influenza de la presente invención o una proteína HA y NA del mismo son útiles en la detección específica de los virus de la influenza, así como en la exterminación de los virus de la influenza en células infectadas con el mismo.

Este kit de ensayo comprende herramientas/reactivos utilizados generalmente en el campo inmunológico, así como al virus de la influenza de la presente invención. Los ejemplos de las herramientas/reactivos incluyen portadores adecuados, marcadores que producen señales detectables, solubilizantes, detergentes, amortiguadores, estabilizantes, etc., pero no se limitan a ellos. Cuando los marcadores son enzimas, el kit puede comprender además sustratos para analizar la actividad enzimática y terminadores de la reacción. Los ejemplos de portadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, portadores solubles, tales como amortiguadores fisiológicamente aceptables bien conocidos en la técnica, por ejemplo, PBS, portadores insolubles, tales como poliestireno, polietileno, polipropileno, poliéster, poliacrilonitrilo, resina de flúor, dextrano para entrecruzamiento, polisacárido, etc., micropartículas magnéticas, tales como látex recubierto con metal, papel, vidrio, metal, agarosa, y combinaciones de los mismos.

En cuanto a un ensayo para la formación de complejos antígeno-anticuerpo, los ejemplos del mismo incluyen tinción inmunohistoquímica, un radioinmunoensayo (RIA), un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), transferencias tipo Western, un ensayo de inmunoprecipitación, un ensayo de inmunodifusión, un ensayo de fijación del complemento, FACS, y un chip de proteína, pero no se limita a ellos.

Los marcadores para permitir el análisis cualitativo o cuantitativo del complejo antígeno-anticuerpo se ejemplifican por medio de enzimas, compuestos fluorescentes, ligandos, compuestos luminiscentes, micropartículas, moléculas redox y radioisótopos, pero no se limitan a estos. Los ejemplos de enzimas útiles como marcadores detectables incluyen β -glucuronidasa, β -D-glucosidasa, β -D-galactosidasa, ureasa, peroxidasa, fosfatasa alcalina, acetilcolina esterasa, glucosa oxidasa, una combinación de hexoquinasa y GDPasa, ARNasa, una combinación de glucosa oxidasa y luciferasa, fosfofructoquinasa, fosfoenolpiruvato carboxilasa, aspartato aminotransferasa, fosfoenolpiruvato descarboxilasa, y β -lactamasa, pero no se limita a ellas. Los ejemplos ilustrativos, no limitativos de los compuestos fluorescentes útiles en la presente invención incluyen fluoresceína, isotiocianato, rodamina, ficoeritrina, ficocianina, alofocianina, o-ftaldehído, y fluorescamina. Un derivado de biotina puede ser utilizado como el ligando, pero no limita el alcance de la presente invención. Éster de acridinio, luciferina y luciferasa son útiles como luminiscentes, pero esta lista no pretende limitar el alcance de la presente invención. Micropartículas ilustrativas, no limitantes incluyen oro coloidal, látex revestido, etc. Como moléculas redox útiles en la presente invención, están ferroceno,

complejo de rutenio, viológeno, quinona, ion Ti, ion Cs, diimida, 1,4-benzoquinona, hidroquinona, $K_4W(CN)_8$, $[Os(bpy)_3]^{2+}$, $[Ru(bpy)_3]^{2+}$, y $[Mo(CN)_8]^{4-}$, que se presentan únicamente para efectos ilustrativos, pero no se pretende que limiten el alcance de la presente invención. Los ejemplos de radioisótopos útiles en la presente invención incluyen 3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{35}Cl , ^{51}Cr , ^{57}Co , ^{58}Co , ^{59}Fe , ^{90}Y , ^{125}I , ^{131}I , y ^{186}Re , pero no se limitan a ellos.

5 Ejemplos

Una mejor comprensión de la presente invención puede ser obtenida a través de los siguientes ejemplos, que se exponen como ilustración, pero no deben interpretarse como limitantes de la presente invención.

Ejemplo 1: Muestreo del espécimen y aislamiento del virus

10 Los especímenes se tomaron de los perros que fueron tratados en hospitales veterinarios ubicados en Kyeonggi-Do, Corea: Un perro Schnauzer miniatura de cinco años sufría de rinorrea durante tres días y de estornudos durante dos días y luego se recuperó de la gripe; un perro Cocker Spaniel de tres años de edad que sufría de fiebre, tos, rinorrea y falta de apetito y que finalmente murió; un perro de Yorkshire Terrier y dos perros Jindo que sufrían de tos severa, fiebre y rinorrea y que murieron 2 días después de la hospitalización.

15 Se identificó que todos estos animales estaban infectados con el virus de la influenza tipo A según el análisis realizado con un kit rápido, adquirido de Anigen, y RT-PCR. No se detectaron otros patógenos en los perros.

20 Las muestras (secreciones nasales) de los animales fueron inoculadas en huevos de 11 días de edad, después de lo cual se muestreó fluido corioalantoico de los mismos. Se encontró que el fluido añadió eritrocitos de pollo. Los virus aislados de los animales fueron identificados serológicamente como un serotipo H3N2. Estos virus fueron llamados A/Canine/Korea/01/07 (H3N2), A/Canine/Korea/02/07 (H3N2) y A/Canine/Korea/03/07 (H3N2) y fueron depositados en la Colección Coreana para Cultivos Tipo (KCTC) del Instituto de Investigación de Corea de Biociencia y Biotecnología, ubicado en Eoeun-dong, Yusung Gu, ciudad de Daejeon, Corea del Sur el 19 de septiembre de 2007, con los números de acceso KCTC 11205BP, KCTC 11206BP y KCTC 11207BP, respectivamente.

Ejemplo 2: Características genéticas de los virus aislados.

25 Las características genéticas de los virus aislados en el ejemplo 1 se determinaron mediante análisis genéticos. Se utilizó como molde ARN total del virus de la influenza aislado del fluido corioalantoico utilizando Trizol LS para la RT-PCR utilizando iniciadores hexámeros al azar, seguido por PCR utilizando los iniciadores que se muestran en la Tabla 1. Las secuencias de los iniciadores para amplificar los genes H3, N2, PBL, PB2, PA, NP, M y NS fueron diseñadas utilizando un programa Primer 3 modificado (Instituto Whitehead/Centro MT para Investigación del Genoma).

30 Se mezcló ADNc (2 μ l) con una mezcla de reactivos {2,5 μ l, amortiguador Taq ADN polimerasa 10X, $MgCl_2$ 1,5 mM, los dNTP (2,5 mM / μ l) 2,0 μ l, 1 μ l de cada iniciador (10 pmol), 1 μ l de Taq ADN polimerasa (Promega, EUA)} y el se ajustó el volumen final a 25 μ l con agua destilada para preparar una mezcla de PCR. Se inició la PCR por medio de la desnaturalización a 94° C durante 10 min, y se realizó con 32 ciclos de desnaturalización a 96° C durante 30 segundos, hibridación a 53° C durante 30 segundos, y extensión a 72° C durante 2 minutos, seguido por extensión a 72° C durante 10 min. Se terminó la PCR a 4° C. El producto de la PCR así obtenido se analizó por electroforesis en gel de agarosa al 1,5% que contenía bromuro de etidio. Los datos de la secuencia así obtenidos se analizaron con el software Bioedit.

Tabla 1

Secuencias del iniciador para la PCR		
Genes Objetivo	Secuencia del iniciador (5' → 3')	Productos de la PCR
H3	CARATTGARGTGACHAATGC (SEQ ID NO 15)	720 pb
	GGTGCATCTGAYCTCATTA (SEQ ID NO 16)	
N2	TGTTCCGTTTCATTTGGGAA (SEQ ID NO 17)	477 pb
	CCAACAAGCCCTGAACACAC (SEQ ID NO 18)	
PB1	AAAGTGCCAGCACAAAATGC (SEQ ID NO 19)	764 pb
	TTCTCACAGATGCTCCTCGC (SEQ ID NO 20)	
PB2	TCATGGAGGTCGTTTTTCCA (SEQ ID NO 21)	661 pb
	TGAATCAGCCTTCTGGTTGC (SEQ ID NO 22)	
PA	GAAAGTGAGCGCCAAAATTGA (SEQ ID NO 23)	477 pb
	CTCTGGCTCATCGCTGTCAT (SEQ ID NO 24)	
NP	ACGGTCTGCACTCATCCTGA (SEQ ID NO 25)	602 pb
	GCCCCTGGAAAGACACATCT (SEQ ID NO 26)	
M	AACATTCCATGGGGCTAAGG (SEQ ID NO 27)	456 pb
	CGGCAATAACGAGAGGATCA (SEQ ID NO 28)	
NS	GACTGGTTCATGCTCATGCC (SEQ ID NO 29)	844 pb
	GAGAGAGTGAAGGTCCCCCA (SEQ ID NO 30)	

5 Se secuenciaron las bases de ocho segmentos de genes de *A/Canine/Korea/01/07* (H3N2) y se compararon con los genes del GenBank (SEQ ID NOS. 1 a 12). Se encontró que los virus de acuerdo con la presente invención tienen 95,5 a 98,9% de homología con los virus de la influenza aviar previamente conocidos (Tabla 2). Particularmente, los virus de acuerdo con la presente invención compartían la mayor homología con S11, que se aisló en Corea, en términos de los genes que codifican para HA y NA, y con una cepa aislada de pollos en China en términos del gen que codifica para NS. En cuanto a los genes que codifican para PBL, PB2, PA, NP y M, se detectaron grandes homologías entre los virus de la presente invención y los virus de la influenza aviar aislados en Hong Kong, Japón y 10 China. Se encontró que los genes que codifican para HA y NA tienen 98% - 99% de homología entre los virus de la presente invención, *A/Canine/Korea/01/07*, los *A/Canine/Korea/02/07* y *A/Canine/Korea/03 07*, lo que indica que son sustancialmente los mismos.

Tabla 2

Comparación de la homología genética de los virus de la influenza canina					
Virus	Gen	Virus altamente homólogos	Tipo de Virus de la Influenza del Segmento de ARN	Homología (%)	Nos. de registro
A/Canino/Korea/01/07	HA	A/Chicken/Korea/S6/03 (H3N2)	Aviar	96,6	AY862607
	NA	A/Dove/Korea/S11/03 (H3N2)	Aviar	97,4	AY862644
	PB1	A/Duck/Yangzhou/02/2005 (H8N4)	Aviar	98,9	EF061124
	PB2	A/Duck/Zhejiang/11/2000 (H5N1)	Aviar	97,6	A585523
	PA	A/Duck/Hokkaido/120/2001 (H6N2)	Aviar	95,9	AB286878
	NP	A/Duck/Hong Kong/Y439/97 (H9N2)	Aviar	95,5	AF156406
	M	A/Duck/Jiang Xi/1850/2005 (H5N2)	Aviar	97,5	EF597295
	NS	A/Chicken/Nanchang/7-010/2000 (H3N6)	Aviar	97,5	AT180648

Ejemplo 3: Filogenia de los virus aislados

- 5 Se determinó la posición de A/Canine/Korea/01/07 en un árbol filogenético usando un algoritmo de alineamiento Clustal y el software MEGALIGN (DNASTAR, Madison, WI). Desde un punto de vista de los genes que codifican para HA y NA, se identificó que el virus de la presente invención pertenecía a un grupo diferente del grupo de los virus H3N8 previamente aislados de caballos y perros, y mostraron una relación genética muy estrecha con los virus H3N2 aislados en Corea (FIGS. 4 y 5).

Ejemplo 4: Ensayo para determinar la patogenicidad de los virus aislados

- 10 A fin de examinar la patogenicidad de los mismos, se inoculó A/Canine/Korea/01/07 (H3N2) en perros.

- 15 Diez sabuesos de 10 semanas de edad se dividieron en un grupo de prueba de 7 perros y un grupo control de 3 perros. A los siete sabuesos en el grupo de prueba se les administró por vía intranasal y oral el virus aislado (2 ml) con un título de HA de 1:64 ($10^{6,9}$ EID₅₀/0,1 ml), mientras que los tres sabuesos en el grupo control se les administró por vía intranasal y oral PBS libre de patógenos (solución salina de amortiguador de fosfato, 2 ml), seguido por un seguimiento de los síntomas clínicos durante 7 días. La descarga de virus a través de las excreciones y de rinorrea se controló utilizando la RT-PCR durante 10 días a partir del día de la inoculación. Se llevó a cabo un estudio serológico mediante un ELISA competitivo (Animal Genetics Inc., Corea) con una NP recombinante (nucleoproteína) que sirve como antígeno. Se analizaron también las muestras de suero con el fin de detectar los anticuerpos con la

NP recombinante, según lo recomendado por la OIE. Dos sabuesos del grupo de prueba y un sabueso del grupo de control fueron sometidos uno por uno a eutanasia con 1 ml de xilazina a los 3, 6 y 9 días después de la inoculación y se llevó a cabo la autopsia a fin de observar las lesiones patológicas.

5 Del día 2 al día 7 después de la inoculación, se observaron los sabuesos que sufrían de síntomas clínicos, incluyendo los estornudos y rinorrea. La temperatura rectal se mantuvo a 39° C en los sabuesos del grupo de control durante todo el experimento, pero aumentó a 40,14° C en promedio en los sabuesos del grupo de prueba 24 h después de la inoculación (FIG. 6).

10 Las pruebas serológicas fueron negativas para los virus en todos los perros del experimento antes de la inoculación, y se mantuvieron negativas en los sabuesos en el grupo de prueba durante el experimento. Los ELISA mostraron un porcentaje de inhibición mucho mayor en el grupo de prueba que en el grupo de control 6 días después de la inoculación, lo que indica que se produjeron anticuerpos. En forma muy interesante, se encontró que los sabuesos inoculados tenían un título de HI de 1:80 8 días después de la inoculación.

15 Se encontró el virus en la secreción nasal de los sabuesos inoculados durante 6 días después de la inoculación, pero no se detectó en la excreción. Típicamente, el virus de la influenza canina comenzó a ser descargado de los perros 1 día después de la infección y alcanzó un pico con un título de $10^{6.0}$ EID₅₀/0,1 ml 4 días después de la infección.

20 Se encontró que las lesiones histopatológicas se limitaban a los pulmones. Histológicamente, se descubrieron graves lesiones necróticas en las vías respiratorias altas (bronquios) y las vías respiratorias inferiores (bronquiolos y alveolos). La bronquiolitis y la bronquitis, aunque algo diferente en la extensión de las mismas, se produjeron en todos los sabuesos inoculados (figura 7).

En consecuencia, se identificó que el virus aislado era patógeno en los perros, causando un aumento de la temperatura corporal y la neumonía. Además, se encontró que los virus fueron descargados durante 6 días.

Ejemplo 5: Preparación de la vacuna

25 El virus de la influenza canina recientemente aislado A/Canine/Korea/01/07 (H3N2) fue sembrado en las membranas corioalantoicas de huevos embrionados de 10 días de edad. Tres días más tarde, se recolectó una muestra de fluido corioalantoico como carga viral. A esta carga viral se le añadió formalina al 0,2%, seguido por incubación a temperatura ambiente durante 24 horas para la inactivación de la misma. Se determinó que la carga viral se inactivaba cuando no se detectaba progenie viral después de que la carga viral había sido nuevamente inoculada en los huevos embrionados. Se concentró la carga viral inactivada en 2⁵ HAU o superior. Se mezcló esta carga en una relación de 7:3 con gel de hidróxido de aluminio por medio de agitación a 10.000 rpm durante 10 min. Después de una prueba negativa para los virus, se utilizó la mezcla como vacuna.

Ejemplo 6: Inoculación agresiva después de la vacunación

35 La vacuna preparada fue inyectada por vía subcutánea en una dosis de 0,5 ml en diez perros sabuesos, cada uno de 10 semanas de edad, y adicionalmente inyectada en la misma forma que tres semanas más tarde. Dos semanas después de la inyección secundaria, se inocularon agresivamente los sabuesos con una dosis de 2 ml a través de una vía oral o intranasal, con el virus aislado A/Canine/Korea/01/07 (H3N2), que tiene un título de HA de 1:64 ($10^{6.9}$ EID₅₀/0,1 ml). Como control, se inocularon tres sabuesos con PBS antes de la inoculación agresiva. Se controlaron los animales experimentales por medio de la temperatura corporal, la producción de virus, los síntomas clínicos y el título de anticuerpos durante el experimento.

40 Incluso después de la inoculación, los sabuesos vacunados no mostraron cambios corporales, no descargaron progenie viral, y no mostraron síntomas clínicos. En contraste, el control aumentó la temperatura corporal una semana después de la inoculación (Tabla 3). La PCR mostró que se descargó la progenie viral en los tres sabuesos en el grupo control, pero no fue descargada por ninguno de ellos 6 días después de la inoculación (Tabla 4). Además, se observó que el grupo control sufría de síntomas clínicos, incluyendo rinorrea y tos, tal como la tos de las perreras o la tos productora de húmeda. En cuanto al título de anticuerpos, comienza a aumentar con respecto al anticuerpo de ELISA para la nucleoproteína y el anticuerpo HI para hemaglutinina durante el período de tiempo experimental que se inicia 7 días después de la inoculación agresiva en los sabuesos vacunados (Tabla 5). Sin embargo, el control comenzó a aumentar en el título de anticuerpos con nucleoproteína y hemaglutinina que se inicia 7 días después de la inoculación agresiva.

50 Por lo tanto, se encontró que los sabuesos vacunados tienen una defensa contra la inoculación agresiva, lo que indica que la composición de la vacuna de la presente invención es útil como una vacuna contra el virus de la influenza.

Tabla 3

Temperatura corporal en animales vacunados y no vacunados después de inoculación agresiva (refuerzo el día 21, inoculación agresiva el día 35)		
Días después de la vacunación	Grupo vacunado	Control (no vacunado)
0	37,8 ± 0,1	38,2 ± 0,2
7	37,6 ± 0,2	37,8 ± 0,1
14	38,4 ± 0,1	38,0 ± 0,2
21	38,2 ± 0,1	37,6 ± 0,1
28	38,1 ± 0,2	38,3 ± 0,1
35	38,3 ± 0,2	37,6 ± 0,1
36	40,2 ± 0,3	38,3 ± 0,2
37	40,6 ± 0,1	38,0 ± 0,3
38	39,84 ± 0,2	38,0 ± 0,2
39	39,3 ± 0,1	37,6 ± 0,1
40	38,9 ± 0,2	38,3 ± 0,1
41	38,7 ± 0,1	37,6 ± 0,1
42	38,6 ± 0,1	38,0 ± 0,1
49	38,0 ± 0,1	38,0 ± 0,1
* No. de positivos de la PCR / No. de PCR Analizados		

Tabla 4

Descarga de virus de animales vacunados y no vacunados después de inoculación agresiva (refuerzo el día 21, inoculación agresiva el día 35)		
Días después de la vacunación	Grupo vacunado	Control (no vacunado)
0	0/10*	0/3
7	0/10	0/3
14	0/10	0/3
21	0/10	0/3
28	0/10	0/3

(continuación)

Descarga de virus de animales vacunados y no vacunados después de inoculación agresiva (refuerzo el día 21, inoculación agresiva el día 35)		
Días después de la vacunación	Grupo vacunado	Control (no vacunado)
35	0/10	0/3
36	0/10	3/3
37	0/10	3/3
38	0/10	3/3
39	0/10	3/3
40	0/10	2/3
41	0/10	0/3
42	0/10	0/3
49	0/10	0/3
* Valor positivo de PI		

Tabla 5

Título de anticuerpos en animales vacunados y no vacunados después de inoculación agresiva (refuerzo el día 21, inoculación agresiva el día 35)				
Días después de la vacunación	Grupo vacunado		Control (no vacunado)	
	ELISA*	HI	ELISA	HI
0	14	< 10	12	< 10
7	89	10	20	< 10
14	87	40	14	< 10
21	96	40	19	< 10
28	89	80	26	< 10
35	94	80	18	< 10
42	92	80	97	80
49	98	160	92	160

5

Aplicación industrial

Como se ha descrito hasta ahora, la presente invención proporciona nuevos virus de la influenza canina y una vacuna contra los mismos. Capaz de inducir una inmunidad efectiva contra el virus de la influenza canina, la vacuna

ES 2 383 158 T3

es útil en la prevención y el tratamiento de las enfermedades relacionadas con el virus de la influenza en perros y en los individuos infectados en forma secundaria por los perros.

<110> Animal Genetics, Inc.

<120> Un nuevo virus de influenza canina y la vacuna correspondiente

5 <160> 32

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 722

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Gen parcial que codifica para HA de A/Canine/Korea/01/07(H3N2)

<400> 1

```

cagattgagg tgaccaatgc cactgagcta gtccaaaact cctcaacagg gaaaatatgc      60
aacaatcccc acaagattct tgatgggagg gactgcacac taatagatgc cctactaggg      120
gacccgcact gtgatgtctt ccaaaatgag acatgggacc tttttgtgga acgaagcaat      180
gcttttagca attgttacc ttatgatgta ccagactatg catcccttcg atccatagtt      240
gcatcatcag gcacattgga gttcatcact gaaggtttca cttgggcagg agtaactcaa      300
aatagaggaa gcggtgcttg caaaagggga cctgctaata gtttcttcag tagattgaat      360
tggttaacta agtcaggaaa tacatatcca gtggtgaatg tgactatgcc aaacaataac      420
aatttcgaca aattatacat ttggggagtt catcacccaa gcactaatca agaacaaacc      480
agcctgtata ttcaggcctc aggaagagtc acagtctcta ccaggagaag ccaacagacc      540
ataatcccaa acattggatc tagacccttg gtaaggggcc aatctggcag aataagcgta      600
tattggacaa tagtcaaacc tggagacgta ctggtaataa acagtaatgg aaacctaatac      660
gctcctcgag gctacttcaa aatgcgcatg gggaaaagct caataatgag atcagatgca      720
cc

```

15 <210> 2

<211> 477

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

20 <223> Gen parcial que codifica para NA de A/Canine/Korea/01/07(H3N2)

<400> 2

ES 2 383 158 T3

ccaacaagcc ctgaacacac ataactggaa tcgatgctat aatctgccat atttatatct 60
 ataacggggc tattagagcc cttccaattg tctctgcaaa cacatctaac atttggatat 120
 cgaggataac aggaacattc ctctatatgt tgagcactcc ctgacaatgg gctaatatgg 180
 acaattttcc cctctctgat gaatagtatt ctagtatcag cccttcctga tgcacttcca 240
 tcagtcatta ctactgtaca agttccatta atgcaaacgc attctgactc ctgagttctg 300
 aggatatttc gagaccatga accaatactg tcaacaagca ttccattata aacgaaacta 360
 gcagtcgcat ttctatcatc cccagtgaca caaacatgta accatgcttt cccatcgtga 420
 caacttgaac tggaccatgc tatgcacact tgtttggttc ccaaatgaaa cggaaca 477

<210> 3

<211> 240

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Gen parcial que codifica para NS de A/Canine/Korea/01/07(H3N2)

<400> 3

tggaccaggc aataatggat aaaaacatca cattgaaagc aaacttcagt gtgatttttg 60
 agcgactgga aaccctaata ctacttagag ctttcacaaa cgaaggagca attgtgggag 120
 aaatttcacc gttaccttct cttccaggac atactgataa ggatgtcaaa aatgcaattg 180
 gggtcctcat cggaggactg gaatggaatg ataacacagt tcgagtctct gaaactctac 240
 240

10 <210> 4

<211> 406

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Gen parcial que codifica para M de A/Canine/Korea/01/07(H3N2)

<400> 4

ES 2 383 158 T3

gcacttgcca gttgtatggg tctcatatac aacaggatgg gaacagtgac cacagaagtg 60
gcttttggcc tagtgtgtgc cacctgtgag cagattgctg attcacagca tcgggtcccac 120
aggcagatgg taactaccac caaccacta atcaggcatg aaaacaggat ggtgctagcc 180
agcaccacag ctaaggctat ggagcagatg gctgggtcga gtgagcaggc agcggaagcc 240
atggaggttg ccagtcaggc taggcagatg gtgcaagcaa tgaggacaat tggaactcac 300
cctagctcca gtgccggtct gaaagatgat cttcttgaaa acttgcaggc ctaccagaaa 360
cggatgggag tgcaaatgca gcgatttaag tgatcctccg tttatt 406

<210> 5

<211> 582

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Gen parcial que codifica para NP de A/Canine/Korea/01/07(H3N2)

<400> 5

tcacctgag aggatcagtg gcccataagt cctgcttgcc tgcttgtgtg tacggacttg 60
ccgtggccag tggatatgat tttgagagag aagggtactc tctggttgga atagatcctt 120
tccgtctgct tcaaaacagc caggtcttca gtctcattag accaaatgag aatccagcac 180
ataagagtca gttggtgtgg atggcatgcc attctgcagc atttgaggac ctaagagtct 240
caagtttcat cagaggaaca agagtaattc caagaggaca actatccacc agaggagttc 300
aaattgcttc aatgagaac atggaaaaaa tagactccag tactcttgaa ctgagaagca 360
gatattgggc tataagaacc aggagtggag ggaacaccaa ccaacagaga gcatctgcag 420
gacaaatcag tgtacagcca actttctcgg tacagagaaa tattcccttc gagcgagcta 480
ccattatggc aacattcaca gggaatactg agggcagaac atctgacatg cggactgaaa 540
10 tcataagaat gatggaaagt gccaaaccag aagatgtgtc tt 582

<210> 6

<211> 438

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Gen parcial que codifica para PA de A/Canine/Korea/01/07(H3N2)

<400> 6

ES 2 383 158 T3

cgccaaaatt gaaccat ttt tgaagacaac accacgccct ctcagattac ctgatgggcc 60
 tccctgcacc caacggtcaa aattcttgct gatggatgct ctgaacctaa gcattgaaga 120
 cccgagtcac gagggggagg ggataccgct atacgatgcg atcaaatgca ctgaagacat 180
 ttttcggctg gaaagagccc aacataacca aaccacatga gaaaggcata aacccaatt 240
 atctcttggc ttggaaacag gtgctagcag agctccagaa tattgaaaat gaggagaaaa 300
 tcccaaagac aaagaatatg aagaaaacaa gccaatataa atgggtagct tggtgaaaat 360
 atggcaccag aaaaagtgga ctttgaggat tgcaaggatg ttagcgacct aaaacaatat 420
 gacagcgatg agccagag 438

<210> 7

<211> 592

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Gen parcial que codifica para PB2 de A/Canine/Korea/01/07(H3N2)

<400> 7

aattgacaat aacaaaagag aagaaggaag agctccaaga ttgtaagatt gctcctttaa 60
 tgggtggcata catgttgaa agagaactgg tccgcaaac caggttccta ccggtagcag 120
 gcggaacaag cagtgtgtac attgaggtat tgcatttgac acaagggacc tgctgggaac 180
 agatgtacac tccagggcga gaagtgagaa atgacgatgt tgaccagagt ttgatcatcg 240
 ccgccagaaa cattgttagg agagcaacgg tatcagcgga tccactggca tcaactgctgg 300
 agatgtgcca cagcacacia attggtggga taaggatggt ggacatcctt aggcaaaatc 360
 caactgagga acaagctgtg gatatatgca aagcagcaat gggtttgagg atcagttcat 420
 cctttagctt tggaggctt actttcaaaa gaacaagtgg gtcacccgtc aagaaggaag 480
 aggaagtgct cacaggaaac ctccaaacat tgaaaataag agtacatgag gggtatgagg 540
 aattcacaat agttgggcgg agagcaacag ctatcctaag gaaagcaacc ag 592

10 <210> 8

<211> 603

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> Gen parcial que codifica para PB1 de A/Canine/Korea/01/07(H3N2)

<400> 8

ES 2 383 158 T3

```

ggacaacaaa cacagagact ggagacccc aactcaatcc aattgatgga cactacccg      60
aggataatga gccaagcggg tatgcacaaa cagattgtgt gttggaagca atggctttcc    120
ttgaagagtc ccaccaggg atctttgaaa actcatgtat tgaaacgatg gaagttgttc    180
agcaaacaa agtggacaaa ttgacccaag gtcgccagac ctatgactgg acattgaata    240
gaaaccagcc ggctgcaact gctttggcca atactataga ggtcttcaga tcgaacggtc    300
taacagccaa tgaatcggga agactaatag atttccttaa ggatgtaatg gaatcaatgg    360
acaaagaaga gatggagata acaacacatt tccagagaaa aagaagagta agggacaaca    420
tgaccaagaa aatggtcaca cagaggacaa tagggaagaa aaagcagagg ctgaacaaga    480
ggagctacgt aataagagca ctgacattga acacaatgac caaggatgca gaaagaggca    540
aattgaagag gcgggcaatt gcaacacccg ggatgcagat cagagggttc gtgtactttg    600
ttg                                                                           603

```

<210> 9

<211> 1701

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Gen completo que codifica para HA de A/Canine/Korea/01/07(H3N2)

<220>

<221> CDS

10 <222> (1)..(1698)

<223> Aminoácidos de HA de A/Canine/Korea/01/07(H3N2)

<400> 9

ES 2 383 158 T3

atg	aag	acc	gtt	att	gct	tta	agc	tac	att	ttc	tgc	ctg	gct	ttt	ggt	48
Met	Lys	Thr	Val	Ile	Ala	Leu	Ser	Tyr	Ile	Phe	Cys	Leu	Ala	Phe	Gly	
1				5					10					15		
cag	aat	ctt	cca	gga	aat	gaa	aat	aat	gct	gca	aca	cta	tgc	ctg	gga	96
Gln	Asn	Leu	Pro	Gly	Asn	Glu	Asn	Asn	Ala	Ala	Thr	Leu	Cys	Leu	Gly	
			20					25					30			
cat	cat	gca	gtg	ccg	aac	ggg	aca	ata	gtg	aaa	act	atc	aca	gac	gat	144
His	His	Ala	Val	Pro	Asn	Gly	Thr	Ile	Val	Lys	Thr	Ile	Thr	Asp	Asp	
		35					40					45				
caa	att	gag	gtg	acc	aac	gcc	acc	gag	cta	gtc	caa	aac	tcc	tca	aca	192
Gln	Ile	Glu	Val	Thr	Asn	Ala	Thr	Glu	Leu	Val	Gln	Asn	Ser	Ser	Thr	
	50					55					60					
ggg	aaa	ata	tgc	aac	aat	ccc	cac	aag	att	ctt	gat	ggg	agg	gac	tgc	240
Gly	Lys	Ile	Cys	Asn	Asn	Pro	His	Lys	Ile	Leu	Asp	Gly	Arg	Asp	Cys	
65				70						75					80	
aca	cta	ata	gat	gcc	cta	cta	ggg	gac	ccg	cac	tgt	gat	gtc	ttc	caa	288
Thr	Leu	Ile	Asp	Ala	Leu	Leu	Gly	Asp	Pro	His	Cys	Asp	Val	Phe	Gln	
				85					90					95		

aat	gag	aca	tgg	gac	ctt	ttt	gtg	gaa	cga	agc	aat	gct	ttt	agc	aat	336
Asn	Glu	Thr	Trp	Asp	Leu	Phe	Val	Glu	Arg	Ser	Asn	Ala	Phe	Ser	Asn	
			100					105					110			
tgt	tac	cct	tat	gat	gta	cca	gac	tat	gca	tcc	ctt	cga	tcc	ata	gtt	384
Cys	Tyr	Pro	Tyr	Asp	Val	Pro	Asp	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	Ser	Ile	Val	
		115					120					125				
gca	tca	tca	ggc	aca	ttg	gag	ttc	atc	act	gaa	ggt	ttc	act	tgg	aca	432
Ala	Ser	Ser	Gly	Thr	Leu	Glu	Phe	Ile	Thr	Glu	Gly	Phe	Thr	Trp	Thr	
	130					135					140					
gga	gta	act	cag	aat	gga	gga	agc	ggt	gct	tgc	aaa	agg	gga	cct	gct	480
Gly	Val	Thr	Gln	Asn	Gly	Gly	Ser	Gly	Ala	Cys	Lys	Arg	Gly	Pro	Ala	
145					150					155					160	
aat	ggt	ttc	ttc	agt	aga	ttg	aat	tgg	tta	act	aag	tca	gga	aat	aca	528
Asn	Gly	Phe	Phe	Ser	Arg	Leu	Asn	Trp	Leu	Thr	Lys	Ser	Gly	Asn	Thr	
				165					170					175		
tat	cca	gtg	ttg	aat	gtg	act	atg	cca	aac	aat	aac	aat	ttc	gac	aaa	576
Tyr	Pro	Val	Leu	Asn	Val	Thr	Met	Pro	Asn	Asn	Asn	Asn	Phe	Asp	Lys	
			180					185					190			
tta	tac	att	tgg	gga	gtt	cat	cac	cca	agc	act	aat	caa	gaa	caa	acc	624
Leu	Tyr	Ile	Trp	Gly	Val	His	His	Pro	Ser	Thr	Asn	Gln	Glu	Gln	Thr	
		195					200					205				
agc	ctg	tat	att	cag	gcc	tca	gga	aga	gtc	aca	gtc	tct	acc	agg	aga	672
Ser	Leu	Tyr	Ile	Gln	Ala	Ser	Gly	Arg	Val	Thr	Val	Ser	Thr	Arg	Arg	
	210					215					220					
agc	caa	cag	acc	ata	atc	cca	aac	att	gga	tct	aga	ccc	ttg	gta	agg	720
Ser	Gln	Gln	Thr	Ile	Ile	Pro	Asn	Ile	Gly	Ser	Arg	Pro	Leu	Val	Arg	
225					230					235				240		
ggc	caa	tct	ggc	aga	ata	agc	gta	tat	tgg	aca	ata	gtc	aaa	cct	gga	768
Gly	Gln	Ser	Gly	Arg	Ile	Ser	Val	Tyr	Trp	Thr	Ile	Val	Lys	Pro	Gly	
				245					250				255			
gac	gta	ctg	gta	ata	aac	agt	aat	gga	aac	cta	atc	gct	cct	cga	ggc	816
Asp	Val	Leu	Val	Ile	Asn	Ser	Asn	Gly	Asn	Leu	Ile	Ala	Pro	Arg	Gly	
			260					265					270			
tac	ttc	aaa	atg	cgc	att	ggg	aaa	agc	tca	ata	atg	aga	tca	gat	gca	864
Tyr	Phe	Lys	Met	Arg	Ile	Gly	Lys	Ser	Ser	Ile	Met	Arg	Ser	Asp	Ala	
		275					280					285				
cct	att	gac	acc	tgc	att	tcc	gaa	tgt	atc	act	ccg	aac	ggg	agc	atc	912
Pro	Ile	Asp	Thr	Cys	Ile	Ser	Glu	Cys	Ile	Thr	Pro	Asn	Gly	Ser	Ile	
	290					295					300					
ccc	aat	gac	aag	ccc	ttc	caa	aat	gta	aac	aag	atc	aca	tac	gga	gca	960
Pro	Asn	Asp	Lys	Pro	Phe	Gln	Asn	Val	Asn	Lys	Ile	Thr	Tyr	Gly	Ala	
305					310					315					320	
tgt	ccc	aaa	tat	gtt	aag	caa	aac	acc	ttg	aaa	ctg	gca	aca	gga	atg	1008
Cys	Pro	Lys	Tyr	Val	Lys	Gln	Asn	Thr	Leu	Lys	Leu	Ala	Thr	Gly	Met	
				325					330					335		
cgg	aat	gtc	cct	gag	agg	caa	acc	aga	ggc	ctg	ttc	ggc	gca	ata	gca	1056
Arg	Asn	Val	Pro	Glu	Arg	Gln	Thr	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala	
			340					345					350			
ggt	ttc	ata	gaa	aat	gga	tgg	gaa	ggg	atg	gta	gac	ggt	tgg	tat	ggc	1104
Gly	Phe	Ile	Glu	Asn	Gly	Trp	Glu	Gly	Met	Val	Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly	
		355					360					365				
ttc	agg	cac	caa	aat	tcc	gaa	ggt	aca	gga	caa	gca	gca	gac	ctt	aaa	1152
Phe	Arg	His	Gln	Asn	Ser	Glu	Gly	Thr	Gly	Gln	Ala	Ala	Asp	Leu	Lys	

ES 2 383 158 T3

370					375					380						
agc Ser 385	act Thr	cag Gln	gca Ala	gcc Ala	att Ile 390	gac Asp	cag Gln	att Ile	aat Asn	ggg Gly 395	aaa Lys	ttg Leu	aac Asn	aga Arg	gtg Val 400	1200
att Ile	gaa Glu	aaa Lys	acg Thr	aat Asn 405	gag Glu	aag Lys	ttc Phe	cat His	caa Gln 410	atc Ile	gaa Glu	aag Lys	gag Glu	ttt Phe 415	tcc Ser	1248
gaa Glu	gta Val	gaa Glu	ggg Gly 420	agg Arg	att Ile	caa Gln	gac Asp	ctt Leu 425	gag Glu	aga Arg	tac Tyr	gtt Val	gaa Glu 430	gac Asp	aca Thr	1296
aaa Lys	gta Val	gat Asp 435	ctt Leu	tgg Trp	tct Ser	tac Tyr	aat Asn 440	gcc Ala	gag Glu	ctt Leu	ctt Leu	gtt Val 445	gct Ala	tta Leu	gaa Glu	1344
aac Asn	cag Gln 450	aaa Lys	aca Thr	att Ile	gat Asp	tta Leu 455	act Thr	gat Asp	tca Ser	gaa Glu	atg Met 460	aac Asn	aaa Lys	ttg Leu	ttt Phe	1392
gaa Glu 465	aag Lys	act Thr	agg Arg	agg Arg	caa Gln 470	ttg Leu	agg Arg	gaa Glu	aat Asn	gct Ala 475	gaa Glu	gac Asp	atg Met	ggc Gly	aat Asn 480	1440
ggc Gly	tgc Cys	ttc Phe	aag Lys	ata Ile 485	tac Tyr	cac His	aag Lys	tgt Cys	gac Asp 490	aat Asn	gct Ala	tgc Cys	ata Ile	gaa Glu 495	tcg Ser	1488
att Ile	aga Arg	aac Asn	gga Gly 500	act Thr	tat Tyr	gac Asp	cat His	aac Asn 505	ata Ile	tat Tyr	aga Arg	gat Asp	gag Glu 510	gca Ala	gtg Val	1536
aac Asn	aat Asn	cgg Arg 515	ttc Phe	cag Gln	atc Ile	aaa Lys	ggt Gly 520	gtt Val	gag Glu	cta Leu	aag Lys	tct Ser 525	gga Gly	tac Tyr	aaa Lys	1584
gac Asp	tgg Trp 530	atc Ile	ttg Leu	tgg Trp	att Ile	tcc Ser 535	ttt Phe	gcc Ala	ata Ile	tca Ser	tgc Cys 540	ttt Phe	ttg Leu	ctt Leu	tgt Cys	1632
gtt Val 545	gtc Val	ttg Leu	ctg Leu	ggt Gly	ttc Phe 550	att Ile	atg Met	tgg Trp	gcc Ala	tgc Cys 555	cag Gln	aga Arg	ggc Gly	aac Asn	att Ile 560	1680
agg Arg	tgc Cys	aac Asn	att Ile	tgc Cys 565	att Ile			tg a								1701

<210> 10

<211> 566

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 10

ES 2 383 158 T3

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

65					70					75				80	
Thr	Leu	Ile	Asp	Ala	Leu	Leu	Gly	Asp	Pro	His	Cys	Asp	Val	Phe	Gln
				85					90					95	
Asn	Glu	Thr	Trp	Asp	Leu	Phe	Val	Glu	Arg	Ser	Asn	Ala	Phe	Ser	Asn
			100					105					110		
Cys	Tyr	Pro	Tyr	Asp	Val	Pro	Asp	Tyr	Ala	Ser	Leu	Arg	Ser	Ile	Val
		115					120					125			
Ala	Ser	Ser	Gly	Thr	Leu	Glu	Phe	Ile	Thr	Glu	Gly	Phe	Thr	Trp	Thr
	130					135					140				
Gly	Val	Thr	Gln	Asn	Gly	Gly	Ser	Gly	Ala	Cys	Lys	Arg	Gly	Pro	Ala
145					150					155				160	
Asn	Gly	Phe	Phe	Ser	Arg	Leu	Asn	Trp	Leu	Thr	Lys	Ser	Gly	Asn	Thr
				165					170					175	
Tyr	Pro	Val	Leu	Asn	Val	Thr	Met	Pro	Asn	Asn	Asn	Asn	Phe	Asp	Lys
			180					185					190		
Leu	Tyr	Ile	Trp	Gly	Val	His	His	Pro	Ser	Thr	Asn	Gln	Glu	Gln	Thr
		195					200					205			
Ser	Leu	Tyr	Ile	Gln	Ala	Ser	Gly	Arg	Val	Thr	Val	Ser	Thr	Arg	Arg
	210					215					220				
Ser	Gln	Gln	Thr	Ile	Ile	Pro	Asn	Ile	Gly	Ser	Arg	Pro	Leu	Val	Arg
225					230					235					240
Gly	Gln	Ser	Gly	Arg	Ile	Ser	Val	Tyr	Trp	Thr	Ile	Val	Lys	Pro	Gly
				245					250					255	
Asp	Val	Leu	Val	Ile	Asn	Ser	Asn	Gly	Asn	Leu	Ile	Ala	Pro	Arg	Gly
			260					265					270		
Tyr	Phe	Lys	Met	Arg	Ile	Gly	Lys	Ser	Ser	Ile	Met	Arg	Ser	Asp	Ala
		275					280					285			
Pro	Ile	Asp	Thr	Cys	Ile	Ser	Glu	Cys	Ile	Thr	Pro	Asn	Gly	Ser	Ile
	290					295					300				
Pro	Asn	Asp	Lys	Pro	Phe	Gln	Asn	Val	Asn	Lys	Ile	Thr	Tyr	Gly	Ala
305					310					315					320
Cys	Pro	Lys	Tyr	Val	Lys	Gln	Asn	Thr	Leu	Lys	Leu	Ala	Thr	Gly	Met
				325					330					335	
Arg	Asn	Val	Pro	Glu	Arg	Gln	Thr	Arg	Gly	Leu	Phe	Gly	Ala	Ile	Ala
			340					345					350		
Gly	Phe	Ile	Glu	Asn	Gly	Trp	Glu	Gly	Met	Val	Asp	Gly	Trp	Tyr	Gly
		355					360					365			
Phe	Arg	His	Gln	Asn	Ser	Glu	Gly	Thr	Gly	Gln	Ala	Ala	Asp	Leu	Lys
	370					375					380				
Ser	Thr	Gln	Ala	Ala	Ile	Asp	Gln	Ile	Asn	Gly	Lys	Leu	Asn	Arg	Val
385					390					395					400
Ile	Glu	Lys	Thr	Asn	Glu	Lys	Phe	His	Gln	Ile	Glu	Lys	Glu	Phe	Ser
				405					410					415	
Glu	Val	Glu	Gly	Arg	Ile	Gln	Asp	Leu	Glu	Arg	Tyr	Val	Glu	Asp	Thr
			420					425					430		
Lys	Val	Asp	Leu	Trp	Ser	Tyr	Asn	Ala	Glu	Leu	Leu	Val	Ala	Leu	Glu
		435					440					445			

Asn Gln Lys Thr Ile Asp Leu Thr Asp Ser Glu Met Asn Lys Leu Phe
 450 455 460
 Glu Lys Thr Arg Arg Gln Leu Arg Glu Asn Ala Glu Asp Met Gly Asn
 465 470 475 480
 Gly Cys Phe Lys Ile Tyr His Lys Cys Asp Asn Ala Cys Ile Glu Ser
 485 490 495
 Ile Arg Asn Gly Thr Tyr Asp His Asn Ile Tyr Arg Asp Glu Ala Val
 500 505 510
 Asn Asn Arg Phe Gln Ile Lys Gly Val Glu Leu Lys Ser Gly Tyr Lys
 515 520 525
 Asp Trp Ile Leu Trp Ile Ser Phe Ala Ile Ser Cys Phe Leu Leu Cys
 530 535 540
 Val Val Leu Leu Gly Phe Ile Met Trp Ala Cys Gln Arg Gly Asn Ile
 545 550 555 560
 Arg Cys Asn Ile Cys Ile
 565

<210> 11

<211> 1410

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Gen completo que codifica para NA de A/Canine/Korea/01/07(H3N2)

<220>

<221> CDS

10 <222> (1)..(1407)

<223> Aminoácidos de NA de A/Canine/Korea/01/07(H3N2)

<400> 11

ES 2 383 158 T3

atg	aac	cca	aat	cag	aag	ata	ata	gca	ata	ggc	tct	gtc	tct	cta	acc	48
Met	Asn	Pro	Asn	Gln	Lys	Ile	Ile	Ala	Ile	Gly	Ser	Val	Ser	Leu	Thr	
1				5				10						15		
att	gca	aca	gta	tgt	ttc	ctc	ttg	cag	att	gcc	atc	cta	gca	aca	act	96
Ile	Ala	Thr	Val	Cys	Phe	Leu	Leu	Gln	Ile	Ala	Ile	Leu	Ala	Thr	Thr	
			20					25					30			
gtg	aca	ctg	cac	ttc	aag	caa	aat	gaa	tgc	aac	atc	ccc	tcg	aac	agt	144
Val	Thr	Leu	His	Phe	Lys	Gln	Asn	Glu	Cys	Asn	Ile	Pro	Ser	Asn	Ser	
		35					40					45				
caa	gta	gtg	cca	tgt	aaa	cca	atc	ata	ata	gaa	agg	aac	ata	aca	gag	192
Gln	Val	Val	Pro	Cys	Lys	Pro	Ile	Ile	Ile	Glu	Arg	Asn	Ile	Thr	Glu	
	50					55					60					
gta	gta	tat	ttg	aat	aat	act	acc	ata	gaa	aaa	gaa	att	tgt	tcc	ata	240
Val	Val	Tyr	Leu	Asn	Asn	Thr	Thr	Ile	Glu	Lys	Glu	Ile	Cys	Ser	Ile	
65				70						75					80	
gtg	cta	gaa	tac	agg	aac	tgg	tcg	aag	ccg	cag	tgt	caa	att	aca	gga	288
Val	Leu	Glu	Tyr	Arg	Asn	Trp	Ser	Lys	Pro	Gln	Cys	Gln	Ile	Thr	Gly	
				85					90					95		
ttt	gct	cct	ttc	tcc	aag	gac	aac	tca	atc	cga	ctc	tcc	gct	ggt	ggg	336
Phe	Ala	Pro	Phe	Ser	Lys	Asp	Asn	Ser	Ile	Arg	Leu	Ser	Ala	Gly	Gly	
			100					105					110			

gac Asp	att Ile	tgg Trp 115	gta Val	aca Thr	agg Arg	gaa Glu	cct Pro 120	tat Tyr	gtg Val	tca Ser	tgc Cys	gac Asp 125	ccc Pro	agc Ser	aaa Lys	384
tgt Cys	tac Tyr 130	cag Gln	ttt Phe	gca Ala	ctt Leu	ggg Gly 135	cag Gln	ggg Gly	acc Thr	acg Thr	ctg Leu 140	aac Asn	aat Asn	aaa Lys	cac His	432
tca Ser 145	aac Asn	ggc Gly	aca Thr	ata Ile	cat His 150	gat Asp	agg Arg	atc Ile	tct Ser	cat His 155	cga Arg	act Thr	ctt Leu	tta Leu	atg Met 160	480
aat Asn	gag Glu	ttg Leu	ggt Gly	gta Val 165	ccg Pro	ttt Phe	cat His	ttg Leu	gga Gly 170	acc Thr	aaa Lys	caa Gln	gtg Val	tgc Cys 175	ata Ile	528
gca Ala	tgg Trp	tcc Ser	agt Ser 180	tca Ser	agt Ser	tgt Cys	cac His	gat Asp 185	ggg Gly	aaa Lys	gca Ala	tgg Trp	tta Leu 190	cat His	gta Val	576
tgt Cys	gtc Val	act Thr 195	ggg Gly	gat Asp	gat Asp	aga Arg	aat Asn 200	gcg Ala	act Thr	gct Ala	agt Ser	ttc Phe 205	gta Val	tat Tyr	aat Asn	624
gga Gly 210	atg Met	ctt Leu	gta Val	gac Asp	agt Ser	att Ile 215	ggt Gly	tca Ser	tgg Trp	tct Ser	cga Arg 220	aat Asn	atc Ile	ctc Leu	aga Arg	672
act Thr 225	cag Gln	gag Glu	tca Ser	gaa Glu	tgc Cys 230	gta Val	tgc Cys	atc Ile	aat Asn	gga Gly 235	act Thr	tgt Cys	aca Thr	gta Val 240	gta Val	720
atg Met	act Thr	gat Asp	gga Gly	agt Ser 245	gca Ala	tca Ser	gga Gly	agg Arg	gct Ala 250	gat Asp	act Thr	aga Arg	ata Ile	cta Leu 255	ttc Phe	768
atc Ile	aga Arg	gag Glu	ggg Gly 260	aaa Lys	att Ile	gtc Val	cat His	att Ile 265	agc Ser	cca Pro	ttg Leu	tca Ser	ggg Gly 270	agt Ser	gct Ala	816
caa Gln	cat His	ata Ile 275	gag Glu	gaa Glu	tgt Cys	tcc Ser	tgt Cys 280	tat Tyr	cct Pro	cga Arg	tat Tyr	cca Pro 285	aat Asn	gta Val	aga Arg	864
tgt Cys	gta Val 290	tgc Cys	aga Arg	gac Asp	aat Asn	tgg Trp 295	aag Lys	ggc Gly	tct Ser	aat Asn	agg Arg 300	ccc Pro	gta Val	ata Ile	gat Asp	912
ata Ile 305	aat Asn	atg Met	gca Ala	gat Asp	tat Tyr 310	agc Ser	atc Ile	gat Asp	tcc Ser	agt Ser 315	tat Tyr	gtg Val	tgt Cys	tca Ser	gga Gly 320	960
ctt Leu	gta Val	ggc Gly	gac Asp	aca Thr 325	cca Pro	agg Arg	aat Asn	gat Asp	gat Asp 330	agc Ser	tct Ser	agc Ser	agc Ser	agc Ser 335	aac Asn	1008
tgc Cys	agg Arg	gat Asp	cct Pro 340	aat Asn	aat Asn	gag Glu	aga Arg	ggg Gly 345	aat Asn	cca Pro	gga Gly	gtg Val	aaa Lys 350	ggg Gly	tgg Trp	1056
gct Ala	ttt Phe	gat Asp 355	aat Asn	gag Glu	aat Asn	gac Asp	gta Val 360	tgg Trp	atg Met	ggg Gly	agg Arg	aca Thr 365	atc Ile	agc Ser	aaa Lys	1104
gat Asp	ttg Leu 370	cgc Arg	tca Ser	ggt Gly	tat Tyr	gag Glu 375	act Thr	ttc Phe	aag Lys	gtc Val	att Ile 380	ggt Gly	ggc Gly	tgg Trp	acc Thr	1152
act Thr	gct Ala	aat Asn	tcc Ser	aag Lys	tta Leu	cag Gln	gtc Val	aat Asn	aga Arg	caa Gln	gtc Val	ata Ile	gtc Val	gat Asp	aat Asn	1200

ES 2 383 158 T3

385		390		395		400										
aat	aac	tgg	tct	ggt	tat	tct	ggt	att	ttc	tcc	ggt	gaa	ggc	aaa	agc	1248
Asn	Asn	Trp	Ser	Gly	Tyr	Ser	Gly	Ile	Phe	Ser	Val	Glu	Gly	Lys	Ser	
				405					410					415		
tgt	ggt	aat	agg	tgt	ttt	tat	gtg	gag	ttg	ata	aga	gga	ggg	cca	caa	1296
Cys	Val	Asn	Arg	Cys	Phe	Tyr	Val	Glu	Leu	Ile	Arg	Gly	Gly	Pro	Gln	
			420					425					430			
gag	act	aga	gta	tgg	tgg	act	tca	aat	agc	att	gtc	gta	ttt	tgt	ggt	1344
Glu	Thr	Arg	Val	Trp	Trp	Thr	Ser	Asn	Ser	Ile	Val	Val	Phe	Cys	Gly	
		435					440					445				
act	tct	ggt	acc	tat	gga	aca	ggc	tca	tgg	cct	gat	ggg	gcg	aat	atc	1392
Thr	Ser	Gly	Thr	Tyr	Gly	Thr	Gly	Ser	Trp	Pro	Asp	Gly	Ala	Asn	Ile	
	450				455						460					
aac	ttc	atg	cct	ata			taa				1410					
Asn	Phe	Met	Pro	Ile												
465																

<210> 12

<211> 469

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<400> 12

ES 2 383 158 T3

Met₁ Asn Pro Asn Gln₅ Lys Ile Ile Ala Ile₁₀ Gly Ser Val Ser Leu₁₅ Thr
 Ile Ala Thr Val₂₀ Cys Phe Leu Leu Gln₂₅ Ile Ala Ile Leu Ala₃₀ Thr Thr
 Val Thr Leu₃₅ His Phe Lys Gln Asn₄₀ Glu Cys Asn Ile Pro₄₅ Ser Asn Ser
 Gln Val₅₀ Val Pro Cys Lys Pro₅₅ Ile Ile Ile Glu Arg₆₀ Asn Ile Thr Glu
 Val₆₅ Val Tyr Leu Asn Asn₇₀ Thr Thr Ile Glu Lys₇₅ Glu Ile Cys Ser Ile₈₀
 Val Leu Glu Tyr Arg₈₅ Asn Trp Ser Lys Pro₉₀ Gln Cys Gln Ile Thr₉₅ Gly
 Phe Ala Pro Phe₁₀₀ Ser Lys Asp Asn Ser₁₀₅ Ile Arg Leu Ser Ala₁₁₀ Gly Gly
 Asp Ile Trp₁₁₅ Val Thr Arg Glu Pro₁₂₀ Tyr Val Ser Cys Asp₁₂₅ Pro Ser Lys
 Cys Tyr₁₃₀ Gln Phe Ala Leu Gly₁₃₅ Gln Gly Thr Thr Leu₁₄₀ Asn Asn Lys His
 Ser₁₄₅ Asn Gly Thr Ile His₁₅₀ Asp Arg Ile Ser His₁₅₅ Arg Thr Leu Leu Met₁₆₀
 Asn Glu Leu Gly Val₁₆₅ Pro Phe His Leu Gly₁₇₀ Thr Lys Gln Val Cys₁₇₅ Ile
 Ala Trp Ser Ser₁₈₀ Ser Ser Cys His Asp₁₈₅ Gly Lys Ala Trp Leu₁₉₀ His Val
 Cys Val Thr₁₉₅ Gly Asp Asp Arg Asn₂₀₀ Ala Thr Ala Ser Phe₂₀₅ Val Tyr Asn
 Gly Met₂₁₀ Leu Val Asp Ser Ile₂₁₅ Gly Ser Trp Ser Arg₂₂₀ Asn Ile Leu Arg

Thr Gln Glu Ser Glu Cys Val Cys Ile Asn Gly Thr Cys Thr Val Val
 225 230 235 240
 Met Thr Asp Gly Ser Ala Ser Gly Arg Ala Asp Thr Arg Ile Leu Phe
 245 250 255
 Ile Arg Glu Gly Lys Ile Val His Ile Ser Pro Leu Ser Gly Ser Ala
 260 265 270
 Gln His Ile Glu Glu Cys Ser Cys Tyr Pro Arg Tyr Pro Asn Val Arg
 275 280 285
 Cys Val Cys Arg Asp Asn Trp Lys Gly Ser Asn Arg Pro Val Ile Asp
 290 295 300
 Ile Asn Met Ala Asp Tyr Ser Ile Asp Ser Ser Tyr Val Cys Ser Gly
 305 310 315 320
 Leu Val Gly Asp Thr Pro Arg Asn Asp Asp Ser Ser Ser Ser Ser Asn
 325 330 335
 Cys Arg Asp Pro Asn Asn Glu Arg Gly Asn Pro Gly Val Lys Gly Trp
 340 345 350
 Ala Phe Asp Asn Glu Asn Asp Val Trp Met Gly Arg Thr Ile Ser Lys
 355 360 365
 Asp Leu Arg Ser Gly Tyr Glu Thr Phe Lys Val Ile Gly Gly Trp Thr
 370 375 380
 Thr Ala Asn Ser Lys Leu Gln Val Asn Arg Gln Val Ile Val Asp Asn
 385 390 395 400
 Asn Asn Trp Ser Gly Tyr Ser Gly Ile Phe Ser Val Glu Gly Lys Ser
 405 410 415
 Cys Val Asn Arg Cys Phe Tyr Val Glu Leu Ile Arg Gly Gly Pro Gln
 420 425 430
 Glu Thr Arg Val Trp Trp Thr Ser Asn Ser Ile Val Val Phe Cys Gly
 435 440 445
 Thr Ser Gly Thr Tyr Gly Thr Gly Ser Trp Pro Asp Gly Ala Asn Ile
 450 455 460
 Asn Phe Met Pro Ile
 465

<210> 13

<211> 722

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Gen parcial que codifica para HA de A/Canine/Korea/02/07(H3N2)

<400> 13

cagattgagg tgactaatgc caccgagcta gtccaaaact cctcaacagg gaaaatatgc 60
 aacaatcccc acaagatcct tgatgggagg gactgcacac taatagatgc cctactaggg 120
 gacccgcact gtgatgtctt ccaaaatgag acatgggacc tttttgtgga acgaagcaat 180
 gcttttagca attgttaccc ttatgatgta ccagactatg catcccttcg atccatagtt 240
 gcatcatcag gcacattgga gttcatcact gaaggtttca cttgggcagg agtaactcaa 300
 aatggaggaa gcggtgcttg caaaagggga cctgctaata gtttcttcag cagattgaat 360
 tggttaacta agtcaggaaa tacatatcca gtggtgaatg tgactatgcc aaacaataac 420
 aatttcgaca aattatacat ttggggagtt taccaccaa gcactaatca agaacaacc 480
 agcctgtata ttcaggcctc aggaagagtc acagtctcta ccaggagaag ccaacagacc 540
 ataatcccaa acattggatc tagacccttg gtaaggggcc aatctggcag aataagtgta 600
 tattggacaa tagtcaaacc tggagacgta ctggtaataa acagtaatag aaacctaac 660
 gctcctcgag gctacttcaa aatgcgcat gggaaaagct caataatgag atcagatgca 720
 cc 722

<210> 14

<211> 477

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Gen parcial que codifica para NA de A/Canine/Korea/02/07(H3N2)

<400> 14

ccaacaagcc ctgaacacac ataactggaa tcgatgctat aatctgcat atttatatct 60
 ataacgggcc tattagagcc cttccaattg tctctgcaa cacatctaac atttggatat 120
 cgaggataac aggaacattc ctctatatgt tgagcactcc ctgacaatgg gctaatatgg 180
 acaattttcc cctctctgat gaatagtatt ctagtatcag cccttcctga tgcacttcca 240
 tcagtcatta ctactgtaca agttccattg atgcaaacgc attctgactc ctgagttctg 300
 aggatatttc gagaccatga accaatactg tcaacaagca ttccattata aacgaaacta 360
 gcagtcgcat ttctatcatc cccagtgaca caaacatgta accatgcttt cccatcgtga 420
 caacttgaac tggaccatgc tatgcacact tgtttggttc ccaaatgaaa cggaaca 477

10

<210> 15

<211> 722

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

15 <220>

ES 2 383 158 T3

<223> Gen parcial que codifica para HA de A/Canine/Korea/03/07(H3N2)

<400> 15

```

cagattgagg tgaccaatgc caccgagcta gtccaaaact cctcaacagg gaaaatatgc      60
aacaatcccc acaagatcct tgatgggagg gactgcacac taatagatgc cctactaggg      120
gaccgcact gtgatgtctt ccaaaatgag acatgggacc tttttgtgga acgaagcaat      180
gcttttagca attgttacc ttatgatgta ccagactatg catcccttcg atccatagtt      240
gcatcatcag gcacattgga gttcatcgct gaaggtttca cttgggcagg agtaactcaa      300
aatggaggaa gcggtgcttg caaaagggga cctgctaata gtttcttcag cagattgaat      360
tggttaacta agtcaggaaa tacatatcca gtggtgaatg tgactatgcc aaacaataac      420
aatttcgaca aattatacat ttggggagtt catcaccaa gcactaatca agaacaacc      480

agcctgtata ttcaggcctc aggaagagtc acagtctcta ccaggagaag ccaacagacc      540
ataatcccaa acattggatc tagacccttg gtaaggggcc aatctggcag aataagtgta      600
tattggacaa tagtcaaacc tggggacgta ctggttaata acagtaatgg aaacctaadc      660
gctcctcgag gctacttcaa aatgcgcatg gggaaaagct caataatgag atcagatgca      720
cc                                                                                   722

```

5 <210> 16

<211> 477

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Gen parcial que codifica para NA de A/Canine/Korea/03/07(H3N2)

<400> 16

```

ccaacaagcc ctgaacacac ataactggaa tcgatgctat aatctgccat atttatatct      60
ataacgggcc tattagagcc cttccaattg tctctgcaaa cacatctaac atttggatat      120
cgaggataac aggaacattc ctctatatgt tgagcactcc ctgacaatgg gctaatatgg      180
acaattttcc cctctctgat gaatagtatt ctagtatcag cccttcctga tgcacttcca      240
tcagtcatta ctactgtaca agttccattg atgcaaacgc attctgactc ctgagttctg      300
aggatatttc gagaccatga accaatactg tcaacaagca ttccattata aacgaaacta      360
gcagtcgcat ttctatcatc cccagtgaca caaacatgta accatgcttt cccatcgatg      420
caacttgaac tggaccatgc tatgcacact tgtttggttc ccaaatgaaa cggaaca      477

```

<210> 17

<211> 20

15 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> iniciador para H3

<400> 17

5 carattgarg tgachaatgc 20

<210> 18

<211> 19

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> iniciador para H3

<400> 18

ggtgcatctg ayctcatta 19

<210> 19

15 <211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> iniciador para N2

20 <400> 19

tgttccggtt catttggaa 20

<210> 20

<211> 20

<212> ADN

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> iniciador para N2

<400> 20

ccaacaagcc ctgaacacac 20

30 <210> 21

<211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> iniciador para PB1

<400> 21

aaagtgccag cacaaaatgc 20

<210> 22

<211> 20

10 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> iniciador para PB1

<400> 22

15 ttctcacaga tgctcctcgc 20

<210> 23

<211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

20 <220>

<223> iniciador para PB2

<400> 23

tcatggaggt cgttttcca 20

<210> 24

25 <211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> iniciador para PB2

30 <400> 24

tgaatcagcc ttctggtgc 20
<210> 25
<211> 20
<212> ADN
5 <213> Secuencia artificial
<220>
<223> iniciador para PA
<400> 25
gaagtgagcg ccaaaattga 20
10 <210> 26
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
15 <223> iniciador para PA
<400> 26
ctctggctca tcgctgcat 20
<210> 27
<211> 20
20 <212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> iniciador para NP
<400> 27
25 acggtctgca ctcacctga 20
<210> 28
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
30 <220>

<223> iniciador para NP
<400> 28
gcccctggaa agacacatct 20
<210> 29
5 <211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> iniciador para M
10 <400> 29
aacattccat ggggctaagg 20
<210> 30
<211> 20
<212> ADN
15 <213> Secuencia artificial
<220>
<223> iniciador para M
<400> 30
cggcaataac gagaggatca 20
20 <210> 31
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
25 <223> iniciador para NS
<400> 31
gactggttca tgctcatgcc 20
<210> 32
<211> 20
30 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> iniciador para NS

<400> 32

5 gagagagtga aggtcccca 20

REIVINDICACIONES

1. Un virus de la influenza del serotipo H3N2 que tiene:
 - (i) una proteína hemaglutinina (HA) representada por la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO. 10; y
 - (ii) una proteína neuraminidasa (NA) representada por la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO. 12.
- 5 2. El virus de la influenza del serotipo H3N2 de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además una proteína seleccionada entre una proteína estructural (NS) codificada por una secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 3, una proteína matriz (M) codificada por una secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 4, una nucleoproteína (NP) codificada por una secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 5, una polimerasa (PA) codificada por una secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 6, una proteína polimerasa 2 básica (PB2) codificada por una secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 7, una proteína polimerasa 1 básica (PB1) codificada por una secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 8, y combinaciones de las mismas.
- 10 3. El virus de la influenza del serotipo H3N2 de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene el número de acceso KCTC 11205BP.
- 15 4. El virus de la influenza del serotipo H3N2 de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene el número de acceso KCTC 11206BP.
5. El virus de la influenza del serotipo H3N2 de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene el número de acceso KCTC 11207BP.
6. Una secuencia de nucleótidos, que codifica una secuencia de aminoácidos de la hemaglutinina (HA) de la reivindicación 1.
- 20 7. La secuencia de nucleótidos de acuerdo con la reivindicación 6, representada por una secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 9.
8. Una secuencia de nucleótidos, que codifica una secuencia de aminoácidos de la neuraminidasa (NA) de la reivindicación 1.
- 25 9. Una secuencia de nucleótidos de acuerdo con la reivindicación 8, representada por una secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO. 11.
10. Una composición de una vacuna contra el virus de la influenza, que contiene como ingrediente activo al virus de una de las reivindicaciones 1 a 5 o a una proteína HA y NA de la misma.
11. La composición de la vacuna contra el virus de la influenza 10, para ser administrada a perros.
- 30 12. La composición de la vacuna contra el virus de la influenza 10, que comprende además un gel de hidróxido de aluminio o aceite como adyuvante.
13. La composición de la vacuna contra el virus de la influenza 10, que comprende además al menos un patógeno diferente del ingrediente activo.
14. La composición de la vacuna contra el virus de la influenza 10, en donde la composición de la vacuna es una vacuna viva atenuada.
- 35 15. La composición de la vacuna contra el virus de la influenza 10, que comprende al virus de la influenza en una cantidad de 2⁵ HAU o superior.
16. La composición de la vacuna contra el virus de la influenza 10, en donde el ingrediente activo está contenido en una cantidad del 90% o superior.
- 40 17. Un virus de la influenza del serotipo H3N2 de acuerdo con la reivindicación 1, para uso en la prevención o el tratamiento de enfermedades resultantes de la infección con el virus de la influenza.
18. Un kit de ensayo para detectar una virus de la influenza del serotipo H3N2, que comprende al virus de una de las reivindicaciones 1 a 5 o una proteína HA y NA del mismo.

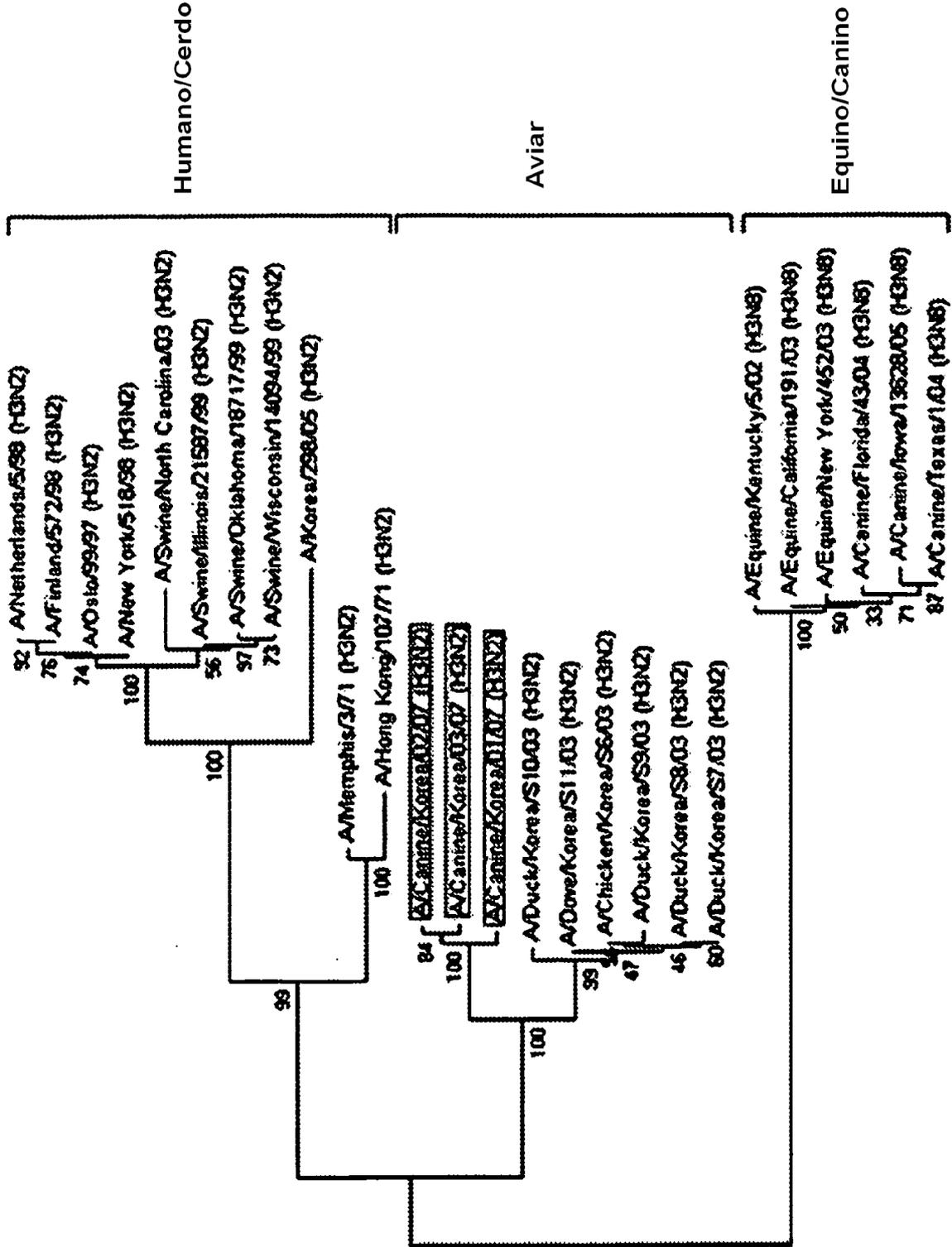
[Fig. 2]

	10	20	30	40	50
1. A/Equine/Jilin/1/89(H3N2)	NRVIALSYIECLAFQGLFMDNDNTATLCLQHHAVENGTIVKTIYDDQIEVTNA3				
2. A/Canine/Korea/01/07(H3N2)	K	N	G	E	A
3. A/Dove/Korea/S11/03(H3N2)	K	N	G	E	
4. A/Duck/Korea/S7/03(H3N2)	K	N	G	E	
5. A/Chicken/Korea/S6/03(H3N2)	K	N	G	E	
1. TEVNAVELVQSSSTGKICMNPRIIDGGCTLIDALLGDPKCNVQYETWDLFVERTNAFENCPYDVPDYASLSRSIVASS	50	60	70	80	90
2. K	RD	D	N	S	
3. N	RD	D	N	S	
4. N	KV	RD	D	S	
5. N	KV	RD	D	S	
1. 130	140	150	160	170	180
1. SSGTLEFFAESFTWGTORGSSACKRGTAASSFTSRLNMLTKSGNAYPLLNVTMPNNDNFDKLYXWGVNHPSTROEQTELY					
2. IT	G	P	NG	T	V
3. IT	G	N	A	P	NG
4. IT	G	N	A	P	NG
5. IT	G	N	A	P	NG
1. 210	220	230	240	250	260
1. LYVQASGRVSTRKSSQITVFNIGSRFVNRQSGRVSIVTIVKFDVLSNHNGLIAPRGYKVTGKSSIMRSDAPID					
2. I	R	I	V	I	V
3. R	I	V	V	M	I
4. R	I	V	V	M	I
5. R	I	V	V	M	I
1. 290	300	310	320	330	340
1. IDTCISECTPHGSIPIPKFQFVNVKITYGACPKYKQNTLQATGGRVFEKQIRGIFGALAGFIENGWEGMIDGWYGRH					
2. E	R	T	L	R	T
3. E	R	T	L	T	L
4. E	R	T	L	T	L
5. E	R	T	L	T	L
1. 370	380	390	400	410	420
1. RMQNSEGTGQANDLKSQAALDQINGKLNRIEKTNEKFMQIEKEFSEVEGRIQDLEKVEDTKIDLNSYNALLVALENQH					
2. I	I	I	I	R	V
3. I	I	I	I	R	V
4. I	I	I	I	R	V
5. I	I	I	I	R	V
1. 450	460	470	480	490	500
1. QHTIDLTDSEMNKLFKTRRQLRENAEDNGCCFKIYHNCNACIESIRNGTYDHNIRYDEALNRFQIKGVELKSKOYKDWI					
2. K	K	K	K	D	V
3. K	K	K	K	D	V
4. K	K	K	K	D	V
5. K	K	K	K	D	V
1. A/Equine/Jilin/1/89(H3N2)	520	530	540	550	560
2. A/Canine/Korea/01/07(H3N2)	K	G	V	E	L
3. A/Dove/Korea/S11/03(H3N2)	K	G	V	E	L
4. A/Duck/Korea/S7/03(H3N2)	K	G	V	E	L
5. A/Chicken/Korea/S6/03(H3N2)	K	G	V	E	L

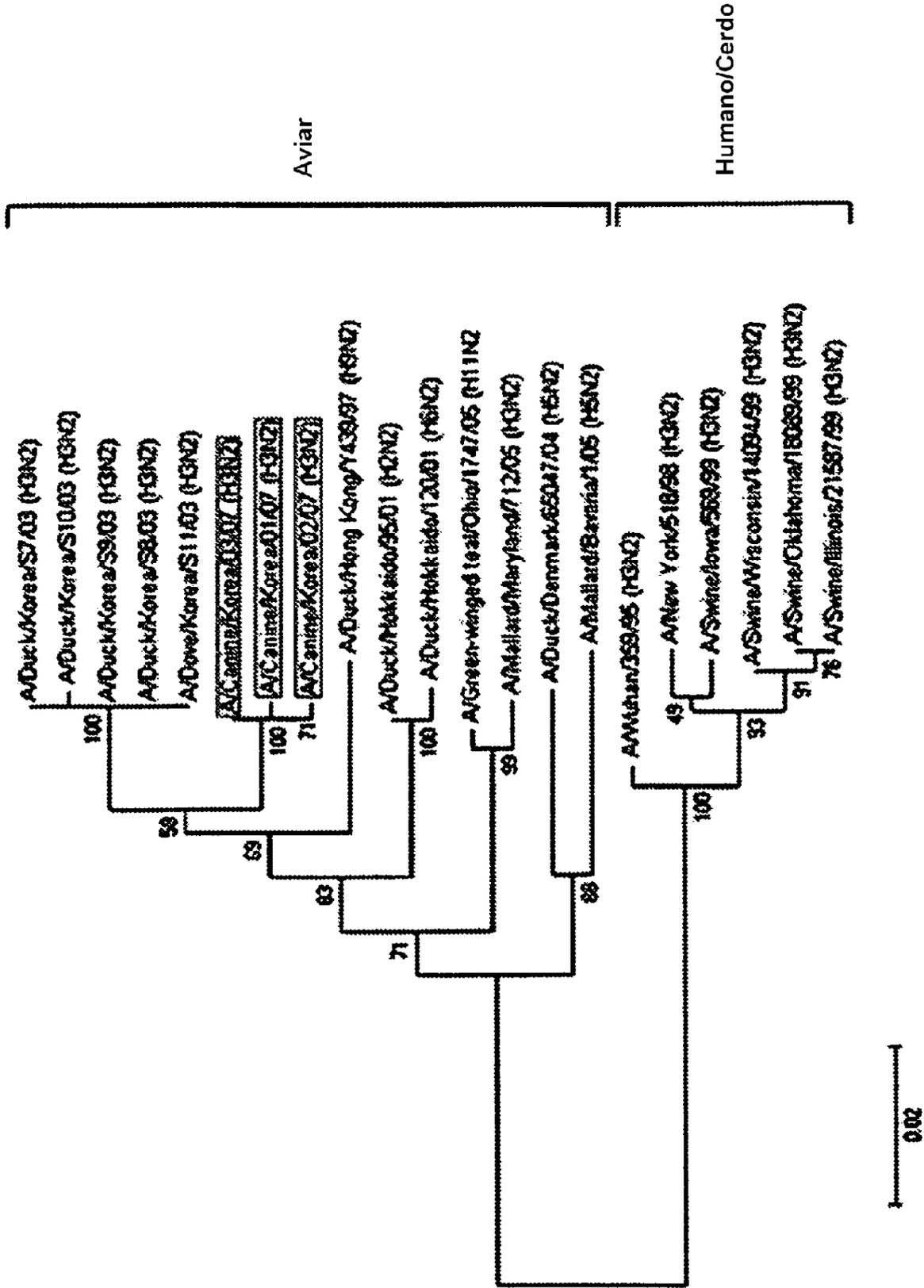
[Fig. 3]

	50	60	70	80	90	100
1. A/Equine/Jilin/1/1989 (H3N8)	QIEV	NATE	LVQS	SS	STGK	ICNN
2. A/Canine/Korea/01/07 (H3N2)	N	N	N	N	N	N
3. A/Canine/Korea/02/07 (H3N2)	N	N	N	N	N	N
4. A/Canine/Korea/03/07 (H3N2)	N	N	N	N	N	N
5. A/Dove/Korea/S11/03 (H3N2)	N	N	N	N	N	N
6. A/Duck/Korea/S7/03 (H3N2)	N	N	N	N	N	N
7. A/Chicken/Korea/S6/03 (H3N2)	N	N	N	N	N	N
	120	130	140	150	160	170
1. A/Equine/Jilin/1/1989 (H3N8)	DYAS	LR	SI	VA	SS	GL
2. A/Canine/Korea/01/07 (H3N2)	IT	IT	IT	IT	IT	IT
3. A/Canine/Korea/02/07 (H3N2)	I	I	I	I	I	I
4. A/Canine/Korea/03/07 (H3N2)	IT	IT	IT	IT	IT	IT
5. A/Dove/Korea/S11/03 (H3N2)	IT	IT	IT	IT	IT	IT
6. A/Duck/Korea/S7/03 (H3N2)	IT	IT	IT	IT	IT	IT
7. A/Chicken/Korea/S6/03 (H3N2)	IT	IT	IT	IT	IT	IT
	170	180	190	200	210	220
1. A/Equine/Jilin/1/1989 (H3N8)	LT	KS	GM	Y	P	LL
2. A/Canine/Korea/01/07 (H3N2)	M	V	V	V	V	V
3. A/Canine/Korea/02/07 (H3N2)	M	V	V	V	V	V
4. A/Canine/Korea/03/07 (H3N2)	M	V	V	V	V	V
5. A/Dove/Korea/S11/03 (H3N2)	M	V	V	V	V	V
6. A/Duck/Korea/S7/03 (H3N2)	M	V	V	V	V	V
7. A/Chicken/Korea/S6/03 (H3N2)	M	V	V	V	V	V
	230	240	250	260	270	
1. A/Equine/Jilin/1/1989 (H3N8)	QO	TV	IP	NI	GR	PM
2. A/Canine/Korea/01/07 (H3N2)	I	I	I	I	I	I
3. A/Canine/Korea/02/07 (H3N2)	I	I	I	I	I	I
4. A/Canine/Korea/03/07 (H3N2)	I	I	I	I	I	I
5. A/Dove/Korea/S11/03 (H3N2)	I	I	I	I	I	I
6. A/Duck/Korea/S7/03 (H3N2)	I	I	I	I	I	I
7. A/Chicken/Korea/S6/03 (H3N2)	I	I	I	I	I	I

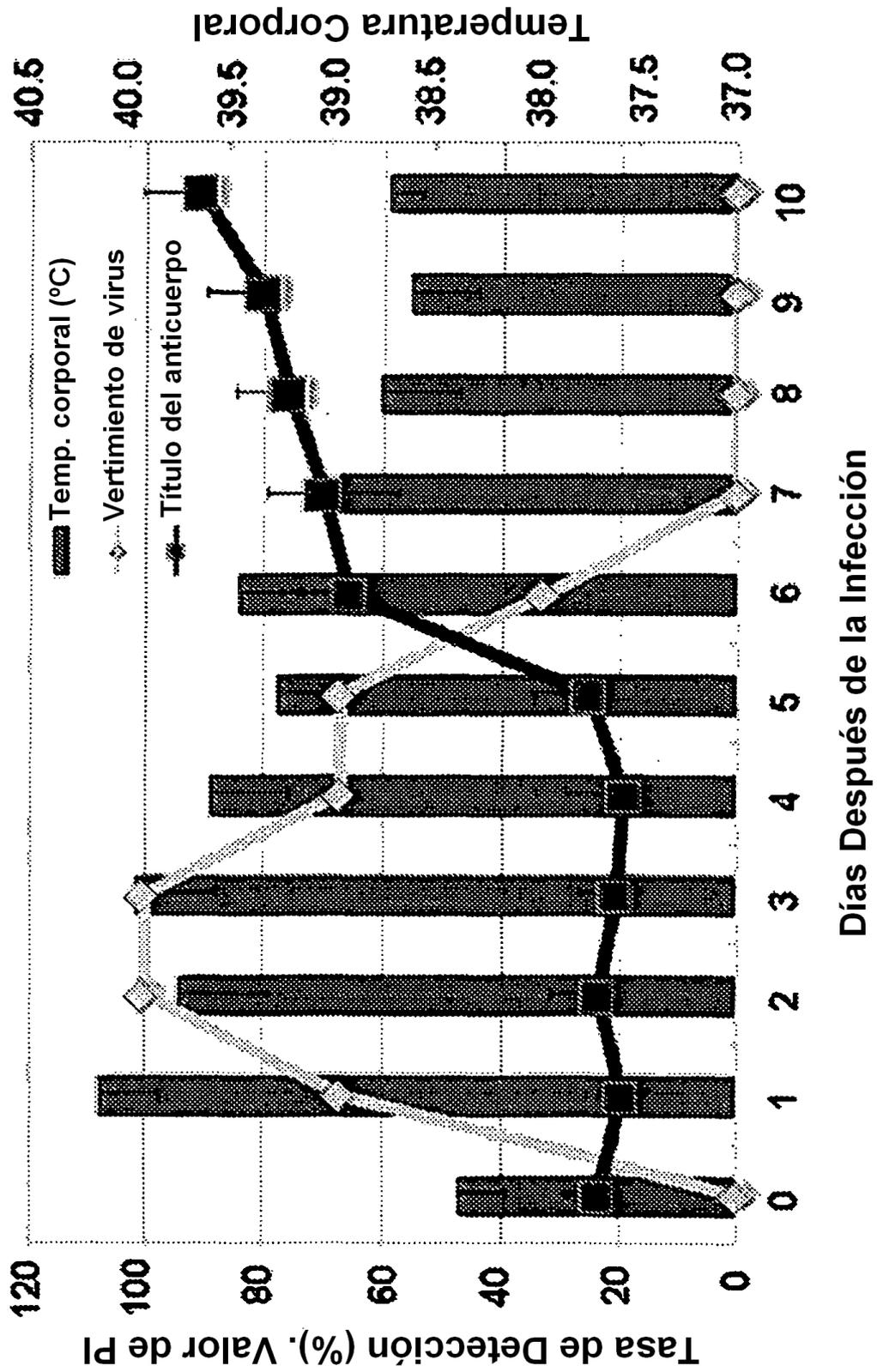
[Fig. 4]



[Fig. 5]



[Fig. 6]



[Fig. 7]

