

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-042269- -00000-0000

Fecha: 2014-02-27 16:48:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 6

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

TITULO: PROTEÍNAS H5, DE H5N1 PARA UN NUEVO USO MEDICINAL

SOLICITANTE: BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA S.A. DE C.V. Y
BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA GMBH

DIRECCIÓN: Calle 30 2614, Guadalajara Jalisco, 44940 (MX)
Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim Am Rhein (DE)

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 21 de febrero de 2014

P2014/000007

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-042269-00000-0000

Fecha: 2014-02-27 16:48:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 8

PETITORIO - FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD

PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2014/000007

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: **BOEHRINGER INGELHEIM
VETMEDICA S.A. DE C.V. y BOEHRINGER
INGELHEIM VETMEDICA GMBH**

Dirección: (1) Calle 30 2614, Guadalajara
Jalisco, 44940 (2) Binger Strasse 173, 55216
Ingelheim Am Rhein

Nacionalidad o Domicilio: (1) México
(2) Alemania

Lugar de Constitución: (1) México
(2) Alemania

Teléfono: _____ Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: **CARLOS R. OLARTE**

Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá,
Colombia

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79.782.747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2012/065940

Fecha Agosto 15, 2012

Publicación Internacional No. WO 2013/024113

Fecha Febrero 21, 2013

6

Título (54) **PROTEÍNAS H5, DE H5N1 PARA UN NUEVO USO MEDICINAL**

Clasificación Internacional (51) A61K 39/145

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Agosto 15, 2011

(31) Número de Solicitud

61/523,772

9

Comprobante de pago No. 14-

Fecha



ANEXOS



Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple.



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.



Declaraciones. Declaración bajo la regla 4.17 (ii) del PCT.



Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.



De ser el caso, copia del contrato de acceso.



De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.



De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.



Arte final 12 x 12.



De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.



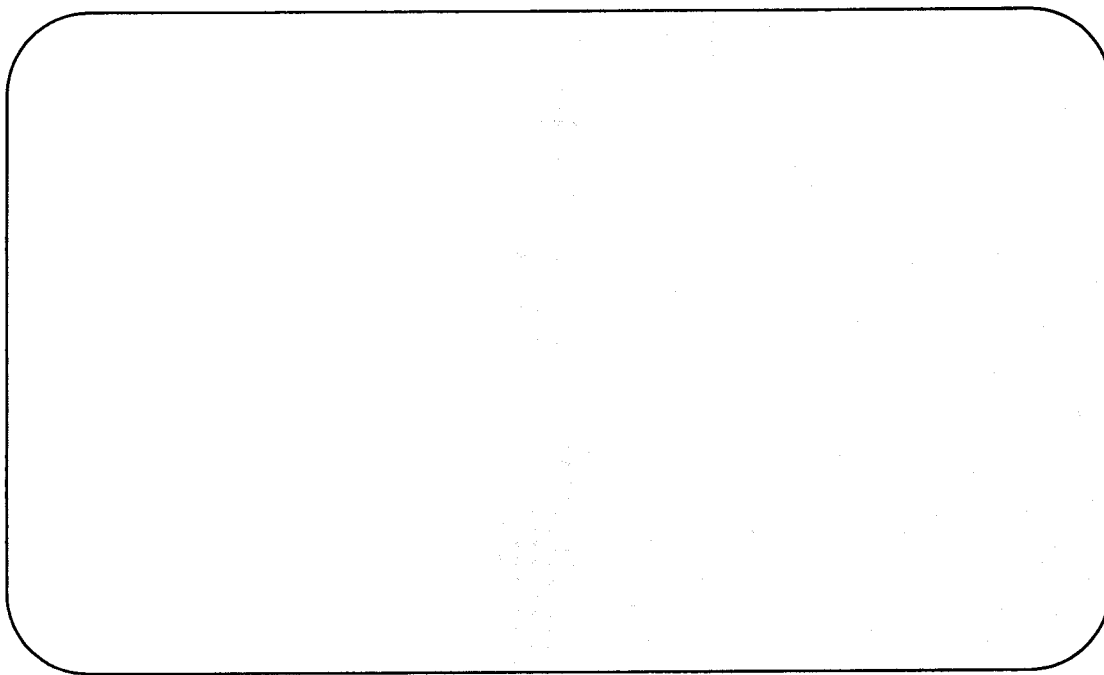
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.



Otros. Búsqueda Internacional

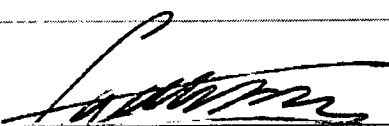


FIGURA CARACTERÍSTICA:



Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

3

LISTA DE INVENTORES

PCT/EP2012/065940

Mauricio REALPE-QUINTERO

Calle 30 No. 2614; Zona Industrial
Guadalajara, 44940
México
Nacionalidad: Mexicano

Paulino Carlos GONZALEZ-HERNANDEZ

Calle 30 No. 2614; Zona Industrial
Guadalajara, 44940
México
Nacionalidad: Mexicano

Eric VAUGHN

2621 North Belt Highway
St Joseph
64506-2002 Missouri
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0022852

Bogotá D.C., Febrero 27 de 2014 - 16:32:22

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS

NI 830.122.870

***** Soporte del Pago *****

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	601308901	27/02/2014	8.517.000.00

***** Conceptos Pagados *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	515.000.00	515.000.00
				\$515.000.00

SON: **QUINIENTOSQUINCE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-042269- -00000-0000

Fecha: 2014-02-27 16:48:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

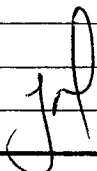
, Febrero 27 de 2014 - 16:32:25

5

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia: 2020		Fecha: ____/____/____ AAAA MM DD 2014 02 27	
Tipo de Radicación: Entrada: ☒ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐		Recorrido: 4	
Radicador:		Planilla:	

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	14-42269	0	7
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
☒	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones: EL CD ANEXO CONTIENE UN TOTAL DE 8 ARCHIVOS: 8 EN FORMATO PDF, (02 CUALES FUERON PROCESADOS). EL CD SE ENCUENTRA UBICADO EN EL FOLIO (5)




No. 14-042269- -00000-0000

Fecha: 2014-02-27 16:48:29
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 5 6

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO ☐

☐

Indicación que se solicita una patente.

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Descripción de la invención

☐

Dibujos de ser estos pertinentes

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐

Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐

Indicación que se solicita una PCT

☐

Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)

☐

Dibujos de ser estos pertinentes

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☐

Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita Diseño industrial

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita un esquema de trazado

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica de un esquema de trazado

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐



Espacio reservado para el adhesivo de radicación.

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2014/000007

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: BOEHRINGER INGELHEIM
VETMEDICA S.A. DE C.V. y BOEHRINGER
INGELHEIM VETMEDICA GMBH

Dirección: (1) Calle 30 2614, Guadalajara
Jalisco, 44940 (2) Binger Strasse 173, 55216
Ingelheim Am Rhein

Nacionalidad o Domicilio: (1) México
(2) Alemania

Lugar de Constitución: (1) México
(2) Alemania

Teléfono: Fax:
E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. NIT

C.E. Otro

Cual

Número

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá,
Colombia

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. X NIT

C.E. Otro

Cual

Número 79.782.747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2012/065940 Fecha Agosto 15, 2012

Publicación Internacional No. WO 2013/024113 Fecha Febrero 21, 2013

6

Título (54) PROTEÍNAS H5, DE H5N1 PARA UN NUEVO USO MEDICINAL

Clasificación Internacional (51) A61K 39/145

Prioridad

SI X NO

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Agosto 15, 2011

(31) Número de Solicitud

61/523,772

9

Comprobante de pago No. 14-

Fecha

10

ANEXOS

☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☒

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☒

Poderes, si fuere el caso.

☐

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

☒

Declaraciones. Declaración bajo la Regla 4.17 (ii) del PCT.

☒

Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☐

Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.

☐

De ser el caso, copia del contrato de acceso.

☐

De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.

☐

De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.

☐

Arte final 12 x 12.

☐

De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

☐

De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: _____
C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

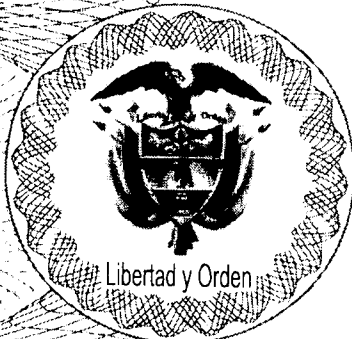
LISTA DE INVENTORES

PCT/EP2012/065940

Mauricio REALPE-QUINTERO
Calle 30 No. 2614; Zona Industrial
Guadalajara, 44940
México
Nacionalidad: Mexicano

Paulino Carlos GONZALEZ-HERNANDEZ
Calle 30 No. 2614; Zona Industrial
Guadalajara, 44940
México
Nacionalidad: Mexicano

Eric VAUGHN
2621 North Belt Highway
St Joseph
64506-2002 Missouri
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense



REPÚBLICA DE COLOMBIA

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

LEGALIZACION

País: **REPUBLICA DE COLOMBIA**
(Country: - Pays:)

El presente documento público
(This public document - Le présent acte public)

Ha sido firmado por: **OLARTE GARCIA ROBERTO MARIO**
(Has been signed by: - A été signé par:)

Actuando en calidad de: **TRADUCTOR OFICIAL**
(Acting in the capacity of: - Agissant en qualité de:)

Lleva el sello/estampilla de: **TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL**
(Bears the seal/stamp of: - Est revêtu du sceau de / timbre de:)

Certificado
(Certified - Attesté)

En: **BOGOTA D.C**
(At: - À:)

El: **2/2/2012 10:54:35 a.m.**
(On: - Le:)

Por: **APOSTILLA Y LEGALIZACIÓN**
(By: The Ministry of Foreign Affairs of Colombia - Par: Ministère des Affaires Étrangères de la Colombie)

No: **LMCC105434895**
(Under Number: - Sous le numéro:)

Nombre del Titular: **2059/2011**
(Name of the holder of document: - Nom du titulaire:)

Tipo de documento: **TRADUCCION APOSTILLA**
(Type of document: - Type du document:)

Número de hojas: **3**
(Number of pages: - Nombre de pages:)

01304100116643800902

Firmado Digitalmente por: (Digitally Signed by:)
Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia
AMPARO DE LA CRUZ TAMAYO RODRIGUEZ
Reason: DOCUMENT AUTHENTICITY
BOGOTA - COLOMBIA

La autenticidad de este documento puede ser verificada en el Registro Electrónico que se encuentra en la siguiente página
The authenticity of this document may be verified by accessing the e-Register on the following web site:
L'autenticité de cette document peut être vérifiée en accédant l'e-Registre sur le site web suivant:

www.cancilleria.gov.co/legalizaciones

Este documento público es una traducción al español de un documento en idioma inglés
presentado ante mí.

ROBERTO M. OLARTE GARCÍA

Traductor e Intérprete Oficial

Ministerio de Justicia

Licencia 0041/1996

PODER

(texto en español)

Firma: **Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH**

(ilegible)

Dr. Heinz HAMMANN

(ilegible)

Dr. Heinz-Gerd KLAES

Firmas autorizadas

Fecha: 8 de octubre de 2011

Ciudad, País: Ingelheim am Rhein, Alemania

UR Nr. 2824/2011

Por medio de la presente se certifica que las anteriores rúbricas de:

- **Dr. Heinz Hammann**
nacido el 25 de noviembre de 1949,
con domicilio en 55216 Ingelheim am Rhein, Binger Straße 173,
- **Dr. Heinz-Gerd Kläs,**
nacido el 9 de febrero de 1952,
con domicilio en 55216 Ingelheim am Rhein, Binger Straße 173,

conocidos de manera personal,
fueron suscritas en presencia mía.

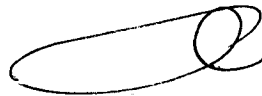
Por medio de la presente se certifica que **Boehringer Ingelheim Vetmedica Gesellschaft mit beschränkter Haftung** es una sociedad debidamente organizada y existente bajo las leyes de la República Federal de Alemania con domicilio principal en Binger Straße 173, Ingelheim am Rhein, Alemania.

La sociedad fue registrada en el Registro Comercial de la Corte Distrital de Mainz bajo el No. HR 2 21491.

Adicionalmente, certifico que el Dr. Heinz Hammann y el Dr. Heinz-Gerd Kläs estaban autorizados para suscribir el anterior documento y aún están debidamente autorizados para firmar en nombre de **Boehringer Ingelheim Vetmedica Gesellschaft mit beschränkter Haftung** como representantes autorizados.

Ingelheim am Rhein, 8 de diciembre de 2011/Ge

(firma ilegible)
Notario Público



APOSTILLA
(Convención de la Haya, del 5 de octubre de 1961)

1. País: República Federal de Alemania
Este documento público
 2. está firmado por Horst Heintskill
 3. en su calidad de Notario
 4. está provisto con el timbre/sello de Horst Heintskill – Notario en Ingelheim am Rhein
- Confirmado
5. en Mainz
 6. el 12.12.2011
 7. por la presidente de la audiencia provincial
 8. bajo el número 2059/2011
 9. sello: ilegible
 10. Firma
(ilegible)
Marliese Dicke

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Marliese Dicke', written over a horizontal line.

Cálculo de costos
Derechos para la obtención de la legalización
Valor: 50.000,00 €
JVKostO del 26.7.1957
según § 45 orden de costos
Derechos: 33,00€

Mainz, 12.12.11
(firma ilegible)
Beyer

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

Carlos R. Olarte
Juan G. Moure

Alexander Agude
Carlos A. Pardo
Gina Arango
Juan Felipe Acosta
Andres Rincón
Monica Guevara
Andres Alvarado
Margarita Solórzano
Ricardo Velasco

Power of Attorney

The undersigned,

BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA GMBH

domiciled in

Binger Straße 173, 55216 Ingelheim am Rhein, Germany

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte and/or Juan Guillermo Moure** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's **Patents for Inventions, Utility Models, Layout-Designs (topographies) of Integrated Circuits, Industrial Designs, Trademarks, Advertising Slogans, Trade Names, Commercial Emblems, Geographical Indications, Protection of Trade Secrets, Obtainer's Certificates, Copyrights, Registration of Domain Names, Health Registrations, or any other intellectual property right** in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, recourses, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications, collect refunds, desist, settle, conciliate or negotiate. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

Poder

El suscrito,

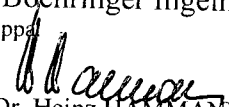
domiciliado en

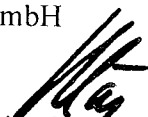
por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte y/o Juan Guillermo Moure** poder amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de las **Patentes de Invención, Modelos de Utilidad, Esquemas de Trazados de Circuitos Integrados, Diseños Industriales, Marcas, Lemas Comerciales, Nombres Comerciales, Enseñas Comerciales, Denominaciones de Origen, Protección de Secretos Empresariales, Certificados de Obtentor, Derechos de Autor, Registro de Nombres de Dominio, Registros Sanitarios, o cualquier otro bien de propiedad intelectual** de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, recursos, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir, transigir, y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma: **Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH**

ppa.

ppa.


Dr. Heinz HAMMANN


Dr. Heinz-Gerd KLAES

Authorized Signatories

Date/Fecha: 8th of October, 2011

City/Country/Ciudad,País: Ingelheim am Rhein, Germany

UR.Nr. 2824/2011

It is herewith certified that above signatures of:

- Dr. Heinz **H a m m a n n**,
born 25th day of November 1949,
with business address at 55216 Ingelheim am Rhein, Binger Straße 173,
- Dr. Heinz-Gerd **K l ä s**,
born 09th day of February 1952,
with business address at 55216 Ingelheim am Rhein, Binger Straße 173,

personally known,
were duly given in my presence.

It is herewith certified that **Boehringer Ingelheim Vetmedica Gesellschaft mit beschränkter Haftung** is a corporation duly organized and existing under the laws of the Federal Republic of Germany having its principal place of business at Binger Straße 173, 55216 Ingelheim am Rhein, Germany.

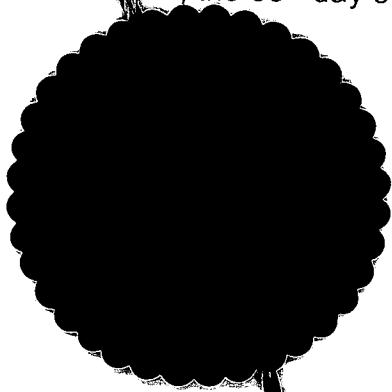
It has been entered into the Commercial Register of the District Court of Mainz under HR B 20491.

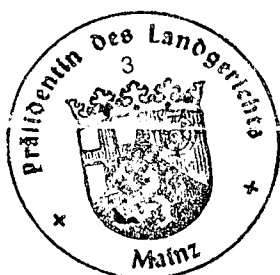
Furthermore, I certify that Dr. Heinz Hammann and Dr. Heinz-Gerd Kläs were authorized to sign the foregoing document and still are duly authorized to sign on behalf as procurists of **Boehringer Ingelheim Vetmedica Gesellschaft mit beschränkter Haftung**.

Ingelheim am Rhein, the 08th day of December 2011 /Ge



Notary public





Kostenrechnung:

Gebühr für die Erteilung
der Legalisation

Wert: 50.000,00 €

JVKostO v. 26.7.1957

i.V.m. § 45 KostO

Gebühr: 33,00 €

Mainz, den 12.12.11

Beyer
Beyer

Justizbeschäftigte

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Land: Bundesrepublik Deutschland

Diese öffentliche Urkunde

2. ist unterschrieben von Horst Heintskill

3. in seiner Eigenschaft als Notar

4. sie ist versehen mit dem Siegel/Stempel Horst Heintskill - Notar in Ingelheim am Rhein

Bestätigt

5. in Mainz 6. am 12.12.2011

7. durch die Präsidentin des Landgerichts

8. unter Nr. 2059/2011

9. Siegel/Stempel

10. Unterschrift



Marliese Dicke
Marliese Dicke

VIII-2-1	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	In relation to this international application BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA GMBH is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1(i v)		an assignment from BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA S.A. DE C.V. to BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA GMBH, dated 15 August 2011 (15.08.2011)

VIII-2-2	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	In relation to this international application BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA S.A. DE C.V. is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-2(i)		BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA S.A. DE C.V. is entitled as employer of the inventor, REALPE-QUINTERO, Mauricio
VIII-2-2(i)		BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA S.A. DE C.V. is entitled as employer of the inventor, GONZALEZ-HERNANDEZ, Paulino Carlos
VIII-2-2(i v)		an assignment from VAUGHN, Eric to BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA S.A. DE C.V., dated 23 April 2012 (23.04.2012)



- (51) **International Patent Classification:**
A61K 39/145 (2006.01)
- (21) **International Application Number:**
PCT/EP2012/065940
- (22) **International Filing Date:**
15 August 2012 (15.08.2012)
- (25) **Filing Language:** English
- (26) **Publication Language:** English
- (30) **Priority Data:**
61/523,772 15 August 2011 (15.08.2011) US
- (71) **Applicants (for all designated States except US):**
BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA S.A. DE C.V. [MX/MX]; Calle 30 2614, Guadalajara, Jalisco, 44940 (MX). **BOEHRINGER INGELHEIM VET-MEDICA GMBH** [DE/DE]; Binger Straße 173, 55216 Ingelheim am Rhein (DE).
- (72) **Inventors; and**
- (75) **Inventors/Applicants (for US only):** **REALPE-QUIN-TERO, Mauricio** [MX/MX]; Boehringer Ingelheim Vet-medica S.A. de C.V., Calle 30 No. 2614; Zona Industrial, Guadalajara, 44940 (MX). **GONZALEZ-HERNANDEZ, Paulino Carlos** [MX/MX]; Boehringer Ingelheim Vet-medica S.A. de C.V., Calle 30 No 2614, Zona Industrial, Guadalajara, 44940 (MX). **VAUGHN, Eric** [US/US]; Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc., 2621 North Belt Highway, St Joseph, Missouri 64506-2002 (US).
- (74) **Agents:** **SIMON, Elke** et al.; Boehringer Ingelheim GmbH, Corporate Patents, Binger Straße 173, 55216 Ingelheim am Rhein (DE).

(81) **Designated States** (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) **Designated States** (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
— with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

(54) **Title:** INFLUENZA H5 VACCINES

(57) **Abstract:** The present invention is based on the surprising finding that H5 protein of clade 1 H5N1 induces, in particular by a single-shot vaccination, a cross-clade protective immune response to influenza viruses with H5N1 HA. In one aspect, the invention is thus directed to H5 protein of clade 1 H5N1 virus for use in a method of treating or preventing infections with H5N1 virus of a different clade, namely of a clade different from clade 1 or from any clade with the exception of clade 1, respectively.



INFLUENZA H5 VACCINES

FIELD OF THE INVENTION

- 5 The present invention relates to the field of medicine, preferably to the field of infectious diseases. In particular the present invention relates to influenza proteins and vaccines. Most particularly, the present invention relates to the use of any of such proteins or vaccines for the treatment and prevention of influenza infections, furthermore for the prevention of intra- and inter-species transmission of influenza virus.

10

BACKGROUND OF THE INVENTION

- Influenza infection remains an important infection in animals and humans. Influenza is caused by viruses that undergo continuous antigenic changes/modifications and that possess an animal reservoir. Thus new epidemics and pandemics may occur in the future, and eradication of the disease will be difficult to achieve. Influenza viruses are well known in the art and described more in detail for example by *P. Palese, Nature Medicine, vol. 10, no. 12, pp. S 82 to S 86 of December 2004*, with further references. Briefly, the genome of the influenza A virus consists of eight single-stranded segments, and the viral particles has two major glycoproteins on its surface: hemagglutinin (H) and neuraminidase (N).
- 15 With at least 16 different hemagglutinin (H1 to H16) and 9 different neuraminidase (N1 to N9) subtypes, there is a considerable antigenic variation among influenza viruses.

- Influenza virus of type H5N1 Fowl Plague virus has been demonstrated to infect poultry, pigs and man. The viruses can also be transmitted directly from avian species to humans
- 25 (*Claas et al., Lancet 1998, 351: 472; Suarez et al., J. Virol. 1998, 72: 6678; Subbarao et al., Science 1998, 279: 393; Shortridge, Vaccine 1999, 17 (Suppl. 1): S26-S29*). Mortality in known human clinical cases approaches about 50%.

- Over the last century pigs have been an important vector for influenza pandemics. Pigs, camels, and seals, preferably pigs, can serve as a 'mixing chamber' for avian influenza viruses, and therefore represent a potential risk factor for overcoming the species hurdles from poultry, the naturally reservoir of influenza viruses, to mammals. This normally occurs by double infections of the susceptible animals, e.g. pig, with both, an established mammalian (porcine), as well as an avian influenza virus. This double infection may
- 30

create new recombinant viruses that may be the cause of human or porcine pandemics. Recent evidence would, however, indicate that a recombination of current avian H5 strains with mammalian influenza viruses will not result in highly virulent recombinants. On the other hand, avian influenza virus can infect pigs and by spontaneous mutations can become adapted to pigs. The critical hurdle will be overcome as soon as the virus can
5 cause horizontal infections within a pig (or other mammalian) population.

Yet, a major part of Southeast Asian pigs have been infected with avian (H5) influenza virus strains originating from neighbouring poultry husbandry. As those infections have so far been sub-clinical, they can only be diagnosed by laboratory methods and thus are
10 frequently overlooked. There is a high risk that those sub-clinically-infected pigs will serve as an opportunity for the virus to adapt to the mammalian system, spread within the porcine population, and also infect human beings.

Current influenza vaccines include a subunit vaccine (*Babai et al., Vaccine 1999, 17(9–10):1223-1238; Crawford et al., Vaccine 1999, 17(18):2265-2274; Johansson et al., Vaccine 1999, 17(15–16):2073-2080*) attenuated vaccine (*Horimoto et al., Vaccine 2004, 22(17–18):2244-2247*), DNA vaccine (*Watabe et al., Vaccine 2001, 19(31):4434-4444*) and inactivated influenza vaccine (*Cao et al., Vaccine 1992, 10(4):238-242*), with the latter
20 being the most widely used on a commercial scale (*Lipatov et al., J Virol 2004, 78(17):8951-8959*).

Subunit vaccines, recombinant hemagglutinin and neuraminidase (*Babai et al., Vaccine 1999, 17(9–10):1223-1238; Crawford et al., Vaccine 1999, 17(18):2265-2274; Johansson et al., Vaccine 1999, 17(15–16):2073-2080*) may be an attractive alternative to the
25 inactivated vaccine, although none are currently in use as commercial vaccines. The preparation of such vaccines is obviously safer than for an inactivated vaccine. Moreover, subunit vaccines do not generate antibody responses to internal influenza viral proteins and thus allow distinction between vaccinated and infected animals (*Crawford et al., Vaccine 1999, 17(18):2265-2274*).
30

Hemagglutinin protein is the receptor-binding and membrane fusion glycoprotein of influenza virus and the target for infectivity-neutralizing antibodies. The entire hemagglutinin protein (HA) from the H5N1 is composed of 568 amino acids, with a

molecular weight of 56 kDa. The HA molecule consists of HA1 and HA2 subunits, with the HA1 subunit mediating initial contact with the cell membrane and HA2 being responsible for membrane fusion (*Chizmadzhev, Bioelectrochemistry 2004, 63(1–2):129-136*).

- 5 Baculovirus/insect cell systems have been used to express hemagglutinin genes isolated from avian influenza subtypes (*Babai et al., Vaccine 1999, 17(9–10):1223-1238; Crawford et al., Vaccine 1999, 17(18):2265-2274; Johansson et al., Vaccine 1999, 17(15–16):2073-2080; Nwe et al., BMC Microbiology 2006, 6(16):doi:10.1186/1471-2180-6-16*). However, those recombinant proteins seem not to be protective in any case, or only less effective at
10 least for some species (*Treanor et al., Vaccine 2001, 19: 1732-1737*).

The document Lin *et al.* (*J Vet Med Sci. 2008 70(11):1147-52*) discloses the use of a baculovirus/insect cell system for the production of H5 protein of clade 2 H5N1 virus A/duck/China/E319-2/03, which is usable for a prime-booster vaccination for preventing
15 an infection with the clade 2 virus A/duck/China/E319-2/03.

Bright *et al.* (*PLoS One. 2008 30;3(1):e1501*) describes the use of a baculovirus/insect cell system for generating virus-like particles (VLPs) which include neuraminidase, hemagglutinin and matrix 1 protein from clade 2 H5N1 virus for inducing a cross-clade
20 protective immune response against a challenge with clade 1 H5N1 virus A/VN/1203/2004 in mice. However, the production of VLPs is not without problems, since in order to generate a functional VLP that effectively mimic a real virus, multiple virus structural proteins are needed which must then be correctly assembled into a particle that reproduces the confirmation of the outer shell (capsid) of the infectious virus. Further,
25 study also reveals that in vitro assembly of VLPs competes with aggregation (*Ding et al. Biotechnology and Bioengineering 107 (3): 550–560*).

Thus, there is a need to increase availability of improved vaccines and new vaccination approaches to provide better approaches to control influenza infections and to have a
30 positive impact on disease load. In particular, there is a strong need for a simple, effective and easy-to-handle system inducing, preferably by a single-shot vaccination, a cross-clade protective immune response to influenza viruses with H5N1 HA.

DESCRIPTION OF THE INVENTION

Before the embodiments of the present invention it shall be noted that as used herein and in the appended claims, the singular forms "a", "an", and "the" include plural reference unless the context clearly dictates otherwise. Thus, for example, reference to "a preparation" includes a plurality of such preparations; reference to the "carrier" is a reference to one or more carriers and equivalents thereof known to those skilled in the art, and so forth. Unless defined otherwise, all technical and scientific terms used herein have the same meanings as commonly understood by one of ordinary skill in the art to which this invention belongs. All given ranges and values may vary by 1 to 5 % unless indicated otherwise or known otherwise by the person skilled in the art, therefore, the term "about" was omitted from the description. Although any methods and materials similar or equivalent to those described herein can be used in the practice or testing of the present invention, the preferred methods, devices, and materials are now described. All publications mentioned herein are incorporated herein by reference for the purpose of describing and disclosing the substances, excipients, carriers, and methodologies as reported in the publications which might be used in connection with the invention. Nothing herein is to be construed as an admission that the invention is not entitled to antedate such disclosure by virtue of prior invention.

The solution to the above technical problem is achieved by the description and the embodiments characterized in the claims.

Influenza proteins and nucleic acid molecules coding for those

The present invention is based on the surprising finding that H5 protein of clade 1 H5N1 induces, in particular by a single-shot vaccination, a cross-clade protective immune response to influenza viruses with H5N1 HA. As one feature, the H5 protein of clade 1 H5N1 virus, which is for reasons of clarity also termed "H5 protein (1)" herein, comprises or consists of a polypeptide sequence having at least 98% sequence identity with the polypeptide sequence set forth in SEQ ID NO:1.

30

A "single-shot vaccination" refers to an immunogenic composition that is effective at reducing the incidence of or severity of infection after a single dose thereof, without the need for a booster.

In one aspect, the invention is thus directed to H5 protein (1) of clade 1 H5N1 virus for use in a method of treating or preventing infections with H5N1 virus of a different clade, namely of a clade different from clade 1 or from any clade with the exception of clade 1, respectively, wherein said H5 protein (1) comprises or consists of a polypeptide sequence
5 having at least 98% sequence identity with the polypeptide sequence of SEQ ID NO:1.

The term "clade" or "clades" as used herein relates to the clade(s) of the WHO Nomenclature System for the highly Pathogenic Avian Influenza Virus (H5N1), which is summarized at the WHO website URL:

10 who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/nomenclature/en/ (12.08.2011), which is incorporated herein by reference.

10 distinct initial clades of viruses (numbered 0-9) are defined (WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group, 2008), which are called first order clades. Clades are strictly defined on the nucleotide level as meeting the following three specific clade definition
15 criteria developed by the WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group:

- sharing of a common (clade-defining) node;
- monophyletic grouping with a bootstrap value of ≥ 60 at the clade-defining node (after 1000 neighbor-joining bootstrap replicates); and
- average percentage pairwise nucleotide distances between and within clades of
20 $>1.5\%$ and $<1.5\%$, respectively.

As the viruses within these 10 clades continue to evolve, new sublineages (potential H5N1 clades) periodically emerge. Once these sublineages meet the same three specific clade definition criteria as the initial 10 clades (numbered 0-9), they are designated as separate clades (WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group Emerg. Inf. Dis. 14, 7
25 (2008). These new clades are defined as second (or third, etc) order clades and assigned a numerical 'address' which links them to their original clade using a hierarchical decimal numbering system. For example, within the antigenically distinct clade 2.3, third order clades meeting the clade definition are designated as clades 2.3.1 and 2.3.2 and so on. This logical hierarchal numbering system is objectively related to HA phylogeny.

The criteria used for the clade designation according to the WHO Nomenclature System for H5N1 are:

1 Maintain previously designated clade numbers where possible (i.e., clade 2.2 remains 2.2 and clade 1 remains 1)

2 New clade designations based on phylogenetic tree topology derived from all available sequences (the large tree)

H5N1 progenitors (closest to Gs/Guangdong/1/96) re-designated as clade 0

Subsequent clades numbered starting from clade 3 (i.e., clades 3–9)

Clades designated by presence of a distinct common node shared by at least 4 isolates (in a monophyletic group)

Additional branches designated as a single clade evolves into more than one distinct lineage (i.e., clade 2.2 or clade 2.3.1; based on sharing of a common node and monophyletic grouping)

3 Average percentage pairwise distances between and within clades (using Kimura 2-parameter)

Distinct clades should have >1.5% average distances between other clades

Distinct clades should have <1.5% average distances within the clade (may be slightly higher in clades with highly evolved outliers; i.e., Ck/Shanxi/2/2006 in clade 7)

4 Bootstrap (based on 1,000 neighbor-joining bootstrap replicates) $\geq 60\%$ bootstrap value at clade-defining node

(taken from Table 1 of: WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group Emerg. Inf. Dis. 14, 7 (2008)).

5

The prototype strain for each clade is listed in the following Table:

<u>Clade</u>	<u>Prototype strain</u>
0	Gs/Guangdong/1/96
3	Ck/Hong Kong/YU562/2001
4	Gs/Guiyang/337/2006
5	Gs/Guangxi/914/2004
6	Ck/Hunan/01/2004
7	Ck/Shanxi/2/2006
8	Ck/Hong Kong/YU777/2002

9	Dk/Guangxi/2775/2005
1	Vietnam/1203/2004
2.1.1	Ck/Indonesia/BL/2003
2.1.2	Indonesia/538H/2006
2.1.3	Indonesia/5/2005
2.2	BHGs/Qinghai/1A/2005
2.3.1	Dk/Hunan/303/2004
2.3.2	Ck/Guangxi/2461/2004
2.3.3	Ck/Guiyang/3055/2005
2.3.4	Dk/Fujian/1734/2005
2.4	Ck/Yunnan/115/2004
2.5	Ck/Korea/ES/2003
2.5	Ck/Korea/ES/2003

(taken from Table 2 of: WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group Emerg. Inf. Dis. 14, 7 (2008)).

5 The publication WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group Emerg. Inf. Dis. 14, 7 (2008), which is incorporated herein by reference, is found at the CDC website URL: cdc.gov/EID/content/14/7/e1.htm (12.08.2011).

10 An overview of the clade classification of known H5N1 viruses is provided by the phylogenetic tree at the WHO website URL: who.int/csr/disease/avian_influenza/H5CompleteTree.pdf (15.08.2011), which is hereby incorporated by reference.

15 For determining the clade of a H5 protein of H5N1, for example, the web based tool "Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) H5N1 HA clade prediction" can be used, which is described by Lu, Davis, Rowley, and Donis: "A Web-based tool for the clade designation of highly pathogenic avian influenza H5N1 viruses" in Options for the Control of Influenza VI. J.M. Katz, N. Cox & A.W. Hampson (Eds.) London: Blackwell, 2007, herein incorporated by reference, and which is found at the website URL: h5n1.flugenome.org/grouping.php (12.08.2011).

For example, a H5 protein of clade 1 H5N1 virus (H5 protein (1)) is thus a HA with an amino acid sequence encoded by a nucleotide sequence of a clade 1 according to the above-mentioned WHO Nomenclature System for H5N1.

5 A clade 2.3.1 H5N1 virus, for instance, is hence a H5N1 falling under the criteria of a clade 2.3.1 according to the above-mentioned WHO Nomenclature System for H5N1.

In a preferred embodiment, the H5 protein (1) according to the invention, namely the H5 protein of clade 1 H5N1 virus as described herein, comprises or consists of a polypeptide sequence having at least 98.1%, preferably at least 98.2%, more preferably at least
10 98.3%, and most preferably at least 98.4% sequence identity with the polypeptide sequence of SEQ ID NO:1.

Sequence identity in the context of the invention is understood as being based on determined pairwise similarity between protein sequences. The determination of percent
15 similarity between two sequences is preferably accomplished using a computational algorithm, in particular the well-known Basic Local Alignment Search Tool (Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ: Basic local alignment search tool. J Mol Biol 1990, 215(3):403-410). For purposes of the present invention, percent sequence identity of an amino acid sequence is determined using the BLAST blastp homology search
20 algorithm using the following parameters: an expected threshold of 10, word size 3, BLOSUM62 matrix, gap opening penalty of 11, a gap extension penalty of 1, and conditional compositional score matrix adjustment. The database to search against is the set of non-redundant protein sequences (nr). The BLAST homology search algorithm is described in Altschul SF (1990), J Mol Biol 1990, 215(3):403-410, which is herein
25 incorporated by reference.

A variant may, for example, differ from the reference accession number BAE07201 molecule without signal peptide (N-terminal 16 amino acid residues are not shown in SEQ ID NO:1) by as few as 1 to 15 amino acid residues, as few as 1 to 10 amino acid
30 residues, such as 6-10, as few as 5, as few as 4, 3, 2, or even 1 amino acid residue.

In one exemplary embodiment, the H5 protein (1) according to the invention, i.e. the H5 protein (1) of clade 1 H5N1 virus for use in a method of treating or preventing infections with H5N1 virus of a different clade, is preferably a H5 protein of influenza virus, wherein the H5 protein having the amino acid 223N and the modification 328K+, wherein

numbering of the amino acid positions of the H5 protein refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:2 and wherein the modification 328K+ means that at amino acid position 328 of H5 protein a second Lysine (K+) is inserted. Said preferred H5 protein (1) is also termed Mut k+ or mutK+ in the following. Preferably, such H5 protein
5 and any further H5 protein according to the invention is an isolated H5 protein.

The term "H5 protein (1) of clade 1 H5N1", as used herein, preferably means "H5 protein (1) as single antigen of clade 1 H5N1 virus" or in particular "H5 protein (1) as single antigen".
10

The terms "hemagglutinin 5 (H5)" or "H5 of avian influenza virus" or "H5 protein" as used herein are equivalent and mean, but are not limited to any naturally occurring H5 protein and any modified forms of H5 protein, including any deletion, substitution and/or insertion mutant of H5 protein.
15

The numbering of the amino acid positions of the H5 protein (1) Mut k+ as used herein refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:2. SEQ ID NO:2 represents the amino sequence of the hemagglutinin of strain duck/China/E319-2/03 but lacking the amino terminal signal peptide. In other words, if reference is made to the amino acid at position 223 (amino acid 223), the amino acid residue is meant which corresponds to amino acid 223 of SEQ ID NO:2. However, this does not mean that the H5 protein Mut k+ according to the invention has the identical amino acid sequence with SEQ ID NO:2. It only says, that the corresponding amino acids of the H5 proteins according to the inventions code for the amino acid residue, as explicitly mentioned. In the current case, amino acid 223 would be Serine (S). The terms "223N", or "155N" exemplarily mean, that the amino acid at positions 223 and 155, respectively – numbering according to the amino acid positions of SEQ ID NO:2 -, that shall code for the amino acid Asparagine (N). In other words, if reference is made to "H5 protein (1) having the amino acid 223N", a H5 amino acid molecule that normally codes for Serine at amino acid
20 position 223 - numbering according to the amino acid positions of SEQ ID NO:2 – that amino acid shall be substituted by an Asparagine (N). The term "328K+" or "modification 328K+" means, that at amino acid position 328 of H5 protein - numbering according to the amino acid positions of SEQ ID NO:2 – , a second Lysine (K+) is inserted. In cases were amino acids sequences at positions 328 and 329 naturally codes for Lysine-Lysine, no
25
30

further Lysine (K) shall be inserted. However, most of the known H5 sequences code at amino acid positions 328 and 329 for Lysine-Arginine. In any such cases, the term 328K+ modification means, that a second Lysine (K) shall be inserted between Lysine at position 328 and Arginine at position 329. The modified sequence would read then Lysine-Lysine-Arginine (KKR).

Regarding the present example, the hemagglutinin of strain duck/China/E319-2/03 is shifted to a H5 protein (1) of clade 1 H5N1, since it resembles the H5 sequence of the clade 1 H5N1 virus A/HongKong/213/2003, the year/location/host of this HK isolate, and shows reactivity with clade-1-specific antibodies. Hence the Mut K+ sequence is classified as a H5 sequence of a clade 1 H5N1. Within the context of the invention, the designed Mut K+ sequence is thus understood and defined to be a H5 protein of clade 1 H5N1 virus.

Thus, in particular also any designed H5 protein is understood and defined as a H5 protein of clade 1 H5N1 virus according to the invention, if it is encoded by a nucleotide sequence which fulfils the criteria of a nucleotide sequence of a clade 1 according to the above-mentioned WHO Nomenclature System for H5N1.

Thus, in one embodiment, the present invention is implemented with a H5 protein and any modified forms of H5 protein, including any deletion, substitution and/or insertion mutant of H5 protein, wherein those H5 proteins having the amino acid 223N and the modification 328K+, wherein numbering of the amino acid positions of the H5 protein refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:2 and wherein the modification 328K+ means that at amino acid position 328 of H5 protein a second Lysine (K+) is inserted. It is self-explanatory, that any of the H5 proteins as provided herewith are antigenic, which mean they show antigenic properties in a standard hemagglutinin inhibition assay for influenza viruses.

According to a further embodiment, the present invention also relates to any part of the H5 protein (1), which means any peptide-fragment which shows antigenic properties in a standard hemagglutinin inhibition assay, having in one embodiment at least the amino acid 223N and the modification 328K+, wherein numbering of the amino acid positions of the H5 protein refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:2 and

wherein the modification 328K+ means that at amino acid position 328 of H5 protein a second Lysine (K+) is inserted.

- A H5 protein (1) shows antigenic properties if it inhibits hemagglutination in a standard hemagglutinin inhibition assay, for example, as described in Example 2. Normally said antigenic part of H5 protein (1) comprises 200, 180, 160, 150, 140, 130, 120, 110 or most preferably 105 contiguous amino acids of the amino acid sequence that codes for the H5 protein as mentioned above, modified or non-modified, which shows antigenic properties in an standard hemagglutinin inhibition assay as described in Example 2. A standard hemagglutinin inhibition assay for example is also described in Stephenson et al., Virus Research vol. 103, pp. 91-95 (2004) with further references. However, the HI assay as described in Example 2 shall be understood to be the relevant reference assay in connection with all aspects of the invention as described herein:
- Briefly, HI assay was performed to detect the presence of HA-specific antibodies. A heterologous H5N2 virus, A/chicken/Mexico/232/94, was used at a concentration of four hemagglutinating units [4 HA units] in the HI assay. In U-bottomed microtiter plates serial two-fold serum dilutions in PBS were subsequently mixed with equal volumes (25 μ L) containing 4 HA units of virus, and incubated at room temperature (about 25°C) for 30 min. Chicken red blood cells, at a concentration of 0.5% in PBS, were added to the serum-virus containing wells and incubated for 40 min at room temperature. The HI titers were determined as reciprocals of the highest serum dilutions in which inhibition of hemagglutination was observed.
- Of note, *Haesebrouck and Pensaert (1986)* found "that there may exist a correlation between the HI titers against the challenge virus and protection from challenge". *Haesebrouck and Pensaert (1986)* also determined that pigs with HI titers of ≥ 40 were "completely resistant to challenge and no replication of the virus occurred in the respiratory tract at challenge". Thus, the development of HI titers ≥ 40 in the vaccinated swine would correlate to protection. (*F. Haesebrouck and M.B. Pensaert, 1986*). Effect of intratracheal challenge of fattening pigs previously immunized with an inactivated influenza H1N1 vaccine (*Veterinary Microbiology, 11 (1986) 239–249*). It has to assume that equivalent or at least nearly equivalent H5 HI titers will also result in a complete immune protection of swine against avian influenza virus. Lower titers, at least result in a

seroconversion of the vaccinated animals and result in partial immune protection of those animals, which also can dramatically reduce the risk of a pandemics.

Moreover, an antigenic part of the H5 protein (1) according to the invention includes, but is not limited to deletion mutants of H5 protein, which comprises:

- i. at least 35, 30, 25, 20, 18, 15, 13, 10, 9, or most preferably 8 contiguous amino acids of the amino acid sequence that surrounds and includes the amino acid 223N; and
- ii. at least 35, 30, 25, 20, 18, 15, 13, 10, 9, or most preferably 8 contiguous amino acids of the amino acid sequence that surrounds and includes the amino acid modification 328K+, and
- iii. wherein any of such antigenic part of H5 protein shows hemagglutinin inhibition in a standard hemagglutinin inhibition assay as described in Example 2.

- 15 Preferably, those surrounding amino acids of amino acid 223N and/or 328K+ are encoded by SEQ ID NO:2 or SEQ ID NO:5.

Furthermore preferred H5 proteins (1) according to the invention are:

- i. any of those mentioned above having the amino acid 223N and the modification 328K+;
- ii. any of those mentioned above having the amino acid 94N/223N and the modification 328K+;
- iii. any H5 protein of avian origin having the amino acid 223N, and the modification 328K+, wherein avian origin means that the H5 sequence derived from a virus isolate that was originally isolated from a poultry infected with avian influenza virus type 5; or
- iv. any H5 protein of avian origin having the amino acids 94N/223N and the modification 328K+, wherein avian origin means that the H5 sequence derived from a virus isolate that was originally isolated from poultry infected with avian influenza virus type 5; or
- v. any H5 protein of avian origin having the amino acids 155N/223N and the modification 328K+, wherein avian origin means that the H5 sequence derived

- from a virus isolate that was originally isolated from poultry infected with avian influenza virus type 5; or
- vi. any H5 protein of avian origin having the amino acid 120N/155N/223N and the modification 328K+, wherein avian origin means that the H5 sequence derived from a virus isolate that was originally isolated from poultry infected with avian influenza virus type 5; or
- vii. any H5 protein having the modifications 94N/223N and the modification 328K+; or
- viii. any H5 protein having the modifications 94N/155N/223N and the modification 328K+; or;
- ix. any H5 protein having the modifications 94N/120N/155N/223N and the modification 328K+; or
- x. any H5 protein having the modifications 223N, the modification 328K+, and one or more of the following amino acid clusters selected from the group consisting of:
- a. aa 93 - 95: GNF
 - b. aa 123 - 125: SDH
 - c. aa 128 - 130: SSG
 - d. aa 138 - 140: GSS
 - e. aa 226 - 228: MDF
 - f. aa 270 - 272: EVE
 - g. aa 309 - 311: NKL; or
- xi. any H5 protein having the amino acid 223N, and the modification 328K+, and one or more of the following amino acid clusters selected from the group consisting of:
- a. aa 93 - 95: GNF
 - b. aa 128 - 130: SSG
 - c. aa 138 - 140: GSS; or
- xii. any H5 protein having the amino acid sequence of SEQ ID NO:5.

Furthermore preferred H5 proteins (1) as provided herewith include the H5 proteins as described by *Hoffmann et al, PNAS, vol. 106, no.36, pp. 12915-12920 of September 6, 2005*, wherein that H5 proteins includes one or more of the modifications as described above, at least the amino acid 223N and the modification 328K+, wherein numbering of the amino acid positions of the H5 protein refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:2 and wherein the modification 328K+ means that at amino acid

position 328 of H5 protein a second Lysine (K+) is inserted. The disclosure of this reference shall be entirely included herein by reference.

Furthermore preferred H5 proteins (1) as provided herewith include H5 proteins which
 5 comprise a peptide that comprises the amino acid 223N and the modification 328K+, wherein numbering of the amino acid positions of the H5 protein refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:2 and wherein the modification 328K+ means that at amino acid position 328 of H5 protein a second Lysine (K+) is inserted, and:

- i. the amino acid sequences of SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4; SEQ ID
 10 NO:5; SEQ ID NO:6 or SEQ ID NO:7 or;
- ii. any peptide that has at least 85% sequence homology, more preferably at least about 90% sequence homology, still more preferably at least about 95% sequence homology, even more preferably at least about 97% sequence homology, still even more preferably at least about 98% sequence homology, and even more
 15 preferably at least about 99% sequence homology to the polypeptide of i) that comprises hemagglutinin inhibition in a standard hemagglutinin inhibition as described above; or
- iii. any antigenic part of the polypeptides of i) or ii) comprising at least 35, 30, 25, 20, 18, 15, 13, 10, 9, or most preferably 8 contiguous amino acids of any of peptides
 20 of i) or ii).
- iv. any peptides of i), ii) or iii) having the amino acids 36T, 36K, 83A, 83T, 83D, 86A, 86V, 120N, 120S, 155N, 155S, 156A, 156T, 189R, 189K, 212K, 212R, 212E, 223N, 223N, or 120N/155N.
- v. any peptide of i), ii), iii) or iv) having one or more of the following amino acid
 25 clusters selected from the group consisting of:
 - a. aa 93 - 95: GNF
 - b. aa 123 - 125: SDH
 - c. aa 128 - 130: SSG
 - d. aa 138 - 140: GSS
 - 30 e. aa 226 - 228: MDF
 - f. aa 270 - 272: EVE
 - g. aa 309 - 311: NKL; or

vi. any peptide of i), ii) iii) or iv) having one or more of the following amino acid clusters selected from the group consisting of:

a. aa 93 - 95: GNF

b. aa 128 - 130: SSG

5 c. aa 138 - 140: GSS.

"Sequence homology", as used herein, refers to a method of determining the relatedness of two sequences. To determine sequence homology, two or more sequences are optimally aligned, and gaps are introduced if necessary. In contrast to sequence identity, 10 conservative amino acid substitutions are counted as a match when determining sequence homology. In other words, to obtain a polypeptide or polynucleotide having 95% sequence homology with a reference sequence, 85%, preferably 90%, even more preferably 95% of the amino acid residues or nucleotides in the reference sequence must match or comprise a conservative substitution with another amino acid or nucleotide, or a 15 number of amino acids or nucleotides up to 15%, preferably up to 10%, even more preferably up to 5% of the total amino acid residues or nucleotides, not including conservative substitutions, in the reference sequence may be inserted into the reference sequence. Preferably the homolog sequence comprises at least a stretch of 50, even more preferred of 100, even more preferred of 250, even more preferred of 500 20 nucleotides. Upon such alignment, sequence homology is ascertained on a position-by-position basis, e.g., the sequences are "homolog" at a particular position if at that position, the nucleotides or amino acid residues are identical. The total number of such position identities is then divided by the total number of nucleotides or amino acid residues in the reference sequence to give % sequence homology. Sequence homology can be readily 25 calculated by known methods, including but not limited to, those described in Computational Molecular Biology, Lesk, A. N., ed., Oxford University Press, New York (1988), Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York (1993); Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey (1994); Sequence Analysis in Molecular 30 Biology, von Heinge, G., Academic Press (1987); Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M. Stockton Press, New York (1991); and Carillo, H., and Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48: 1073 (1988), the teachings of which are incorporated herein by reference. Preferred methods to determine the sequence homology are designed to give the largest match between the sequences tested. Methods to determine

sequence homology are codified in publicly available computer programs which determine sequence identity between given sequences. Examples of such programs include, but are not limited to, the GCG program package (Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research, 12(1):387 (1984)), BLASTP, BLASTN and FASTA (Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990)). The BLASTX program is publicly available from NCBI and other sources (BLAST Manual, Altschul, S. et al., NCVI NLM NIH Bethesda, MD 20894, Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990), the teachings of which are incorporated herein by reference). These programs optimally align sequences using default gap weights in order to produce the highest level of sequence homology between the given and reference sequences.

Furthermore preferred H5 proteins (1) include H5 proteins which comprise the 328K+ modification as mentioned above, and the amino acid sequence provided in TABLE 1, or any immunogenic part thereof:

TABLE 1 H5 antigens

Sequence name	Basic-sequence	Amino acid positions [#]									
		36	83	86	120	155	156	189	212	223	263
223N/328K+	any HA H5	-	-	-	-	-	-	-	-	N	-
36T/223N/328K+	any HA H5	T	-	-	-	-	-	-	-	N	-
36K/223N/328k+	any HA H5	K	-	-	-	-	-	-	-	N	-
83A/223N/328k+	any HA H5	-	A	-	-	-	-	-	-	N	-
83T/223N/328k+	any HA H5	-	T	-	-	-	-	-	-	N	-
83D/223N/328k+	any HA H5	-	D	-	-	-	-	-	-	N	-
86A/223N/328k+	any HA H5	-	-	A	-	-	-	-	-	N	-
86V/223N/328k+	any HA H5	-	-	V	-	-	-	-	-	N	-
120N/223N/328k+	any HA H5	-	-	-	N	-	-	-	-	N	-
120S/223N/328k+	any HA H5	-	-	-	S	-	-	-	-	N	-
155N/223N/328k+	any HA H5	-	-	-	-	N	-	-	-	N	-
155S/223N/328k+	any HA H5	-	-	-	-	S	-	-	-	N	-
156A/223N/328k+	any HA H5	-	-	-	-	-	A	-	-	N	-
156T/223N/328k+	any HA H5	-	-	-	-	-	T	-	-	N	-
189R/223N/328k+	any HA H5	-	-	-	-	-	-	R	-	N	-
189K/223N/328k+	any HA H5	-	-	-	-	-	-	K	-	N	-
212K/223N/328k+	any HA H5	-	-	-	-	-	-	-	K	N	-
212R/223N/328k+	any HA H5	-	-	-	-	-	-	-	R	N	-
212E/223N/328k+	any HA H5	-	-	-	-	-	-	-	E	N	-
223N/263A/328k+	any HA H5	-	-	-	-	-	-	-	-	N	A
223N/263T/328k+	any HA H5	-	-	-	-	-	-	-	-	N	T
120N/155N/223N/328k+	any HA H5	-	-	-	N	N	-	-	-	N	-

A/duck/China/E319-2/03/328k+	AAR99628	T	A	A	S	D	A	R	K	N	A
A/duck/China/E319-2/03_223N/328k+	AAR99628	T	A	A	S	D	A	R	K	N	A
A/duck/China/E319-2/03_120N/223N/328k+	AAR99628	T	A	A	N	D	A	R	K	N	A
A/duck/China/E319-2/03_155N/223N/328k+	AAR99628	T	A	A	S	N	A	R	K	N	A
A/duck/China/E319-2/03_120N/155N/223N/328k+	AAR99628	T	A	A	S	N	N	R	K	N	A
HA/HK/213/03/328k+	AY518362	T	A	A	N	N	A	R	K	N	A
HA/Vietnam/1203/04		K	T	V	S	S	T	K	R	N	T
HA/Vietnam/1203/04_223N/328k+		K	T	V	S	S	T	K	R	N	T
HA/Vietnam/3046/04_223N/328k+		T	A	V	S	S	T	K	R	N	T
HA/Vietnam/3062/04_223N/328k+		T	A	V	S	S	T	K	R	N	T
HA/chicken/Vietnam/39/04_223N/328k+		T	A	V	S	S	T	K	R	N	T
HA/falcon/HK-D0028/04_223N/328k+		T	A	A	S	S	A	K	E	N	A
HA/duck/Singapore/3/97_223N/328k+		T	D	V	S	N	A	K	E	N	A
HA/HK/156/97/328k+		T	A	A	S	S	A	K	E	N	T

the amino acid positions given in TABLE 1 refers to the positions as exemplarily defined in SEQ ID NO:2. In other words amino acid 223 of TABLE 1 refers to the amino acid 223 of the sequence of SEQ ID NO:2.

- 5 - means that the amino acids at this positions are variable as compared to the reference sequence.

Furthermore, the present invention also relates to H5 proteins (1) having at least the amino acid 223N and the modification 328K+, wherein numbering of the amino acid positions of the H5 protein refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:2 and wherein the modification 328K+ means that at amino acid position 328 of H5 protein a second Lysine (K+) is inserted, and comprises:

- i. a peptide having the sequences of NCBI Accession No. AAT65209, CAJ32556, ABC47656, CAF21874, CAF21870, AAC58998, AAC58997, AAC58996, AAC58994, AAC58993, AAC58992, AAC58991, AAC58990, AAC58995, AAS45134, AAN17270, AAN17269, AAN17268, AAN17267, AAN17266, AAN17265, AAN17264, AAN17263, AAN17262, AAN17261, AAN17260,

- 5 AAN17259, AAN17257, AAN17256, AAN17255, AAN17254, AAA43083,
 AAA43082, AAB19079, BAE48696, BAE48693, BAE48696, BAE48695,
 BAE48694, BAE48692, BAE48691, BAE48690, BAE48689, BAE48688,
 BAE48687, BAE48686, BAE48685, BAE48684, BAE48683, AAC58999,
 ABC72082, AAV91149, AAP71993, AAP71992, AAP71991, AAP71990,
 AAP71989, AAP72011, AAP72010, AAP72009, AAP72008, AAP72007,
 AAP72006, AAP72005, AAP72004, AAP72003, AAP72002, AAP72001,
 AAP72000, AAP71999, AAP71998, AAP71997, AAP71996, AAP71995,
 AAP71994, AAF99718, ABF58847, AAG38534, AAC32102, AAC32099,
 10 AAL75847, AAC32101, AAC32098, AAC32088, AAC32078, AAR99628,
 AAC32100, AAM49555, AAL75843, AAL75839, AAD13573, AAD13568,
 AAF04720, AAF04719, AAC34263, AAR16155, AAD13574, AAD13570,
 AAD13575, AAD13572, AAD13569, AAD13567, AAD13566, AAK57506,
 AAG01225, AAG01215, AAG01205, AAG01195, or ABD83813 modified in a
 15 manner described above, which means that those sequences include the above-
 mentioned modifications 223N and 328 K+ which are not part of the wild-type
 sequences; or
 ii. any peptide that has at least 85% sequence homology, more preferably at least
 20 about 90% sequence homology, still more preferably at least about 95% sequence
 homology, even more preferably at least about 97% sequence homology, still even
 more preferably at least about 98% sequence homology, and even more
 preferably at least about 99% sequence homology to the polypeptide of i) and that
 show hemagglutinin inhibition in a standard hemagglutinin inhibition as described
 above;
 25 iii. any of the peptides of i) or ii) having the amino acids 36T, 36K, 83A, 83T, 83D,
 86A, 86V, 120N, 120S, 155N, 155S, 156A, 156T, 189R, 189K, 212K, 212R, 212E,
 263A, 263T, or 120N/155N; or
 iv. any of such peptides of i), ii), or iii) having one or more of the following amino acid
 30 clusters selected from the group consisting of:
 a. aa 93 - 95: GNF
 b. aa 123 - 125 SDH
 c. aa 128 - 130: SSG
 d. aa 138 - 140: GSS
 e. aa 226 - 228: MDF

- f. aa 270 – 272: EVE
- g. aa 309 – 311: NKL; or
- v. any peptide of i), ii) iii) or iv) having one or more of the following amino acid clusters selected from the group consisting of:
 - 5 a. aa 93 - 95: GNF
 - b. aa 128 – 130: SSG
 - c. aa 138 - 140: GSS

10 Preferably, the H5 protein (1) for use in a method of treating or preventing infections with H5N1 virus of a different clade is recombinantly expressed and/or produced by a baculovirus expression system, preferably in cultured insect cells.

The term “H5 protein (1)” as mentioned herein is thus, in particular, equivalent to the term “recombinant H5 protein” used herein.

15 Regarding the H5N1 virus of a different clade, as mentioned herein, said H5N1 virus of a different clade is preferably selected from the group consisting of clade 0 H5N1 virus, clade 2 H5N1 virus, clade 3 H5N1 virus, clade 4 H5N1 virus, clade 5 H5N1 virus, clade 6 H5N1 virus, clade 7 H5N1 virus, clade 8 H5N1 virus and clade 9 H5N1 virus.

20 In a further preferred embodiment of the invention, the H5N1 virus of a different clade is clade 2.2 H5N1 virus or a clade 2.3 H5N1 virus.

In a particular preferred embodiment of the invention, the H5N1 virus of a different clade is a clade 2.2.1 H5N1 virus or a clade 2.3.2 H5N1 virus.

25 For reasons of clarity, H5 protein of the H5N1 virus of a different clade is termed “H5 protein (2)” hereinafter. Hence, H5 protein (2) as mentioned herein is in particular a H5 protein coded by the genome of a H5N1 of any clade with the exception of clade 1.

30 In still a further preferred embodiment, the H5N1 virus of a different clade is a H5N1 virus of North African or of Vietnamese origin, wherein said H5N1 virus of North African origin is preferably a H5N1 virus comprising a H5 protein (2) of influenza virus, wherein said H5 protein (2) has

- (a) the amino acids 113D, 126H, 145(-), 156R, 160F, 167T, and 181N, wherein the modification 145(-) means that amino acid position 145 of H5 is deleted, or
- (b) the amino acids 87P, 145L, 172T, 201E, 206I, 208K, 254T, 341G and 421K, or
- (c) the amino acids 145L, 172T, and 254V,
- 5 and wherein the numbering of the amino acid positions of the H5 protein (2) refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:8;
- or wherein said H5 protein (2) consists of or comprises an amino acid sequence which is at least 95%, preferably at least 96%, more preferably at least 97%, still more preferably at least 98%, yet more preferably at least 99%, or in particular preferred
- 10 100% homolog with any one of the sequences as set forth in SEQ ID NOs: 9 to 46.

In the context of the invention, said H5 protein (2) according to (a) is a Subclade A protein, and said H5 protein according to (b) or (c) is a Subclade B protein.

- 15 Within the context of the invention, it is understood that the term "amino acid" in particular refers to an amino acid residue or, respectively, to an amino acid which has been covalently linked via peptide bonds to two further amino acids or, if the amino acid is N- or C-terminally located in the peptide sequence, to one further amino acid.

- 20 In a still more preferred embodiment of the invention, the H5N1 virus of a different clade comprises H5 protein (2) having

- (a) the amino acids 87L, 113D, 126H, 145(-), 156R, 160F, 167T, and 181N, or
- (b) the amino acids 87P, 113N, 126R, 145L, 160Y, 172T, 181H, 201E, 206I, 208K, 254T, 341G and 421K, or
- 25 (c) the amino acids 87L, 113N, 126R, 145L, 156G, 160Y, 172T, 181H, and 254V,

and/or

wherein such H5 protein (2) comprises a peptide that comprises:

- i. any one of the amino acid sequences of SEQ ID NOs: 9 to 46;
- 30 ii. any peptide that has at least 85%, preferably at least 95%, even more preferably at least 96%, even more preferably at least 97%, even more preferably at least 98%, even more preferably at least 99%, most preferably

100% sequence homology to the polypeptide of i) and that comprises hemagglutinin inhibition in a standard hemagglutinin inhibition assay; or

iii. any part of the polypeptides of i) or ii) comprising at least 334 contiguous amino acids of any of such peptides of i) or ii) and wherein any of such peptide

5 comprises hemagglutinin inhibition in a standard hemagglutinin inhibition assay, and/or

wherein such H5 protein (2) consists of or comprises a contiguous amino acid sequence which has at least 95% even more preferably at least 96%, even more preferably at least 97%, even more preferably at least 98%, even more preferably at least 99%,

10 most preferably 100% sequence identity with any one of the sequences as set forth in SEQ ID NOs: 9 to 46.

More particular, the H5N1 virus of a different clade preferably comprises H5 protein (2) which consists of or comprises an amino acid sequence which is at least 95%, preferably

15 at least 96%, more preferably at least 97%, still more preferably at least 98%, yet more preferably at least 99%, or in particular preferred 100% homolog with any one of the sequences as set forth in SEQ ID NOs: 15 or 20, and wherein such H5 protein (2) comprising or consisting of the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO:20 are in particular more preferred.

20

In particular, the present invention is directed to the H5 protein (1) described herein for use in a method of treating or preventing infections

(A) with Subclade A H5N1 virus of North African origin, namely an infection with a H5N1 virus comprising a H5 protein (2) having the amino acids according to

25 (a) of claim 13 or 14 or comprising a H5 protein according to claim 16 or 17 relating to any one of the sequences as set forth in SEQ ID NOs: 9 to 19, or 42 or 43,

or

(B) with Subclade B H5N1 virus of North African origin, namely an infection with a H5N1 virus comprising a H5 protein having the amino acids according to (b)

30 or (c) of claim 13 or 14 or comprising a H5 protein according to claim 16 or 17 relating to any one of the sequences as set forth in SEQ ID NOs: 20 to 41, or 44 to 46.

According to a further embodiment, the present invention also relates to nucleic acid molecules, which code for any of the H5 proteins (1), as described *supra*, for use in a method of treating or preventing infections with H5N1 virus of a different clade. Preferably, those nucleic acid molecules are RNA, DNA or copy (c)DNA molecules. Thus, the present invention relates to a nucleic acid molecule, preferably a cDNA molecule coding for a H5 protein or any modified forms of H5 protein, including any deletion, substitution and/or insertion mutant of H5 protein, wherein those H5 proteins having the amino acid 223N and the modification 328K+, wherein numbering of the amino acid positions of the H5 protein refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:2 and wherein the modification 328K+ means that at amino acid position 328 of H5 protein a second Lysine (K+) is inserted.

According to a further embodiment, the present invention also relates to a nucleic acid molecule, preferably a cDNA molecule coding for any part of the H5 protein (1), which means encoding for any peptide-fragment which shows antigenic properties in an standard hemagglutinin inhibition assay as described *supra*, and having at least the amino acid 223N and the modification 328K+, wherein numbering of the amino acid positions of the H5 protein refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:2 and wherein the modification 328K+ means that at amino acid position 328 of H5 protein a second Lysine (K+) is inserted. Normally such nucleic acid molecules, which code for an antigenic part of H5 protein, comprise 600, 540, 480, 450, 420, 390, 360, 330 or most preferably 315 contiguous nucleotides of the nucleotide sequence that codes for the H5 protein as mentioned above, modified or non-modified, and which shows antigenic properties in an standard hemagglutinin inhibition assay as described herein.

Further embodiments of antigenic parts of the H5 protein (1) are described *supra*. It is in the common knowledge of a person skilled in the art to construct any such nucleic acid molecules, preferably cDNA molecules which codes for the antigenic part of the H5 protein as described *supra*. This also include but is not limited to the construction of nucleic acid molecules, preferably of cDNA molecules, which codes for antigenic parts of the H5 protein as mentioned above including deletion mutants of H5 protein, which comprises:

- i. at least 105, 90, 75, 60, 48, 45, 39, 30, 27, or most preferably 24 contiguous amino nucleotides of the nucleotide sequence that surrounds and includes the coding sequence that codes for amino acid 223N; and
 - ii. at least 105, 90, 75, 60, 48, 45, 39, 30, 27, or most preferably 24 contiguous amino nucleotides of the nucleotide sequence that surrounds and includes the coding sequence that codes for modification 328K+, and
 - iii. wherein any of such antigenic part of H5 protein show hemagglutinin inhibition in a standard hemagglutinin inhibition assay as described in Example 2.
- 10 Preferably, those surrounding nucleotides of the nucleotides, which code for amino acids 223N and/or 328K+, coding for SEQ ID NO:2 or SEQ ID NO:5.

Furthermore preferred nucleic acid molecules encoding for the H5 protein (1) according to the invention are:

- i. any of those mentioned *supra* encoding for the amino acid 223N and the modification 328K+;
- ii. any of those mentioned *supra* encoding for the amino acid 94N/223N and the modification 328K+;
- iii. any nucleic acid molecules of avian origin encoding for the amino acid 223N, and the modification 328K+, wherein avian origin means that the H5 sequence derived from a virus isolate that was originally isolated from poultry infected with avian influenza virus type 5; or
- iv. any nucleic acid molecules of avian origin encoding for the amino acids 94N/223N and the modification 328K+, wherein avian origin means that the H5 sequence derived from a virus isolate that was originally isolated from poultry infected with avian influenza virus type 5; or
- v. any nucleic acid molecules of avian origin encoding for the amino acids 155N/223N and the modification 328K+, wherein avian origin means that the H5 sequence derived from a virus isolate that was originally isolated from poultry infected with avian influenza virus type 5; or
- vi. any nucleic acid molecule encoding for H5 protein of avian origin having the amino acid 120N/155N/223N and the modification 328K+, wherein avian origin means

- that the H5 sequence derived from a virus isolate that was originally isolated from poultry infected with avian influenza virus type 5; or
- vii. any nucleic acid molecule encoding for H5 protein having the modifications 94N/223N and the modification 328K+; or
- 5 viii. any nucleic acid molecule encoding for H5 protein having the modifications 94N/155N/223N and the modification 328K+; or;
- ix. any nucleic acid molecule encoding for H5 protein having the modifications 94N/120N/155N/223N and the modification 328K+; or
- 10 x. any nucleic acid molecule encoding for H5 protein having the modifications 223N, the modification 328K+, and one or more of the following amino acid clusters selected from the group consisting of:
- a. aa 93 - 95: GNF
- b. aa 123 - 125: SDH
- c. aa 128 - 130: SSG
- 15 d. aa 138 - 140: GSS
- e. aa 226 - 228: MDF
- f. aa 270 - 272: EVE
- g. aa 309 - 311: NKL; or
- 20 xi. any nucleic acid molecule encoding for H5 protein having the amino acid 223N, the modification 328K+, and one or more of the following amino acid clusters selected from the group consisting of:
- a. aa 93 - 95: GNF
- b. aa 128 - 130: SSG
- c. aa 138 - 140: GSS; or
- 25 xii. any nucleic acid molecule encoding for H5 protein having the amino acid sequence of SEQ ID NO:5.

Furthermore preferred H5 proteins (1) as provided herewith include the H5 proteins as described by *Hoffmann et al, PNAS, vol. 106, no.36, pp. 12915-12920 of September 6,*

30 *2005*, wherein that H5 proteins includes one or more of the modifications as described above, at least the amino acid 223N and the modification 328K+, wherein numbering of the amino acid positions of the H5 protein refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:2 and wherein the modification 328K+ means that at amino acid

position 328 of H5 protein a second Lysine (K+) is inserted. The disclosure of this reference shall be entirely included herein by reference. Thus according to a further embodiment, the present invention also relates to any nucleic acid molecule, preferably a cDNA molecule coding for any of such proteins described by Hoffmann *et al*, *PNAS*, vol. 106, no.36, pp. 12915-12920 of September 6, 2005, wherein that H5 proteins includes one or more of the modifications as described above, at least the amino acid 223N and the modification 328K+, wherein numbering of the amino acid positions of the H5 protein refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:2 and wherein the modification 328K+ means that at amino acid position 328 of H5 protein a second Lysine (K+) is inserted.

Methods, of how to introduce any of the above-mentioned modifications within the nucleotide sequence, including the encoding sequence of the H5 protein of an influenza virus, are well known in the art. The genomic sequence of the entire influenza virus can be modified according to the invention, for example according to the methods described in US 6,951,754, with further references.

Furthermore, there may be employed conventional molecular biology, microbiology, and recombinant DNA techniques within the skill of the art to modify a nucleic acid sequence coding for an antigen as described herein. Such techniques are explained fully in the literature. See, e.g., Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition* (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; *DNA Cloning: A Practical Approach, Volumes I and II* (D. N. Glover ed. 1985); *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait ed. 1984); *Nucleic Acid Hybridization* [B. D. Hames & S. J. Higgins eds.(1985)]; *Transcription And Translation* [B. D. Hames & S. J. Higgins, eds. (1984)]; *Animal Cell Culture* [R. I. Freshney, ed. (1986)]; *Immobilized Cells And Enzymes* [IRL Press, (1986)]; B. Perbal, *A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984); F. M. Ausubel *et al.* (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc. 1994).

According to a further embodiment, the present invention also relates to a vector that comprises any of such nucleic acid molecules as described *supra*. In other words, the present invention relates to a vector, that includes the coding sequence of any such H5 protein (1), or part thereof as described *supra*. Preferably, said vector is an expression vector, which allows the expression of any such H5 protein (1) or part thereof as

described *supra*. Vectors according to the invention are those which are suitable for the transfection or infection of bacterial, yeast or animal cells, *in vitro* or *in vivo*.

Vectors and methods for making and/or using vectors (or recombinants) for expression
5 can be by or analogous to the methods disclosed in: U.S. Patent Nos. 4,603,112, 4,769,330, 5,174,993, 5,505,941, 5,338,683, 5,494,807, 4,722,848, 5,942,235, 5,364,773, 5,762,938, 5,770,212, 5,942,235, 382,425, PCT publications WO 94/16716, WO 96/39491, WO 95/30018, Paoletti, "Applications of pox virus vectors to vaccination: An update," PNAS USA 93: 11349-11353, October 1996, Moss, "Genetically engineered
10 poxviruses for recombinant gene expression, vaccination, and safety," PNAS USA 93: 11341-11348, October 1996, Smith et al., U. S. Patent No. 4,745,051, (recombinant baculovirus), Richardson, C.D. (Editor), Methods in Molecular Biology 39, "Baculovirus Expression Protocols" (1995 Humana Press Inc.), Smith et al., "Production of Human Beta Interferon in Insect Cells Infected with a Baculovirus Expression Vector", Molecular and
15 Cellular Biology, Dec., 1983, Vol. 3, No. 12, p. 2156-2165; Pennock et al., "Strong and Regulated Expression of Escherichia coli B-Galactosidase in Infect Cells with a Baculovirus vector," Molecular and Cellular Biology Mar. 1984, Vol. 4, No. 3, p. 399-406; EPA0 370 573, U. S. application No. 920,197, filed October 16, 1986, EP Patent publication No. 265785, U. S. Patent No. 4,769,331 (recombinant herpesvirus), Roizman,
20 "The function of herpes simplex virus genes: A primer for genetic engineering of novel vectors," PNAS USA 93:11307-11312, October 1996, Andreansky et al., "The application of genetically engineered herpes simplex viruses to the treatment of experimental brain tumors," PNAS USA 93: 11313-11318, October 1996, Robertson et al. "Epstein-Barr virus vectors for gene delivery to B lymphocytes", PNAS USA 93: 11334-11340, October 1996,
25 Frolov et al., "Alphavirus-based expression vectors: Strategies and applications," PNAS USA 93: 11371-11377, October 1996, Kitson et al., J. Virol. 65,3068-3075,1991; U. S. Patent Nos. 5,591,439, 5,552,143, WO 98/00166, allowed U. S. applications Serial Nos. 08/675,556, and 08/675,566 both filed July 3,1996 (recombinant adenovirus), Grunhaus et al., 1992,"Adenovirus as cloning vectors," Seminars in Virology (Vol. 3) p. 237-52,
30 1993, Ballay et al. EMBO Journal, vol. 4, p. 3861-65, Graham, Tibtech 8,85-87, April, 1990, Prevec et al., J. Gen Virol. 70,42434, PCT WO 91/11525, Felgner et al. (1994), J. Biol. Chem. 269,2550-2561, Science, 259: 1745-49,1993 and McClements et al., "Immunization with DNA vaccines encoding glycoprotein D or glycoprotein B, alone or in combination, induces protective immunity in animal models of herpes simplex virus-2

disease", PNAS USA 93: 11414-11420, October 1996, and U. S. Patent Nos. 5,591,639, 5,589,466, and 5,580,859, as well as WO 90/11092, WO93/19183, WO94/21797, WO95/11307, WO95/20660, Tang et al., Nature and Furth et al. Analytical Biochemistry, relating to DNA expression vectors, inter alia. See also WO 98/33510; Ju et al.,
5 Diabetologia, 41: 736-739, 1998 (lentiviral expression system); Sanford et al., U. S. Patent No. 4,945,050; Fischbach et al. (Intracel), WO 90/01543; Robinson et al., seminars in Immunology vol. 9, pp. 271-283 (1997), (DNA vector systems); Szoka et al., U. S. Patent No. (method of inserting DNA into living cells); McCormick et al., U. S. Patent No. 5,677,178 (use of cytopathic viruses); and U. S. Patent No. 5,928,913 (vectors for gene
10 delivery), as well as other documents cited herein, each of which is incorporated by reference herein.

A viral vector, for instance, selected from pig herpes viruses, such as Aujeszky's disease virus, porcine adenovirus, poxviruses, especially vaccinia virus, avipox virus, canarypox
15 virus, and swinepox virus, as well as DNA vectors (DNA plasmids) are advantageously employed in the practice of the invention.

Methods of producing the H5 proteins (1) according to the present invention

According to another aspect, the present invention provides methods of producing and/or
20 recovering high amounts of recombinant H5 protein: i) by permitting infection of susceptible cells in culture with a recombinant viral vector containing H5 DNA coding sequences, wherein H5 protein is expressed by the recombinant viral vector, and ii) thereafter recovering the H5 protein from cell culture. High amounts of H5 protein means, but are not limited to, more than about 20 µg/mL cell culture, preferably more than about
25 25 µg/mL, even more preferred more than about 30 µg/mL, even more preferred more than about 40 µg/mL, even more preferred more than about 50 µg/mL, even more preferred more than about 60 µg/mL, even more preferred more than about 80 µg/mL, even more preferred more than about 100 µg/mL, even more preferred than about 150 µg/mL, most preferred more than about 190 µg/mL.

30

According to a preferred embodiment, the H5 protein (1) is recovered by harvesting the whole (i.e. intact) SF+ cells expressing the H5 protein.

Preferred cells are those susceptible for infection with an appropriate recombinant viral vector, containing a H5 DNA and expressing the H5 protein (1). Preferably the cells are insect cells, and more preferably, they include the insect cells sold under the trademark SF+ insect cells (Protein Sciences Corporation, Meriden, CT). Preferred cell cultures have
5 a cell count between about $0.3 - 2.0 \times 10^6$ cells/mL, more preferably from about $0.35 - 1.9 \times 10^6$ cells/mL, still more preferably from about $0.4 - 1.8 \times 10^6$ cells/mL, even more preferably from about $0.45 - 1.7 \times 10^6$ cells/mL, and most preferably from about $0.5 - 1.5 \times 10^6$ cells/mL.

10 Preferred viral vectors include baculovirus such as BaculoGold (BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA), in particular provided that the production cells are insect cells. Although the baculovirus expression system is preferred, it is understood by those of skill in the art that other expression systems will work for purposes of the present invention, namely the expression of H5 into the supernatant of a cell culture. Such other
15 expression systems may require the use of a signal sequence in order to cause H5 expression into the media.

Appropriate growth media will also be determinable by those of skill in the art with a preferred growth media being serum-free insect cell media such as Excell 420 (JRH
20 Biosciences, Inc., Lenexa, KS) and the like.

The recombinant viral vector containing the H5 DNA sequences has a preferred multiplicity of infection (MOI) of between about 0.03 - 1.5, more preferably from about 0.05 - 1.3, still more preferably from about 0.09 - 1.1, and most preferably from about 0.1 - 1.0,
25 when used for the infection of the susceptible cells. Preferably the MOIs mentioned above relates to one mL of cell culture fluid. Preferably, the method described herein comprises the infection of $0.35 - 1.9 \times 10^6$ cells/mL, still more preferably of about $0.4 - 1.8 \times 10^6$ cells/mL, even more preferably of about $0.45 - 1.7 \times 10^6$ cells/mL, and most preferably of about $0.5 - 1.5 \times 10^6$ cells/mL with a recombinant viral vector containing a H5 DNA and
30 expressing the H5 protein having a MOI (multiplicity of infection) of between about 0.03 - 1.5, more preferably from about 0.05 - 1.3, still more preferably from about 0.09 - 1.1, and most preferably from about 0.1 - 1.0.

The infected cells are then incubated over a period of up to ten days, more preferably from about two days to about ten days, still more preferably from about four days to about nine days, and most preferably from about five days to about eight days. Preferred incubation conditions include a temperature between about 22 - 32°C, more preferably from about 24 - 30°C, still more preferably from about 25 - 29°C, even more preferably from about 26 - 28°C, and most preferably about 27°C. Preferably, the SF+ cells are observed following inoculation for characteristic baculovirus-induced changes. Such observation may include monitoring cell density trends and the decrease in viability during the post-infection period. It was found that peak viral titer is observed 3-5 days after infection and peak H5 protein expression in the cells is obtained between days 5 and 8, and/or when cell viability decreases to less than 10%.

Thus, one aspect of the present invention provides a method of producing and/or recovering recombinant H5 protein, preferably in amounts described above, by i) permitting infection of a number of susceptible cells (see above) in culture with a recombinant viral vector with a MOI as defined above, ii) expressing H5 protein by the recombinant viral vector, and iii) thereafter recovering the H5 protein from the cells obtained between days 5 and 8 after infection and/or cell viability decreases to less than 10%. Preferably, the recombinant viral vector is a recombinant baculovirus containing H5 DNA coding sequences and the cells are SF+ cells. Additionally, it is preferred that the culture be periodically examined for macroscopic and microscopic evidence of contamination or for atypical changes in cell morphology during the post-infection period. Any culture exhibiting any contamination should be discarded.

For recovery of H5 protein (1) that will be used in an immunogenic or immunological composition such as a vaccine, the inclusion of an inactivation step is preferred in order to inactivate the viral vector.

An "immunogenic or immunological composition" refers to a composition of matter that comprises at least one antigen which elicits an immunological response in the host of a cellular and/ or antibody-mediated immune response to the composition or vaccine of interest. Usually, an "immunological response" includes but is not limited to one or more of the following effects: the production or activation of antibodies, B cells, helper T cells, suppressor T cells, and/or cytotoxic T cells and/or gamma-delta T cells, directed

specifically to an antigen or antigens included in the composition or vaccine of interest. Preferably, the host will display either a therapeutic or protective immunological response such that resistance to new infection will be enhanced and/or the clinical severity of the disease reduced. Such protection will be demonstrated by either a reduction or lack of symptoms normally displayed by an infected host, a quicker recovery time and/or a lowered viral titer in the infected host.

As used herein, "vaccine" refers to that term as it is used by those of skill in the art. More particularly, "vaccine" refers to an immunogenic composition that, when administered to an animal in need thereof, results in a reduction in the incidence of or severity of clinical signs of influenza infection up to and including the complete prevention of such clinical signs. Preferably, the reduction in incidence or severity is at least 10%, more preferably at least 20%, still more preferably at least 30%, even more preferably at least 40%, more preferably at least 50%, still more preferably at least 60%, even more preferably at least 70%, more preferably at least 80%, still more preferably at least 90%, even more preferably at least 95%, and most preferably 100% in comparison to an animal or group of animals that did not receive the compositions of the present invention but that were exposed to infectious levels of influenza virus that would normally result in influenza infection resulting in exhibiting clinical signs.

20

Thus, the present invention also relates to a method of producing and/or recovering recombinant H5 protein, preferably in amounts described above, by i) permitting infection of a number of susceptible cells (see above) in culture with a recombinant viral vector with a MOI as defined above, ii) expressing H5 protein by the recombinant viral vector, iii) recovering the H5 expressed in cells obtained between days 5 and 8 after infection and/or cell viability decreases to less than 10%, and iv) inactivating the recombinant viral vector.

Preferably, this inactivation is done either just before or just after the filtration step, with after the filtration step being the preferred time for inactivation. Any conventional inactivation method can be used for purposes of the present invention. Thus, inactivation can be performed by chemical and/or physical treatments. In preferred forms, the volume of harvest fluids is determined and the temperature is brought to between about 32 - 42°C, more preferably between about 34 - 40°C, and most preferably between about 35 -

30

39°C. Preferred inactivation methods include the addition of cyclized binary ethylenimine (BEI), preferably in a concentration of about 1 to about 20 mM, preferably of about 2 to about 10 mM, still more preferably of about 2 to about 8 mM, still more preferably of about 3 to about 7 mM, most preferably of about 5 mM. For example the inactivation includes
5 the addition of a solution of 2-bromoethylethylamine hydrobromide, preferably of about 0.4M, which has been cyclized to 0.2M binary ethylenimine (BEI) in 0.3N NaOH, to the fluids to give a final concentration of about 5mM BEI. Preferably, the fluids are then stirred continuously for 72 - 96 hours and the inactivated harvest fluids can be stored frozen at -40°C or below or between about 1 - 7°C. After inactivation is completed a
10 sodium thiosulfate solution, preferably at 1.0M is added to neutralize any residual BEI. Preferably, the sodium thiosulfate is added in equivalent amount as compared to the BEI added prior to for inactivation. For example, in the event BEI is added to a final concentration of 5mM, a 1.0M sodium thiosulfate solution is added to give a final minimum concentration of 5 mM to neutralize any residual BEI.

15 Thus, one further aspect of the present invention relates to a method of producing recombinant H5 protein, preferably in amounts described above, by i) permitting infection of a number of susceptible cells (see above) in culture with a recombinant viral vector with a MOI as defined above, ii) expressing H5 protein by the recombinant viral vector, iii)
20 recovering the H5 expressed in the cells obtained between days 5 and 8 after infection and/or cell viability decreases to less than 10%, and iv) inactivating the recombinant viral vector. Preferably, the recombinant viral vector is a baculovirus containing H5 DNA coding sequences and the cells are SF+ cells. Preferred inactivation steps are those described above. Preferably, inactivation is performed between about 35 - 39°C and in the presence
25 of 2 to 8 mM BEI, still more preferred in the presence of about 5 mM BEI.

According to one further aspect of the present invention, the method described above also includes a neutralization step after step iv). This step v) comprises adding of an equivalent amount of an agent that neutralizes the inactivation agent within the solution.
30 Preferably, if the inactivation agent is BEI, addition of sodium thiosulfate to an equivalent amount is preferred. Thus, according to a further aspect, step v) comprises adding of a sodium thiosulfate solution to a final concentration of about 1 to about 20 mM, preferably of about 2 to about 10 mM, still more preferably of about 2 to about 8 mM, still more

preferably of about 3 to about 7 mM most preferably of about 5 mM, when the inactivation agent is BEI.

In preferred forms and especially in forms that will use the recombinant H5 protein in an immunogenic composition such as a vaccine, each lot of harvested H5 protein will be tested for inactivation by passage in the anchorage dependent, baculovirus susceptible insect cells, such as Sf9 cells. In a preferred form of this testing, 150 cm² of appropriate cell culture monolayer is inoculated with 1.0 mL of inactivated H5 fluids and maintained at 25 - 29°C for 14 days with at least two passages. At the end of the maintenance period, the cell monolayers are examined for cytopathogenic effect (CPE) typical of H5 baculovirus. Preferably, positive virus controls are also used. Such controls can consist of one culture of Sf9 cells inoculated with a non-inactivated reference H5 baculovirus and one flask of Sf9 cells that remain non-inoculated. After incubation and passage, the absence of virus-infected cells in the BEI treated viral fluids would constitute a satisfactory inactivation test. The control cells inoculated with the reference virus should exhibit CPE typical of H5 baculovirus and the non-inoculated flask should not exhibit any evidence of H5 baculovirus CPE. Alternatively, at the end of the maintenance period, the supernatant samples could be collected and inoculated onto a Sf9 96 well plate, which has been loaded with Sf9 cells, and then maintained at 25 - 29°C for 5 - 6 days. The plate is then fixed and stained with anti-H5 antibody conjugated to FITC or any labeled antibody directed to baculovirus specific proteins (i.e. gp64). The absence of CPE, H5 expression, or expression of baculovirus specific proteins (i.e. gp64) in the BEI treated viral fluids constitutes a satisfactory inactivation test. The control cells inoculated with the reference virus should exhibit CPE and IFA activity and the non-inoculated flask should not exhibit any evidence of H5 baculovirus CPE and contain no IFA activity.

Thus a further aspect described herein, relates to an inactivation test for determining the effectiveness of the inactivation of the recombination viral vector expressing H5 protein (1), comprises the steps: i) contacting at least a portion of the culture fluid containing the recombinant viral vector with an inactivating agent, preferably as described above, ii) adding a neutralization agent to neutralize the inactivation agent, preferably as described above, and iii) determining the residual infectivity by the assays as described above.

After inactivation, the relative amount of recombinant H5 protein in a sample can be determined in a number of ways. Preferred methods of quantitation include SDS-PAGE densitometry, ELISA, and animal vaccination studies that correlate known quantities of vaccine with clinical outcomes (serology, etc.). When SDS-PAGE is utilized for quantitation, the sample material containing an unknown amount of recombinant H5 protein is run on a gel, together with samples that contain different known amounts of recombinant H5 protein. A standard curve can then be produced based on the known samples and the amount of recombinant H5 in the unknown sample can be determined by comparison with this standard curve. Because ELISAs are generally recognized as the industry standard for antigen quantitation, they are preferred for quantitation.

Vaccines comprising H5 proteins (1) or nucleic acid molecules or vectors coding for those

The invention further provides a combination of

(a) the H5 protein (1) described herein

and

(b) an inactivated Newcastle disease virus

for use in a method of treating or preventing infections with H5N1 virus of a different clade, in particular for use in any method of treating or preventing infections with H5N1 virus of a different clade as described herein.

Said combination is also termed "the combination described herein" hereinafter.

According to the invention it is understood that the combination described herein is preferably included in a multivalent combination vaccine or the combination described

herein is in particular directed to a combined vaccination, more particular to an administration of the H5 protein (1) described herein and of the inactivated Newcastle disease virus within a maximum of 24 hours to an animal, in particular poultry, or human being in need thereof.

Preferably, the inactivated Newcastle disease virus is an inactivated whole Newcastle disease virion.

In another preferred embodiment, the inactivated Newcastle disease virus is an inactivated Newcastle disease virus obtained by inactivation of a Newcastle disease virus

comprising a RNA polynucleotide having at least 70%, preferably at least 80%, more preferably at least 90%, still more preferably at least 95% or in particular 100% sequence identity with a RNA copy of the polynucleotide set forth in SEQ ID NO: 51 (cDNA sequence of LaSota strain virus), which has been inactivated.

5

In particular, the inactivated Newcastle disease virus is an inactivated Newcastle disease LaSota strain virus.

10 In one preferred embodiment the inactivated Newcastle Disease Virus is a Newcastle Disease Virus which has been inactivated with a reagent selected from the group consisting of Formaldehyde, binary ethyleneimine (BEI), Beta-Propio-Lactone (BPL), and combinations thereof.

15 The amount of inactivated Newcastle disease virus in the combination described herein is preferably between 10^2 and 10^{10} equivalents of egg infectious doses (EID₅₀), preferably between 10^6 and 10^9 EID₅₀, in particular preferably between 10^7 and 10^9 EID₅₀. The amount of the H5 protein (1) in the combination described herein is preferably the same as mentioned hereinafter.

20 The amount of the H5 protein (1) according to the invention is preferably between 10 and 1000 Hemagglutination units (HAU's) per dose, more preferably between 50 and 950 HAU's per dose, even more preferably between 100 and 900 HAU's per dose, even more preferably between 200 and 800 HAU's per dose, even more preferably between 300 and 700 HAU's per dose, still more preferably between 300 and 500 HAU's per dose.

25

According to a further aspect, the present invention relates to vaccines or pharmaceutical compositions in general, that comprises,

- i. one or more of the H5 proteins (1) as described herein or the combination described herein;
- 30 ii. one or more of the nucleic acid molecules as described herein, coding for any such H5 proteins (1); and/or
- iii. one or more of the vectors as described herein, including any such nucleic acid molecules and coding for any such H5 proteins (1) as described herein; and
- iv. a pharmaceutical acceptable carrier and/or excipient.

The term "pharmaceutical composition" "Pharmaceutical/vaccine composition" as described herein, includes but is not limited to, vaccines for the reduction or prevention of an infection or to a composition of matter for the treatment and lessening of an infection.

5

The preparation of nucleic acid based vaccines, preferably cDNA vaccines, coding for influenza hemagglutinin are described for example in *Deck et al, Vaccine 1997; 15(1):71-78; Ulmer et al., Science 1993; 259:1745-1749; Ulmer et al., Vaccine 1994;12(16):1541-1544*. Any of those methods can be used for the production of nucleic acid based vaccines, preferably cDNA vaccines, coding for an influenza H5 protein as described herein.

Moreover, a vaccine, which comprises H5 protein (1) or parts thereof as described herein, can be produced by conventional approaches, e.g. by recombinant expression techniques or by biochemical purification and separation techniques. Recombinant expression techniques, including the expression in insect cells are well known in the art, and described for example in *Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; DNA Cloning: A Practical Approach, Volumes I and II (D. N. Glover ed. 1985); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait ed. 1984); Nucleic Acid Hybridization [B. D. Hames & S. J. Higgins eds.(1985)]; Transcription And Translation [B. D. Hames & S. J. Higgins, eds. (1984)]; Animal Cell Culture [R. I. Freshney, ed. (1986)]; Immobilized Cells And Enzymes [IRL Press, (1986)]; B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); F. M. Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc. 1994*. Further examples of well established recombinant expression systems are bacterial expression systems such as *E. coli* or *B. subtilis*, yeast-based expression systems such as *S. cerevisiae* or *S. pombe*, or mammalian cell expression systems such as the BHK-, CHO- and/or NS0-based expression systems. Such systems are well known in the art and generally available, e.g. commercially through Clontech Laboratories, Inc. 4030 Fabian Way, Palo Alto, California 94303-4607, USA. Further expression strategies are for example described in *Lüschow et al., Vaccine no. 19 (2001), pp. 4249-4259, or Veit et al., PNAS vol. 103 (2006), pp. 8197-8202*. Furthermore, recombinant adeno-associated virus systems are well established and for example described in US 5,436,146 or WO200203872 with further references. Moreover, vaccinia (pox) virus based

expression systems, for example as described in US 6,265,183 with further references, are also well established and suitable to produce recombinant antigen(s), antigenic composition(s) as used according to the invention. Further suitable expression systems make use of recombinant popova viruses, such as SV40, fowl pox virus, pseudorabies
5 viruses and retroviruses.

The relevant pharmaceutical/vaccine compositions as described herein, can also comprise inactivated virus which comprises H5 protein (1) as described herein, an apathogenic version of a live virus comprising H5 protein (1) as described herein,
10 preparation and/or fragments of a virus, wherein said preparation and/or fragment comprise the H5 protein (1) as described herein.

The skilled person knows additional components which may be comprised in said compositions/vaccines together with antigen (see for example, *Remington's
15 Pharmaceutical Sciences. (1990). 18th ed. Mack Publ., Easton*). The expert may use known injectable, physiologically acceptable sterile solutions. For preparing a ready-to-use solution, aqueous isotonic solutions, such as e.g. saline or corresponding plasma protein solutions, are readily available. The pharmaceutical composition/vaccine may be present as lyophilisates or dry preparations, which can be reconstituted with a known
20 injectable solution directly before use under sterile conditions, e.g. as a kit of parts.

In addition the pharmaceutical/vaccine compositions of the present invention can include one or more veterinary-acceptable carriers. As used herein, "a veterinary-acceptable carrier" includes but is not limited to any and all solvents, dispersion media, coatings,
25 adjuvants, stabilizing agents, diluents, preservatives, antibacterial and antifungal agents, isotonic agents, adsorption delaying agents, and the like.

Diluents can include water, saline, dextrose, ethanol, glycerol, and the like. Isotonic agents can include sodium chloride, dextrose, mannitol, sorbitol, and lactose, among
30 others. Stabilizers include albumin and alkali salts of ethylenediaminetetracetic acid, among others.

A preservative as used herein, refers to an anti-microbiological active agent, such as for example Gentamycin, Merthiolate, and the like. In particular adding of a preservative is

most preferred for the preparation of a multi-dose composition. Those anti-microbiological active agents are added in concentrations effective to prevent the composition of interest for any microbiological contamination or for inhibition of any microbiological growth within the composition of interest.

5

"Adjuvants" as used herein, can include aluminum hydroxide and aluminum phosphate, saponins e.g., Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, AL), water-in-oil emulsion, oil-in-water emulsion, water-in-oil-in-water emulsion.

10

The emulsion can be based in particular on light liquid paraffin oil (European Pharmacopoeia type); isoprenoid oil such as squalane or squalene ; oil resulting from the oligomerization of alkenes, in particular of isobutene or decene; esters of acids or of alcohols containing a linear alkyl group, more particularly plant oils, ethyl oleate, propylene glycol di-(caprylate/caprata), glyceryl tri-(caprylate/caprata) or propylene glycol dioleate; esters of branched fatty acids or alcohols, in particular isostearic acid esters. The oil is used in combination with emulsifiers to form the emulsion. The emulsifiers are preferably nonionic surfactants, in particular esters of sorbitan, of mannide (e.g. anhydromannitol oleate), of glycol, of polyglycerol, of propylene glycol and of oleic, isostearic, ricinoleic or hydroxystearic acid, which are optionally ethoxylated, and polyoxypropylene-polyoxyethylene copolymer blocks, in particular the Pluronic products, especially L121. See Hunter et al., The Theory and Practical Application of Adjuvants (Ed. Stewart-Tull, D. E. S.). John Wiley and Sons, NY, pp51-94 (1995) and Todd et al., Vaccine 15:564-570 (1997). Examples for suitable oil-in water emulsions are Emulsigen-based adjuvants, such as EMULSIGEN[®], EMULSIGEN-D[®], EMULSIGEN-P[®], EMULSIGEN-75[®] (MVP Laboratories, Inc. Omaha, NE, USA). It has been surprisingly found, that pharmaceutical/vaccine compositions that comprise H5 protein, preferably recombinant H5 protein as described herein, have been effectively adjuvanted with oil-in water emulsions, preferably with such Emulsigen-based adjuvants, more preferably with EMULSIGEN[®] and EMULSIGEN-D[®].

30

Moreover, it is possible to use the SPT emulsion described on page 147 of "Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach" edited by M. Powell and M. Newman, Plenum Press, 1995, and the emulsion MF59 described on page 183 of this same book.

A further instance of an adjuvant is a compound chosen from the polymers of acrylic or methacrylic acid and the copolymers of maleic anhydride and alkenyl derivative. Advantageous adjuvant compounds are the polymers of acrylic or methacrylic acid which are cross-linked, especially with polyalkenyl ethers of sugars or polyalcohols. These compounds are known by the term carbomer (Pharmeuropa Vol. 8, No. 2, June 1996). Persons skilled in the art can also refer to U. S. Patent No. 2,909,462 which describes such acrylic polymers cross-linked with a polyhydroxylated compound having at least 3 hydroxyl groups, preferably not more than 8, the hydrogen atoms of at least three hydroxyls being replaced by unsaturated aliphatic radicals having at least 2 carbon atoms. The preferred radicals are those containing from 2 to 4 carbon atoms, e.g. vinyls, allyls and other ethylenically unsaturated groups. The unsaturated radicals may themselves contain other substituents, such as methyl. The products sold under the name Carbopol ; (BF Goodrich, Ohio, USA) are particularly appropriate. They are cross-linked with an allyl sucrose or with allyl pentaerythritol. Among them, there may be mentioned Carbopol 974P, 934P and 971P. Most preferred is the use of Carbopol 971P. Among the copolymers of maleic anhydride and alkenyl derivative, the copolymers EMA (Monsanto) which are copolymers of maleic anhydride and ethylene. The dissolution of these polymers in water leads to an acid solution that will be neutralized, preferably to physiological pH, in order to give the adjuvant solution into which the immunogenic, immunological or vaccine composition itself will be incorporated.

Further suitable adjuvants include, but are not limited to, the RIBI adjuvant system (Ribi Inc.), Block co-polymer (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), monophosphoryl lipid A, Avridine lipid-amine adjuvant, heat-labile enterotoxin from E. coli (recombinant or otherwise), cholera toxin, or muramyl dipeptide among many others.

Preferably, the adjuvant is added in an amount of about 100 µg to about 10 mg per dose. Even more preferred the adjuvant is added in an amount of about 100 µg to about 10 mg per dose. Even more preferred the adjuvant is added in an amount of about 500 µg to about 5 mg per dose. Even more preferred the adjuvant is added in an amount of about 750 µg to about 2,5 mg per dose. Most preferred the adjuvant is added in an amount of about 1 mg per dose.

The pharmaceutical/vaccine compositions, can further include one or more other immunomodulatory agents such as, e. g., interleukins, interferons, or other cytokines. The pharmaceutical/vaccine compositions can also include Gentamicin and Merthiolate. While the amounts and concentrations of adjuvants and additives useful in the context of the present invention can readily be determined by the skilled artisan, the present invention contemplates compositions comprising from about 50 µg to about 2000 µg of adjuvant and preferably about 250 µg/1 ml dose of the vaccine composition. In another preferred embodiment, the present invention contemplates vaccine compositions comprising from about 1 µg/ml to about 60 µg/ml of antibiotics, and more preferably less than about 30 µg/ml of antibiotics.

Thus, according to a further embodiment, the present invention also relates to a pharmaceutical/vaccine composition comprising

- i. a therapeutically effective amount of any one of the H5 proteins of influenza virus as described herein, wherein the H5 protein having the amino acid 223N and the modification 328K+, wherein numbering of the amino acid positions of the H5 protein refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:2 and wherein the modification 328K+ means that at amino acid position 328 of H5 protein a second Lysine (K+) is inserted; and
- ii. a pharmaceutically acceptable adjuvants as described above.

Preferably, the adjuvant is selected from the group consisting of :

- a) EMULSIGEN®, a oil-in-water emulsion (o/w);
- b) EMULSIGEN-D®, a oil-in-water (o/w) with dimethyldioctadecylammonium bromide (DDA);
- c) a Polygen, a copolymer
- d) EMULSIGEN-P®, a oil-in-water (o/w) with a proprietary immunostimulant
- e) Carbigen is a cross-linked polymer
- f) EMULSIGEN-75®, a double adjuvants comprise of a oil-in-water (o/w) with a cross-linked polymer
- g) ISA 70 is a water-in-oil (w/o)

Most preferably, the adjuvants is a oil-in-water emulsion such as an emulsigen-based adjuvant selected from the group consisting of EMULSIGEN®, EMULSIGEN-D®,

EMULSIGEN-P[®], EMULSIGEN-75[®], EMULSIGEN[®] and EMULSIGEN-P[®]. Most preferably EMULSIGEN[®] and EMULSIGEN-P[®] are used in the formulation of the current invention.

5 According to a further aspect, the pharmaceutical/vaccine compositions as provided herewith, comprise one or more antigen. Preferably, that further antigen is an antigen of a poultry or mammalian pathogen. According to a further embodiments, that additional antigen is an further influenza antigen such as hemagglutinin H5, H7, H9, or any other hemagglutinin of influenza virus, wherein the H5 is preferably a H5 protein of a H5N1 virus of a clade different than clade 1, in particular of a H5N1 virus of North African origin, such as the H5 protein (2) described herein. The additional antigen(s) can be added in a
10 purified form, as part of an antigenic preparation, in the form of a killed microorganism or in the form of a modified live microorganism.

The term "antigen", as used herein means, but is not limited to, peptides, polypeptides, glycopeptides, or polysaccharides which are capable of specifically interacting with an
15 antigen recognition molecule of the immune system, such as an immunoglobulin (antibody) or T cell antigen receptor in order to elicit, activate or stimulate an immune response directed to said antigen in a host to which said antigen is administered. The term "antigen" also refers to nucleic acid molecules, preferably DNA- or RNA-molecules, each of which codes for and express a peptide, polypeptide, or glycopeptide that is
20 capable of specifically interacting with an antigen recognition molecule of the immune system, such as an immunoglobulin (antibody) or T cell antigen receptor in order to elicit, activate or stimulate an immune response against the antigen that is coded by the nucleic acid molecule. The antigen used for the preparation of the pharmaceutical composition which is used according to the invention is a microorganism or an antigenic part and/or
25 preparation of said microorganism. In this connection, the term "immunization", as used herein, means but is not limited to, any cause or enhancement of an immune response. The term "immune response" is already described *supra*.

30 Administration strategies for influenza vaccines are well known in the art. Mucosal vaccination strategies for inactivated and attenuated virus vaccines are contemplated. While the mucosa can be targeted by local delivery of a vaccine, various strategies have been employed to deliver immunogenic proteins to the mucosa.

In a specific embodiment, the vaccine can be administered in an admixture with, or as a conjugate or chimeric fusion protein with, cholera toxin, such as cholera toxin B or a cholera toxin A/B chimera (*Hajishengallis*, *J Immunol.*, 154:4322-32, 1995; *Jobling and Holmes*, *Infect Immun.*, 60:4915-24, 1992). Mucosal vaccines based on use of the cholera toxin B subunit have been described (*Lebens and Holmgren*, *Dev Biol Stand* 82:215-27, 1994). In another embodiment, an admixture with heat labile enterotoxin (LT) can be prepared for mucosal vaccination.

Other mucosal immunization strategies include encapsulating the virus in microcapsules (US 5,075,109, US 5,820,883, and US 5,853,763) and using an immunopotentiating membranous carrier (WO 98/0558). Immunogenicity of orally administered immunogens can be enhanced by using red blood cells (rbc) or rbc ghosts (US 5,643,577), or by using blue tongue antigen (US 5,690,938).

According to another aspect, the present invention relates to a method for preparing a pharmaceutical /vaccine composition as described above, preferably a method for producing a vaccine which comprises a recombinant, baculovirus expressed H5 protein as described *supra*. Generally, this method includes the steps of transfecting a construct into a virus, wherein the construct comprises i) recombinant H5 cDNA as described herein, ii) infecting cells in growth media with the transfected virus, iii) causing the virus to express the recombinant H5 protein as described herein iv) recovering the expressed H5 protein from the culture v) and preparing the composition by blending the expressed H5 protein with a suitable adjuvant and/or other pharmaceutically acceptable carrier.

Preferred adjuvants are those described above. Thus according to a further aspect, the method for preparing an antigenic composition, such as for example a vaccine, for invoking an immune response against influenza infections comprises i) preparing and recovering H5 protein, and ii) admixing this with a suitable adjuvants.

In addition, the vaccine composition of the present invention can also include diluents, isotonic agents, stabilizers, an/or preservatives. Diluents can include water, saline, dextrose, ethanol, glycerol, and the like. Isotonic agents can include anorganic or organic salts, e.g. sodium chloride, dextrose, mannitol, sorbitol, and lactose, saccharides, trehalose, mannitol, saccharose among others. Stabilizers include albumin and alkali salts

of ethylenediaminetetraacetic acid, among others. Suitable adjuvants, are those described above.

Medicinal use of any of such H5 proteins (1), nucleic acid molecules, vectors, vaccines, and combinations described herein

5 The H5 proteins (1) as provided herewith, the nucleic acid molecules coding for any such H5 proteins (1), the vectors comprising any such nucleic acid molecules coding for any such H5 proteins (1) as described herein, and any pharmaceutical/vaccine composition comprising any of such H5 protein (1), nucleic acid molecule or vector or the combination
10 described herein can be used as a medicine, preferably for the treatment and prophylaxis of infections, caused by influenza virus, most preferably by influenza A virus. The H5 proteins (1) as provided herewith, the nucleic acid molecules encoding for any such H5 proteins, the vectors comprising any such nucleic acid molecules encoding for any such H5 proteins (1) as described herein, and any pharmaceutical/vaccine composition
15 comprising any of such H5 protein (1), nucleic acid molecule or vector, as described herein, or the combination described herein can be used for the treatment or prophylaxis of human beings as well as in veterinary medicine. When used in veterinary medicine, the treatment of poultry, preferably bird, chicken, duck, turkey and the like as well as mammals, preferably pigs, cattle, horses, seals, camels, dogs, cats, hamsters, mice and
20 the like, is preferred.

In terms of the present invention, "prophylaxis" refers to the reduction in the incidence of or severity of clinical signs of influenza infection up to and including the complete prevention of such clinical signs. Preferably, the reduction in incidence or severity is at
25 least 10%, more preferably at least 20%, still more preferably at least 30%, even more preferably at least 40%, more preferably at least 50%, still more preferably at least 60%, even more preferably at least 70%, more preferably at least 80%, still more preferably at least 90%, even more preferably at least 95%, and most preferably 100% in comparison to an animal or group of animals that did not receive the compositions of the present
30 invention but that were exposed to infectious levels of influenza virus that would normally result in influenza infection resulting in exhibiting clinical signs.

Thus, according to another aspect the present invention relates to the use of H5 proteins (1) as provided herewith, the nucleic acid molecules encoding for any such H5 proteins

(1), the vectors comprising any such nucleic acid molecules encoding for any such H5 proteins (1) as described herein and any pharmaceutical/vaccine compositions comprising any of such H5 protein (1), nucleic acid molecule or vector as described herein or the combination described herein, can be used as a medicine, preferably as a medicine for human beings and/or as veterinary medicine, preferably for poultry, in particular for chicken.

Moreover, H5 proteins (1) as provided herewith, the nucleic acid molecules coding for any such H5 proteins (1), the vectors comprising any such nucleic acid molecules coding for any such H5 protein (1), as described herein, or the combination described herein can be used for the preparation of a pharmaceutical composition, as described herein, preferably of a single-shot vaccine or a one dose vaccine, for the prophylaxis or treatment of infections caused by H5N1 virus of a clade other than clade 1, wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably the H5N1 virus of a different clade as described herein. As mentioned above, those pharmaceutical compositions/vaccine compositions can be used for the treatment and/or prophylaxis of human beings as well as for the treatment and/or prophylaxis of animals, such as poultry, preferably bird, chicken, duck, turkey and the like as well as mammals, preferably pigs, cattle, horses, seals, camels, dogs, cats, hamsters, mice and the like.

According to a further aspect, the present invention also relates to a method for the treatment or prophylaxis of influenza virus infections caused by H5N1 virus of a clade other than clade 1, wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably the H5N1 virus of a different clade as described herein, wherein the method comprising administration of a therapeutically effective amount of the H5 protein (1) as described herein or of the combination described herein, to a subject in need of such a treatment. Moreover, the present invention also relates to a method for the treatment or prophylaxis of influenza virus infections caused by H5N1 virus of a clade other than clade 1, wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably the H5N1 virus of a different clade as described herein, wherein the method comprising administration of a therapeutically effective amount of any H5 nucleic acid molecule or vector as described herein, that codes for any H5 protein (1) as described herein, to a subject in need of such a treatment. Furthermore, the present invention also relates to a method for the treatment or prophylaxis of influenza virus infections caused by H5N1 virus of a clade other than

clade 1, wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably the H5N1 virus of a different clade described herein, wherein the method comprising administration of a therapeutically effective amount of the vaccine comprising any such H5 protein (1), nucleic acid molecule or vector, as described herein, to a subject in need of such a treatment. The subject in need thereof can be a human being as well as an animal, preferably poultry, even more preferably bird, chicken, duck, turkey or a mammal, preferably pig, cattle, horse, seal, camel, dog, cat, hamster, mouse and the like.

Preferably, the administration, as described herein, is a single-shot administration or a one dose administration.

Preferably, when chicken are vaccinated, the H5 protein as described herein can be used for vaccination at day 1 of age or later, e.g. at day 10, or at day 1 to 10, or at day 10 or later.

Preferably the influenza infection that can be treated by the administration of any H5 protein (1), the nucleic acid molecule or vector encoding for any such H5 protein, or any pharmaceutical / vaccine compositions as described herein, is caused by H5N1 virus of a clade other than clade 1, wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably the H5N1 virus of a different clade as described herein and, as the case may be, also in combination with with another avian, swine or human influenza virus or any combination or hybrid thereof.

A further advantage of the present invention is that it benefits a "DIVA" (Differentiation of Infected and Vaccinated Animals) concept with specific Elisa Kits for differentiating between vaccinated human beings or animals and human beings or animals infected with H5N1 virus.

According to another aspect, the present invention relates to a kit of parts, that comprises i) any of such H5 protein (1) as described herein, the nucleic acid molecule or vector encoding for any such H5 protein, or any pharmaceutical / vaccine composition comprising any of such H5 protein, nucleic acid molecule or vector as described herein, and ii) a package leaflet indicating the use of such H5 protein, nucleic acid molecule, vector or vaccine for the treatment or prophylaxis of infections caused by H5N1 virus of a

clade other than clade 1, wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably the H5N1 virus of a different clade as described herein. When chicken are vaccinated, the H5 protein (1) as described herein can be used for vaccination at day 1 on age or later.

5

It is thus understood that the kit of parts as mentioned herein is for the use, or is used, respectively, for the treatment or prophylaxis of infections caused by H5N1 virus of a clade other than clade 1, wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably the H5N1 virus of a different clade as described herein.

10

According to a further embodiment, that kit in parts comprises at least one further antigen of a poultry or mammalian pathogen and the information indicating the medicinal, human or veterinary use of that additional antigen, in particular the further antigen as mentioned above.

15

The invention further provides a method for reducing viral shedding in a subject, comprising administering the H5 protein (1) described herein or the combination as described herein to a subject infected with or at risk of a viral infection with H5N1 virus of a clade other than clade 1, wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably the H5N1 virus of a different clade as described herein.

20

The invention also relates to the H5 protein (1) described herein or the combination as described herein for use in a method for reducing viral shedding in a subject, wherein said H5 protein (1) or said combination is to be administered to a subject infected with or at risk of a viral infection with H5N1 virus of a clade other than clade 1, and wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably the H5N1 virus of a different clade as described herein.

25

30

Also, the invention provides the use of the H5 protein (1) described herein or of the combination as described herein for the preparation of a medicament for reducing viral shedding in a subject infected with or at risk of a viral infection with H5N1 virus of a clade other than clade 1, wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably the H5N1 virus of a different clade as described herein.

Preferably, the H5 protein (1) according to the invention, the combination described herein, the vaccine as described herein or the kit mentioned herein is for use as a single-
5 shot vaccine or in a one-dose vaccination.

EXAMPLES

The following examples set forth preferred materials and procedures in accordance with
10 the present invention. It is to be understood, however, that these examples are provided by way of illustration only, and nothing therein should be deemed a limitation upon the overall scope of the invention.

EXAMPLE 1

15 Construction of a recombinant baculoviruses coding for and expressing HA H5 antigens

The recombinant baculovirus containing the H5 HA antigen was generated as follows: the coding sequences of the H5 HA (SEQ ID NO:3) was chemically synthesized and subcloned into the transfer vector pVL1392 (BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA). The H5 HA MutK+ (SEQ ID NO:5) was generated by using oligonucleotide primers and the QuikChange® Site-Directed Mutagenesis Kit (Stratagene, La Jolla, CA) and subcloned into the transfer vector pVL1392 (BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA). The pVL1392 plasmids containing the genes coding for H5 HA antigen (SEQ ID NO:3) and H5 HA MutK+ (SEQ ID NO:5) were then co-transfected with DiamondBac®
25 (Sigma) baculovirus DNA into Sf9 insect cells (BD Biosciences Pharmingen) to generate the recombinant baculovirus containing the genes H5 HA coding for SEQ ID NO:3 and H5 HA mutK+ coding for SEQ ID NO:5. The recombinant baculoviruses containing the genes coding for H5 HA (SEQ ID NO:3) and H5 HA MutK+ (SEQ ID NO:5) were plaque-purified and Master Seed Viruses (MSVs) were propagated on the SF+ cell line, aliquoted, and
30 stored at -70°C. Insect cells infected with H5 HA baculoviruses as described above to generate MSV or Working Seed Viruses express H5 HA antigen (SEQ ID NO:3) and H5 HA MutK+ (SEQ ID NO:5) antigen as detected by polyclonal serum or monoclonal antibodies in an indirect fluorescent antibody assay or Western blot.

After being seeded with the appropriate amounts of recombinant baculoviruses (H5 HA and H5 HA MutK+, respectively), spinner flasks containing SF+ cells (Protein Sciences, Inc., Meriden, CT) were then incubated at $27 \pm 2^\circ\text{C}$ for 7 days and with stirring 100rpm during that time. The flasks used ventilated caps to allow for air flow. The crude whole cell culture containing baculovirus infected SF+ cells and the cell culture supernatants of each culture were harvested.

EXAMPLE 2

10 Preparation of pharmaceutical compositions (vaccines) comprising HA H5 antigens

The crude whole cell H5 HA protein and H5 HA Mutk+ protein expressed in insect cells by baculovirus-based expression system were harvested. Baculoviruses were inactivated in the presence of 5 mM cyclized binary ethylenimine (BEI) (final concentration) between about 32 and 39°C for 72 to 96 hours. After inactivation is completed, a 0.3 M sodium thiosulfate solution was added to a final concentration of 5mM to neutralize any residual BEI. After neutralization, various adjuvants were added and the following vaccine/ pharmaceutical compositions were generated.

20 VACCINES

Generic product name	501
Antigen	Crude whole-cell H5 HA protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.
Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with Emulsigen.

Generic product name	502
Antigen	Crude whole-cell H5 HA protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.
Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with Emulsigen-D.

Generic product name	503
Antigen	Crude whole-cell H5 HA protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.
Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with Polygen.

Generic product name	504
Antigen	Crude whole-cell H5 HA protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.
Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with Emulsigen-P.

Generic product name	505
Antigen	Crude whole-cell H5 HA protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.
Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with Carbigen.

Generic product name	506
Antigen	Crude whole-cell H5 HA protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.
Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with Emulsigen-75.

Generic product name	507
Antigen	Crude whole-cell H5 HA protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.
Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with ISA 70.

5

Generic product name	508
Antigen	Crude whole-cell H5 HA mutK+ protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.

Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with Emulsigen.
--------------------	---

Generic product name	509
Antigen	Crude whole-cell H5 HA mutK+ protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.
Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with Emulsigen-D.

Generic product name	510
Antigen	Crude whole-cell H5 HA mutK+ protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.
Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with Polygen.

Generic product name	511
Antigen	Crude whole-cell H5 HA mutK+ protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.
Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with Emulsigen-P.

Generic product name	512
Antigen	Crude whole-cell H5 HA mutK+ protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.
Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with Carbigen.

5

Generic product name	513
Antigen	Crude whole-cell H5 HA mutK+ protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.
Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with Emulsigen-75.

Generic product name	514
Antigen	Crude whole-cell H5 HA K+ protein expressed in insect cells by a baculovirus-based expression system.
Formulation	An experimental vaccine comprised of cultured insect cells and supernatant expressing recombinant H5 HA. The vaccine was adjuvanted with ISA 70.

EXAMPLE 3

5 Vaccination of chicken against avian influenza

A combination vaccine comprising H5 HA Mutk+ (Fraction 1) and inactivated Newcastle disease virus (Fraction 2), named "BACULO AI + ND KV" has been evaluated in animal trials. The vaccine was formulated with the haemmagglutinin H5 produced in the Baculovirus expression system based on the MutK+ construct (Examples 1 and 2). The origin of the Newcastle Disease (ND) virus fraction is the whole virus.

Fraction 1:

Recombinant, baculovirus-expressed, H5 hemagglutinin (H5 HA) from Avian Influenza H5N1 virus. **Avian Influenza (AI) fraction.**

AI fraction is inactivated with binary ethyleneimine (BEI). No residual infectivity coming from Baculovirus vector is allowed.

20 **Fraction 2:**

Whole virion, Newcastle Disease Virus (ND), LaSota Strain. **Newcastle Disease fraction.**

ND fraction is inactivated with Formaldehyde, BEI or Beta-Propio-Lactone (BPL).
25 No residual infectivity coming from ND virus is allowed.

Formula composition:

Inactivated harvest material from H5 HA protein and ND are blended into a water/oil emulsion. The mixture includes mineral oil as an adjuvant.

5

For evaluation of vaccine efficacy, three clinical parameters were considered: 1) Morbidity/mortality. 2) Antibodies levels. 3) Viral shedding.

In all studies SPF chickens were vaccinated, administration of the vaccine was by subcutaneous route, in the back of the neck. A dose of 0.5 ml was administered
10 unless otherwise stated.

Chickens were maintained inside isolator units during the whole duration of the studies. Studies were compliant with OIE international guidelines for evaluation of Avian Influenza vaccines.

Challenge was conducted to evaluate the Avian Influenza (AI) antigenic fraction.
15 Chickens were inoculated 3 weeks after vaccination by the intra-nasal (50 µl) and oral (50 µl) route administering a total of 100 µl of allantoic fluid containing 10^6 EID₅₀ of the challenge virus.

To evaluate protection from challenge against HPAI H5N1 two studies were conducted:

20 1) Protectotypes study, using a single or double vaccination (evaluating boosting effect), ages of 1 day old or 10 days old chickens (evaluating age effect), and doses of 0.5 or 0.2 ml (evaluating dose effect).

Two different challenge strains were used for this study: a) A subclade 2.3.2 Vietnamese strain (isolated in 2006) which has been recently causing disease in
25 South-East-Asia (China, Vietnam) Poultry production. b) A subclade 2.2.1 group B1 Egyptian strain (isolated in 2010), which has been recently causing disease in Egyptian Poultry production. Challenge strains are not genetically close to the

vaccine baculovirus construct (MutK+). Results are interpreted in the context of protectotypes as broadening up the protection conferred for two immunizations with similar or different vaccines.

Conclusions:

- 5 1) Protection between 80 and 100 % was observed depending on the age or dose. 100 % protection was observed when administered as 0.5 ml dose at 10 days old of the bivalent formulation.
- 2) When administered as a single 0.5 ml immunization of BACULO AI + ND KV at 10 days of age, the same protection is observed than administering
10 two shots of the inactivated traditionally-produced comercial Volvac AI KV vaccine.
- 3) When administered as a single 0.5 ml immunization of BACULO AI + ND KV at 10 days of age, similar level of H5-specific antibodies were detected
15 in comparison with administering two shots of the inactivated traditionally-produced comercial Volvac AI KV vaccine.
- 4) Low levels of viral shedding were observed until 3 days post-challenge, when the vaccine was administered as a single 0.5 ml immunization of BACULO AI + ND KV at 10 days of age.

2) BACULO efficacy study, using a single, unique vaccination at 10 days of age.

- 20 Three different challenge strains were used for this study: a) A subclade 2.2.1 Egyptian strain (isolated in 2008). b) A subclade 2.2.1 group A1 Egyptian strain (isolated in 2010). c) A subclade 2.2.1 group B1 Egyptian strain (isolated in 2010). The last two have been recently causing disease in Egyptian Poultry production.

Conclusions:

- 25 1) Protection between 90 and 100 % was observed.
- 2) Vaccine BACULO AI + ND KV showed performance compliant with European Medicine Agency (EMA) guidelines for vaccines against HPAI virus in birds.

- 3) This is the first report available demonstrating efficacy with a single shot administration for a baculovirus-based vaccine including a hemagglutinin genetically distant from those of the viruses used for challenge.

5

EXAMPLE 4

1. Experimental design.

This experiment was designed and conducted similar to the above described Example 3:

- 10 For evaluation of vaccine efficacy, three clinical parameters were considered: 1) Morbidity/mortality. 2) Antibodies levels. 3) Viral shedding.

In all studies SPF chickens were vaccinated, the administration of the vaccine was by subcutaneous route, in the back of the neck. A vaccine prototype containing a clade 1 H5 protein was used (called Mut K+) formulated as a bivalent product with
15 a second, ND (Newcastle disease virus) antigenic fraction.

A dose of 0.5 ml was administered unless otherwise stated. Animals were vaccinated at 10 days of age.

Chickens were maintained inside isolator units during the whole duration of the studies. Studies were compliant with OIE international guidelines for evaluation of
20 Avian Influenza vaccines.

Challenge was conducted to evaluate the Avian Influenza (AI) antigenic fraction. Chickens were inoculated 3 weeks after vaccination by the intra-nasal (50 µl) and oral (50 µl) route administering a total of 100 µl of allantoic fluid containing 10^6 EID₅₀ of the challenge virus.

25

This is also summarized in the table (Table A) below (Vaccination was performed at 10 days of age, column 1 (ID of experimental groups according to the vaccine applied), column 2 (Vaccine dose), and column 3 (Challenge age)).

Challenge virus was A/Chicken/Egypt/1063/2010, which is classified as subclade
30 2.2.1.1 HP AIV H5N1 subtype. This is the official challenge strain used in Egypt for evaluation of vaccine batches. The challenge dose was 10^6 EID₅₀.

2. Results & Data analysis.

Results & Data analysis are summarized in the table below (Table A): Column 4 (HI GMT (Geometric Mean Titre) 3 weeks post-vaccination, pre-challenge), column 5 (Percentage of survival, 2 weeks post-challenge), and column 6

5 (Detection of viral shedding, RT-PCR positive samples).

Experiment al group (10 chickens each) -Vaccine ID-	Vaccine Dose (age)	Challen ge dose (age) -Strain 1063-	GMT measured at 31 days of age		Percentag e of survival post- challenge (%)	Viral Sheddi Detection c viral RNA us RT-PCR- (#positives/to
			Homologou s (vaccine strain)	Heterologous (challenge virus)		
Mut K+	0.5 ml (10 days of age)	10^6 EID ₅₀ (31 days of age)	9.1	0.9	100	2/10
No vaccine			-	-	0	10/10

Table A: Summary of the experimental design and of the results and data analysis of Example 4.

10 3. Conclusions

- The vaccinated group survived the challenge. The vaccine prototype triggered an efficient immune response, as measured as HI titration using the homologous antigen.
- The Mut K+ vaccine prototype provided good virological protection, as measured as ability to reduce viral shedding. RT-PCR Ct values were far low to represent infectious virus but only residual genetical material instead.

In the sequence listing (SEQ ID NOs: 1 to 51):

SEQ ID NO: 1 corresponds to H5 of A/Hong Kong/213/2003(H5N1) without signal peptide,
 SEQ ID NOs: 2-7 correspond to SEQ ID NOs: 1-6 of the international (PCT) application
 number PCT/US2007/082699,

- 5 SEQ ID NO: 8 corresponds to H5 sequence of H5N1 "1709-6",
 SEQ ID NO: 9 corresponds to H5 sequence of H5N1 "1553-1/A1",
 SEQ ID NO: 10 corresponds to H5 sequence of H5N1 "1553-15/A1",
 SEQ ID NO: 11 corresponds to H5 sequence of H5N1 "2095-50/A1",
 SEQ ID NO: 12 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-2/A1",
- 10 SEQ ID NO: 13 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-5/A1",
 SEQ ID NO: 14 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-7/A1",
 SEQ ID NO: 15 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-8/A1",
 SEQ ID NO: 16 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-9/A1",
 SEQ ID NO: 17 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-12/A1",
- 15 SEQ ID NO: 18 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-20/A1",
 SEQ ID NO: 19 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-44/A1",
 SEQ ID NO: 20 corresponds to H5 sequence of H5N1 "1553-2/B1",
 SEQ ID NO: 21 corresponds to H5 sequence of H5N1 "1553-6/B1",
 SEQ ID NO: 22 corresponds to H5 sequence of H5N1 "1553-13/B2",
- 20 SEQ ID NO: 23 corresponds to H5 sequence of H5N1 "1553-26/B2",
 SEQ ID NO: 24 corresponds to H5 sequence of H5N1 "1553-28/B1",
 SEQ ID NO: 25 corresponds to H5 sequence of H5N1 "2095-39/B2",
 SEQ ID NO: 26 corresponds to H5 sequence of H5N1 "2095-46/B1",
 SEQ ID NO: 27 corresponds to H5 sequence of H5N1 "2095-49/B1",
- 25 SEQ ID NO: 28 corresponds to H5 sequence of H5N1 "2095-65/B1",
 SEQ ID NO: 29 corresponds to H5 sequence of H5N1 "2095-68/B2",
 SEQ ID NO: 30 corresponds to H5 sequence of H5N1 "2095-70/B2",
 SEQ ID NO: 31 corresponds to H5 sequence of H5N1 "2095-73/B2",
 SEQ ID NO: 32 corresponds to H5 sequence of H5N1 "2095-75/B2",
- 30 SEQ ID NO: 33 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-3/B1",
 SEQ ID NO: 34 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-4/B1",
 SEQ ID NO: 35 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-13/B1",
 SEQ ID NO: 36 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-14/B2",
 SEQ ID NO: 37 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-19/B3",

- SEQ ID NO: 38 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-21/B2",
SEQ ID NO: 39 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-43/B1",
SEQ ID NO: 40 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-50/B1",
SEQ ID NO: 41 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-52/B1",
5 SEQ ID NO: 42 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-55/A1",
SEQ ID NO: 43 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-56/A1",
SEQ ID NO: 44 corresponds to H5 sequence of H5N1 "3982-78/B2",
SEQ ID NO: 45 corresponds to H5 sequence of H5N1 "4794-17/B",
SEQ ID NO: 46 corresponds to H5 sequence of H5N1 "4794-18/B",
10 SEQ ID NO: 47 corresponds to H5 sequence translated from SEQ ID NO: 50,
SEQ ID NO: 48 codes for a H5 sequence of H5N1 "3982-8/A1" (SEQ ID NO: 15),
SEQ ID NO: 49 codes for a H5 sequence of H5N1 "1553-2/B1" (SEQ ID NO: 20),
SEQ ID NO: 50 corresponds to the consensus sequence obtained after analysis of the 38
H5 HA gene sequences coding for SEQ ID NOs: 9 to 46,
15 SEQ ID NO: 51 corresponds to the cDNA of Newcastle Disease Virus LaSota strain.

CLAIMS:

1. An H5 protein (1) of clade 1 H5N1 virus for use in a method of treating or preventing infections with H5N1 virus of a different clade, wherein said H5 protein (1) comprises or consists of a polypeptide sequence having at least 98% sequence identity with the polypeptide sequence of SEQ ID NO:1.
2. The H5 protein (1) according to claim 1, wherein said H5 protein (1) comprises or consists of a polypeptide sequence having at least 98.1%, preferably at least 98.2%, more preferably at least 98.3%, and most preferably at least 98.4% sequence identity with the polypeptide sequence of SEQ ID NO:1.
3. The H5 protein (1) according to claim 1 or 2, wherein said H5 protein (1) has the amino acid 223N and the modification 328K+, wherein numbering of the amino acid positions of the H5 protein (1) refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:2, and wherein the modification 328K+ means that at amino acid position 328 of H5 protein (1) a second Lysine (K+) is inserted.
4. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 3, wherein such H5 protein (1) has the amino acid 94N.
5. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 4, wherein such H5 protein (1) has the amino acid 120N.
6. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 5, wherein such H5 protein (1) has the amino acid 155N.
7. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 6, wherein such H5 protein (1) has one or more of the following amino acid clusters selected from the group consisting of:
 - a. aa 93 - 95: GNF
 - b. aa 123 - 125: SDH
 - c. aa 128 - 130: SSG

- d. aa 138 - 140: GSS
- e. aa 226 - 228: MDF
- f. aa 270 - 272: EVE
- g. aa 309 - 311: NKL.

5

8. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 7, wherein such H5 protein (1) comprises a peptide comprising:

- i. the amino acid sequences of SEQ ID NO:5; SEQ ID NO:6 or SEQ ID NO:7; or
- ii. any peptide that has at least 85% sequence homology to the polypeptide of i) and that comprises hemagglutinin inhibition in a standard hemagglutinin inhibition assay; or
- iii. any part of the polypeptides of i) or ii) comprising at least 8 contiguous amino acids of any of such peptides of i) or ii) and wherein any of such peptide comprises hemagglutinin inhibition in a standard hemagglutinin inhibition assay; or
- iv. any peptide of i), ii) or iii) having one of the amino acids 36T, 36K, 83A, 83T, 83D, 86A, 86V, 120S, 155S, 156A, 156T, 189R, 189K, 212K, 212R, 212E, 263A or 263T; or
- v. any peptide of i), ii), iii) or iv) having one or more of the following amino acid clusters selected from the group consisting of:

20

- a. aa 93 - 95: GNF
- b. aa 123 - 125: SDH
- c. aa 128 - 130: SSG
- d. aa 138 - 140: GSS
- e. aa 226 - 228: MDF
- f. aa 270 - 272: EVE
- g. aa 309 - 311: NKL.

25

9. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 8, wherein such H5 protein (1) comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO:5.

30

10. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 9, wherein such H5 protein (1) is recombinantly expressed and/or produced by a baculovirus expression system, preferably in cultured insect cells.
- 5 11. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 10, wherein said H5N1 virus of a different clade is selected from the group consisting of clade 0 H5N1 virus, clade 2 H5N1 virus, clade 3 H5N1 virus, clade 4 H5N1 virus, clade 5 H5N1 virus, clade 6 H5N1 virus, clade 7 H5N1 virus, clade 8 H5N1 virus and clade 9 H5N1 virus.
- 10 12. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 11, wherein said H5N1 virus of a different clade is clade 2.2 H5N1 virus or a clade 2.3 H5N1 virus.
13. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 12, wherein said H5N1 virus of a different clade is a clade 2.2.1 H5N1 virus or a clade 2.3.2 H5N1 virus.
- 15 14. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 13, wherein said H5N1 virus of a different clade is a H5N1 virus of North African or of Vietnamese origin.
- 20 15. The H5 protein (1) according to claim 14, wherein said H5N1 virus of North African origin is a H5N1 virus comprising a H5 protein (2) of influenza virus, wherein said H5 protein (2) has
- 25 (a) the amino acids 113D, 126H, 145(-), 156R, 160F, 167T, and 181N, wherein the modification 145(-) means that amino acid position 145 of H5 is deleted, or
- (b) the amino acids 87P, 145L, 172T, 201E, 206I, 208K, 254T, 341G and 421K, or
- (c) the amino acids 145L, 172T, and 254V,
- 30 and wherein the numbering of the amino acid positions of the H5 protein (2) refers to the amino acid position as exemplarily given in SEQ ID NO:8; or wherein said H5 protein (2) consists of or comprises an amino acid sequence which is at least 95%, preferably at least 96%, more preferably at least 97%, still more preferably at least 98%, yet more preferably at least 99%, or in particular

preferred 100% homolog with any one of the sequences as set forth in SEQ ID NOs: 9 to 46.

16. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 15, wherein said H5N1 virus of a different clade comprising H5 protein (2) has:

- (a) the amino acids 87L, 113D, 126H, 145(-), 156R, 160F, 167T, and 181N, or
- (b) the amino acids 87P, 113N, 126R, 145L, 160Y, 172T, 181H, 201E, 206I, 208K, 254T, 341G and 421K, or
- (c) the amino acids 87L, 113N, 126R, 145L, 156G, 160Y, 172T, 181H, and 254V,

and/or

wherein such H5 protein (2) comprises a peptide comprising:

- i. any one of the amino acid sequences of SEQ ID NOs: 9 to 46;
- ii. any peptide that has at least 85%, preferably at least 95%, even more preferably at least 96%, even more preferably at least 97%, even more preferably at least 98%, even more preferably at least 99%, most preferably 100% sequence homology to the polypeptide of i) and that comprises hemagglutinin inhibition in a standard hemagglutinin inhibition assay; or
- iii. any part of the polypeptides of i) or ii) comprising at least 334 contiguous amino acids of any of such peptides of i) or ii) and wherein any of such peptide comprises hemagglutinin inhibition in a standard hemagglutinin inhibition assay,

and/or

wherein such H5 protein (2) consists of or comprises a contiguous amino acid sequence which has at least 95% even more preferably at least 96%, even more preferably at least 97%, even more preferably at least 98%, even more preferably at least 99%, most preferably 100% sequence identity with any one of the sequences as set forth in SEQ ID NOs: 9 to 46.

17. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 16, wherein said H5N1 virus of a different clade comprising H5 protein (2) which consists of or comprises an amino acid sequence which is at least 95%, preferably at least 96%, more preferably at least 97%, still more preferably at least 98%, yet more preferably at least 99%, or in particular preferred 100% homolog with any one of the sequences as set forth in SEQ ID NOs: 15 or 20, and wherein such H5

protein (2) comprising or consisting of the amino acid sequence set forth in SEQ ID NO:20 are in particular more preferred.

5 18. The H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 17 for use in a method of treating or preventing infections

10 (A) with Subclade A H5N1 virus of North African origin, namely an infection with a H5N1 virus comprising a H5 protein (2) having the amino acids according to (a) of claim 13 or 14 or comprising a H5 protein according to claim 16 or 17 relating to any one of the sequences as set forth in SEQ ID NOs: 9 to 19, or 42 or 43,

or

15 (B) with Subclade B H5N1 virus of North African origin, namely an infection with a H5N1 virus comprising a H5 protein having the amino acids according to (b) or (c) of claim 13 or 14 or comprising a H5 protein according to claim 16 or 17 relating to any one of the sequences as set forth in SEQ ID NOs: 20 to 41, or 44 to 46.

20 19. A combination of the H5 protein (1) of any one of claims 1 to 10 and an inactivated Newcastle disease virus. for use in a method according to any one of claims 1 to 18.

25 20. The combination of claim 19, wherein the inactivated Newcastle disease virus is an inactivated whole Newcastle disease virion.

30 21. The combination of claim 19 or 20, wherein the inactivated Newcastle disease virus is an inactivated Newcastle disease virus obtained by inactivation of a Newcastle disease virus comprising a RNA polynucleotide having at least 70%, preferably at least 80%, more preferably at least 90%, still more preferably at least 95% or in particular 100% sequence identity with a RNA copy of the polynucleotide set forth in SEQ ID NO: 51, which has been inactivated.

22. The combination of any one of claims 19 to 21, wherein the Newcastle disease virus is a Newcastle disease LaSota strain virus.
- 5 23. The combination of any one of claims 19 to 22, wherein the Newcastle Disease Virus is inactivated with a reagent selected from the group consisting of Formaldehyde, BEI, Beta-Propio-Lactone (BPL), and combinations thereof.
- 10 24. A vaccine for use in a method according to any one of claims 1 to 18 comprising:
a. the H5 protein (1) of any one of claims 1 to 10 or the combination of any one of claims 19 to 23, and
b. a pharmaceutical acceptable carrier and/or excipient.
- 15 25. The vaccine according to claim 24, wherein the excipient is one or more adjuvants.
- 20 26. The vaccine according to claim 25, wherein the adjuvant is an Emulsigen-based adjuvant.
27. The vaccine according to any one of claims 24 to 26, wherein the vaccine comprises one or more further antigens.
- 25 28. The vaccine according to claim 27, wherein the one or more further antigen is an antigen of a poultry pathogen.
29. The vaccine according to claim 28, wherein the one or more further antigen is H5, H7, or H9 of influenza virus.
- 30 30. The vaccine according to claim 29, wherein the H5 of influenza virus is H5 protein of a H5N1 virus of a clade different than clade 1.
31. Use of the H5 protein (1) of any one of claims 1 to 10 or of the combination of any one of claims 19 to 23 for the preparation of a pharmaceutical composition, preferably of a single-shot vaccine or a one dose vaccine, for the prophylaxis or treatment of infections caused by H5N1 virus of a clade other than clade 1,

wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably said H5N1 virus of a different clade according to any one of claims 11 to 18.

- 5 32. A method for the treatment or prophylaxis of influenza virus infections caused by H5N1 virus of a clade other than clade 1, wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably said H5N1 virus of a different clade according to any one of claims 11 to 18, wherein the method comprising administration of a therapeutically effective amount of the H5 protein (1) of any one of claims 1 to 10 or of a combination of any one of claims 19 to 23 to a subject in need of such a treatment.
- 10 33. A method for the treatment or prophylaxis of influenza virus infections caused by H5N1 virus of a clade other than clade 1, wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably said H5N1 virus of a different clade according to any one of claims 11 to 18, wherein the method consists of or comprises administration of a therapeutically effective amount of the vaccine according to any one of claims 24 to 30 to a subject in need of such a treatment.
- 15 34. The method of claim 32 or 33 wherein said administration is a single-shot administration or a one dose administration.
- 20 35. A kit of parts, that comprises
- 25 a. the H5 protein (1) according to any one of claims 1 to 10, the combination according to any one of claims 19 to 23, or the vaccine according to any one of claims 24 to 30; and
- 30 b. a package leaflet indicating the use of such H5 protein (1), combination or vaccine of a) for the treatment or prophylaxis of infections caused by H5N1 virus of a clade other than clade 1, wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably said H5N1 virus of a different clade according to any one of claims 11 to 18.
36. The kit according to claims 35, wherein such kit comprises at least one or more further antigens of poultry or mammalian pathogen, wherein said further antigen is preferably the further antigen according to any one of claims 27 to 29.

- 5 37. The H5 protein (1) of any one of claims 1 to 10, the combination of any one of claims 19 to 23, the vaccine according to any one of claims 24 to 30, or the kit according to claim 35 or 36, for use as a single-shot vaccine or in a one-dose vaccination.
- 10 38. A method of reducing the incidence of or severity of influenza infection comprising the step of administering a composition selected from the group consisting of the protein of claim 1 and the combination of claim 19.
- 15 39. The H5 protein (1) of any one of claims 1 to 10 or the combination of any one of claims 19 to 23 for use in a method for reducing viral shedding in a subject, wherein said H5 protein (1) or said combination is to be administered to a subject infected with or at risk of a viral infection with H5N1 virus of a clade other than clade 1, and wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably said H5N1 virus of a different clade according to any one of claims 11 to 18.
- 20 40. Use of the H5 protein (1) of any one of claims 1 to 10 or of the combination of any one of claims 19 to 23 for the preparation of a medicament for reducing viral shedding in a subject infected with or at risk of a viral infection with H5N1 virus of a clade other than clade 1, wherein said H5N1 virus of a clade other than clade 1 is preferably said H5N1 virus of a different clade according to any one of claims 11 to 18.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/065940

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/145
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HESSEL ANNETT ET AL: "Vectors Based on Modified Vaccinia Ankara Expressing Influenza H5N1 Hemagglutinin Induce Substantial Cross-Clade Protective Immunity", PLOS ONE, vol. 6, no. 1, January 2011 (2011-01), XP55013626, ISSN: 1932-6203 page 5, left-hand column - last paragraph page 12, left-hand column, last line - right-hand column, line 2 page 12, right-hand column, paragraph 2 ----- -/--	1-40



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 November 2012

Date of mailing of the international search report

03/12/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mata Vicente, Teresa

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/065940

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/052173 A2 (BOEHRINGER INGELHEIM VETMED [US]; VAUGHN ERIC M [US]; GONZALEZ-HEMANDE) 2 May 2008 (2008-05-02) example 2 claims 1,6,26,35 sequence 4 -----	1-40
X	WO 2007/053446 A2 (BOEHRINGER INGELHEIM VETMED [DE]; BOEHRINGER INGELHEIM VETMED [US]; DA) 10 May 2007 (2007-05-10) example 1 page 7, line 5 - line 14 sequence 4 -----	1-18, 24-40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2012/065940

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008052173	A2	02-05-2008	
		AU 2007308869 A1	02-05-2008
		CA 2664914 A1	02-05-2008
		CO 6210831 A2	20-10-2010
		DK 2086576 T3	15-10-2012
		EP 2086576 A2	12-08-2009
		ES 2391123 T3	21-11-2012
		JP 2010508030 A	18-03-2010
		KR 20090078362 A	17-07-2009
		RU 2009119597 A	10-12-2010
		SG 176419 A1	29-12-2011
		US 2008193471 A1	14-08-2008
		US 2012231027 A1	13-09-2012
		WO 2008052173 A2	02-05-2008

WO 2007053446	A2	10-05-2007	
		AR 056733 A1	17-10-2007
		AT 543512 T	15-02-2012
		AU 2006309007 A1	10-05-2007
		BR PI0617952 A2	09-08-2011
		CA 2626866 A1	10-05-2007
		CN 101300023 A	05-11-2008
		CN 102406932 A	11-04-2012
		EP 1942924 A2	16-07-2008
		JP 2009513667 A	02-04-2009
		KR 20080065680 A	14-07-2008
		US 2007207168 A1	06-09-2007
		WO 2007053446 A2	10-05-2007

PROTEÍNAS H5, DE H5N1 PARA UN NUEVO USO MEDICINAL

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al campo de la medicina, preferentemente al campo de las enfermedades infecciosas. En particular, la presente invención se refiere a proteínas de la gripe y las vacunas. Más particularmente, la presente invención se refiere al uso de cualquiera de dichas proteínas, o vacunas para el tratamiento y la prevención de infecciones de gripe, además para la prevención de la transmisión intra- o inter-especies del virus de la gripe.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La infección de gripe sigue siendo una infección importante en animales y humanos. La gripe está causada por virus que sufren continuos cambios/modificaciones antigénicos y que poseen una reserva animal. Por lo tanto, en el futuro pueden producirse nuevas epidemias y pandemias, y la erradicación de la enfermedad será difícil de conseguir. Los virus de la gripe son bien conocidos en la técnica y se describen con más detalle por ejemplo en *P. Palese, Nature Medicine, vol. 10, N° 12, págs. S82 a S86 de Diciembre de 2004*, con referencias adicionales. En resumen, el genoma del virus de la gripe A consta de ocho segmentos de cadena sencilla y las partículas virales tienen dos glicoproteínas principales en su superficie: la hemaglutinina (H) y la neuraminidasa (N). Con al menos 16 subtipos de hemaglutinina diferentes (H1 a H16) y 9 subtipos de neuraminidasa diferentes (N1 a N9) hay una variación antigénica considerable entre los virus de la gripe.

Se ha demostrado que el virus de gripe del tipo del virus de la gripe aviar H5N1 infecta a aves de corral, cerdos y humanos. Los virus también se pueden transmitir directamente de las especies avícolas a los humanos (*Claas et al., Lancet 1998, 351: 472; Suarez et al., J. Virol. 1998, 72: 6678; Subbarao et al., Science 1998, 279: 393; Shortridge, Vaccine 1999, 17 (Supl. 1): S26-S29*). La mortalidad en los casos clínicos humanos conocidos alcanza aproximadamente el 50%.

Durante el último siglo, los cerdos han sido un importante vector para las pandemias de gripe. Los cerdos, camellos y focas, preferentemente los cerdos, pueden servir como una "cámara de mezcla" para los virus de la gripe aviar y, por lo tanto, representan un factor de riesgo potencial para superar las barreras entre especies desde las aves de corral, reserva natural de los virus de gripe, a los mamíferos. Esto ocurre normalmente por las infecciones dobles de los animales

susceptibles, por ejemplo cerdos, tanto con un virus de mamífero establecido (porcino) como con un virus de la gripe aviar. Esta doble infección puede crear nuevos virus recombinantes que pueden ser la causa de pandemias humanas o porcinas. La evidencia reciente, sin embargo, indicaría que una recombinación de cepas de H5 aviar común con virus de gripe de mamíferos no produce recombinantes muy virulentos. Por otra parte, el virus de la gripe aviar puede infectar cerdos y, mediante mutaciones espontáneas, puede adaptarse a los cerdos. La barrera crítica se superará tan pronto como el virus pueda producir infecciones horizontales en una población de cerdos (u otro mamífero).

Sin embargo, una parte importante de los cerdos del sudeste asiático han sido infectados con cepas de virus de la gripe aviar (H5) originados en explotaciones de aves de corral vecinas. Como estas infecciones han sido hasta ahora sub-clínicas solo pueden ser diagnosticadas mediante métodos de laboratorio y, por lo tanto, frecuentemente no se tienen en cuenta. Hay un riesgo elevado de que estos cerdos infectados subclínicamente sirvan como oportunidad para que el virus se adapte al sistema de los mamíferos, se extienda en la población porcina e infecte también a los seres humanos.

Las vacunas actuales de la gripe incluyen vacuna de subunidades (*Babai et al., Vaccine 1999, 17 (9–10): 1223-1238; Crawford et al., Vaccine 1999, 17 (18): 2265-2274; Johansson et al., Vaccine 1999, 17 (15–16): 2073-2080*), vacuna atenuada (*Horimoto et al., Vaccine 2004, 22 (17–18): 2244-2247*), vacuna de ADN (*Watabe et al., Vaccine 2001, 19 (31): 4434-4444*) y vacuna de gripe desactivada (*Cao et al., Vaccine 1992, 10 (4): 238-242*), siendo esta última la usada más ampliamente a escala comercial (*Lipatov et al., J Virol 2004, 78 (17): 8951-8959*).

Las vacunas de subunidades, hemaglutinina y neuraminidasa recombinantes (*Babai et al., Vaccine 1999, 17 (9–10):1223-1238; Crawford et al., Vaccine 1999, 17 (18): 2265-2274; Johansson et al., Vaccine 1999, 17 (15–16): 2073-2080*) pueden ser una alternativa atractiva a la vacuna desactivada, aunque no hay ninguna usada actualmente como vacuna comercial. La preparación de tales vacunas es obviamente más segura que la de la vacuna desactivada. Además, las vacunas de subunidades no producen respuestas de anticuerpos en las proteínas víricas de la gripe y, por lo tanto, permiten distinguir entre los animales vacunados y los infectados. (*Crawford et al., Vaccine 1999, 17 (18): 2265-2274*).

La proteína hemaglutinina es la glicoproteína de fusión de la membrana y de unión al receptor del virus de la gripe y la diana para los anticuerpos neutralizadores de la infectividad. La proteína hemaglutinina (HA) completa del H5N1 está compuesta

por 568 aminoácidos, con un peso molecular de 56 kDa. La molécula de HA consta de las subunidades HA1 y HA2, mediando la subunidad HA1 el contacto inicial con la membrana celular y siendo la HA2 responsable de la fusión de la membrana (Chizmadzhev, *Bioelectrochemistry* 2004, 63 (1–2):129-136).

Los sistemas baculovirus/células de insecto se han usado para expresar los genes de la hemaglutinina aislados de los subtipos de gripe aviar (Babai *et al.*, *Vaccine* 1999, 17 (9–10): 1223-1238; Crawford *et al.*, *Vaccine* 1999, 17 (18): 2265-2274; Johansson *et al.*, *Vaccine* 1999, 17 (15–16): 2073-2080); Nwe *et al.*, *BMC Microbiology* 2006, 6 (16): DOI: 10.1186/1471-2180-6-16). Sin embargo, estas proteínas recombinantes parecen no ser protectoras en ningún caso, o solo menos eficaces al menos para algunas especies (Treanor *et al.*, *Vaccine* 2001, 19: 1732-1737).

El documento Lin *et al.* J Vet Med Sci. 2008 70(11):1147-52) publica el uso de un sistema de células de insectos/baculovirus para la producción de proteína H5 del virus clado 2 H5N1 A/duck/China/E319-2/03, que se puede utilizar para una vacunación de refuerzo para prevenir una infección con el virus clado 2 A/duck/China/E319-2/03.

Bright *et al.* (PLoS One. 2008 30;3(1):e1501) describe el uso de un sistema de células de insectos/baculovirus para generar partículas del tipo virus (VLPs) que incluyen neuraminidasa, hemaglutinina y proteína de matriz 1 del virus H5N1 clado 2 para inducir una respuesta inmunológica de clado cruzado contra un ataque con virus H5N1 A/VN/1203/2004 clado 1 en ratones. Sin embargo, la producción de VLP causa problemas ya que para generar un VLP funcional que imite a un virus verdadero, se necesitan múltiples proteínas de estructura viral que luego deben ser armadas correctamente en una partícula que reproduzca la confirmación de la capa externa (cápside) del virus infeccioso. Además, el estudio demuestra que el armado in vitro de los VLP compite con el agregado (Ding *et al.* *Biotechnology and Bioengineering* 107 (3): 550-560)

Por lo tanto, es necesario aumentar la disponibilidad de vacunas mejoradas y de nuevas propuestas de vacunación para proporcionar mejores enfoques para controlar las infecciones de gripe y tener un impacto positivo sobre la carga de la enfermedad. En especial, existe una gran necesidad de lograr una inducción simple, efectiva y fácil de manejar, preferentemente con una vacunación simple, una respuesta inmune protectora clado-cruzada a los virus de la influenza con H5N1 HA.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Antes de las formas de realización de la presente invención, se debe observar

que como se usa en la presente y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el", "la", incluyen la referencia en plural, a no ser que en el contexto se indique claramente de otro modo. Así, por ejemplo, la referencia a "una preparación" incluye varias de estas preparaciones; la referencia al "vehículo" es una referencia a uno o más vehículos y sus equivalentes conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente. A no ser que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos empleados en esta memoria, tienen los mismos significados que los que entiende generalmente un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Todos los intervalos y valores dados pueden variar entre 1 y 5% a no ser que se indique de otro modo o que se conozca de otro modo por el experto en la técnica, por lo tanto el término "aproximadamente" se ha omitido de la memoria descriptiva. Aunque cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en este documento puede usarse en la práctica o ensayos de la presente invención, los métodos, mecanismos y materiales preferidos se describen a continuación. Todas las publicaciones mencionadas en la presente se incorporan en la misma como referencia con el fin de describir y exponer las sustancias, excipientes, vehículos y metodologías tal y como se mencionan en las publicaciones que se pueden utilizar en relación con la invención. Nada en la presente debe ser interpretado como una admisión de que la invención no tiene derecho a ser un precedente de tal descripción en virtud de una invención anterior.

La solución al problema técnico anterior se alcanza con la descripción y las formas de realización caracterizadas en las reivindicaciones.

Proteínas de la gripe y moléculas de ácido nucleico que las codifican

La presente invención se basa en el sorprendente hallazgo de que la proteína H5 de H5N1 clado 1 induce en especial mediante una sola vacuna una respuesta inmunológica protectora clado-cruzada a los virus de la gripe con H5N1 HA. Como una característica, la proteína H5 del virus H5N1 clado 1 que por cuestiones de claridad también se denomina "proteína H5 (1)" en la presente, comprende o consta de una secuencia polipéptida que tiene por lo menos una identidad de secuencia de 98% con la secuencia polipéptida determinada en SEQ ID NO:1.

Una "sola vacuna" se refiere a una composición inmunogénica que es efectiva para reducir la incidencia o la gravedad de la infección después de una única dosis de la misma sin la necesidad de un refuerzo.

En una aspecto, la invención está dirigida a la proteína H5 (1) del virus H5N1

clado 1 para el uso en un método para el tratamiento o prevención de las infecciones con el virus H5N1 de un clado diferente, principalmente de un clado diferente del clado 1 o de cualquier clado con la excepción del clado 1 respectivamente, en el cual dicha proteína H5 (1) comprende o consta de una secuencia polipéptida que tiene por lo menos una identidad de secuencia de 98% con la secuencia polipéptida de SEQ ID NO:1.

El término “clado” o “clados” se usa en la presente para los clados del Sistema de Nomenclatura OMS para el Virus de la Gripe Aviar altamente Patogénico (H5N1) que se resume en el URL del sitio de la OMS: who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/nomenclature/en/ (12.08.2011), que se incorpora en la presente como referencia.

Se definen 10 clados distintivos iniciales de virus (numerados de 0-9) (WHO/OIE/FAO H5N1 Grupo de Evolución de Trabajo, 2008) que se denominan clados de primer orden. Los clados se definen estrictamente en el nivel nucleótido y cumplen con los siguientes tres criterios de definición específicos de clado hechos por el Grupo de Trabajo de Evolución de WHO/OIE/FAO H5N1:

- los que comparten un nodo en común (que definen al clado);
- grupo monofilético con un valor autosuficiente de ≥ 60 en el nodo que define al clado (después de 1000 replicaciones autosuficientes vecinas); y
- el porcentaje de distancia de los nucleótidos entre y dentro de los clados de $>1.5\%$ y $<1.5\%$, respectivamente.

Como los virus dentro de estos 10 clados siguen evolucionando, surgen periódicamente nuevos sublineajes (clados H5N1 potenciales). Una vez que estos sublineajes cumplen con los mismos tres criterios de definición específicos de los 10 clados iniciales (numerados de 0-9), son designados como clados separados (WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group Emerg. Inf. Dis. 14, 7 (2008). Estos nuevos clados se definen como clados de segundo (o tercer, etc.) orden y se les asigna una “dirección” numérica que los une a su clado original usando un sistema de numeración decimal jerárquico. Por ejemplo, dentro del clado distintivo antigénico 2.3, los clados de tercer orden que cumplen con la definición de clado, se designan como clados 2.3.1 y 2.3.2 y así sucesivamente. Este sistema lógico de numeración jerárquica está relacionado objetivamente con la filogenia HA.

Los criterios utilizados para la designación de los clados de acuerdo con el Sistema de Nomenclatura de la OMS para H5N1 son:

- 1 Mantener los números de clados designados previamente cuando sea posible

(es decir, el clado 2.2 sigue siendo 2.2 y el clado 1 sigue siendo 1)

- 2 Las nuevas designaciones de clado sobre la base del árbol de la topología filogenética derivada de todas las secuencias disponibles (el gran árbol)

Los progenitores H5N1 (más cerca de Gs/Guangdong/1/96) rediseñados como clado 0.

Los clados siguientes numerados desde el clado 3 (es decir, clados 3-9)

Los clados designados por la presencia de un nodo distintivo en común compartido por lo menos por 4 aislados (en un grupo monofilético)

Las ramas adicionales designadas como un clado simple evolucionan en más de un linaje distintivo (es decir, clado 2.2 o clado 2.3.1; sobre la base de compartir un nodo en común y una agrupación monofilética).

- 3 Las distancias por pares en porcentaje promedio entre y dentro de los clados (usando el parámetro Kimura 2)

Los clados distintivos deberían tener una distancia promedio de $>1.5\%$ con otros clados

Los clados distintivos deberían tener una distancia promedio de $<1.5\%$ dentro del clado (puede ser levemente superior en clados con los valores extremos muy evolucionados es decir Ck/Shanxi/2/2006 en el clado 7)

- 4 Autosuficiente (sobre la base de 1000 replicaciones autosuficientes vecinas) $\geq 60\%$ del valor autosuficiente en el nodo de definición del clado.

(tomado de la Tabla 1 de: WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group Emerg. Inf. Dis. 14, 7 (2008)).

La cepa de prototipo para cada clado figura en la siguiente Tabla:

<u>Clado</u>	<u>Cepa Prototipo</u>
0	Gs/Guangdong/1/96
3	Ck/Hong Kong/YU562/2001
4	Gs/Guiyang/337/2006
5	Gs/Guangxi/914/2004
6	Ck/Hunan/01/2004
7	Ck/Shanxi/2/2006

8	Ck/Hong Kong/YU777/2002
9	Dk/Guangxi/2775/2005
1	Vietnam/1203/2004
2.1.1	Ck/Indonesia/BL/2003
2.1.2	Indonesia/538H/2006
2.1.3	Indonesia/5/2005
2.2	BHGs/Qinghai/1A/2005
2.3.1	Dk/Hunan/303/2004
2.3.2	Ck/Guangxi/2461/2004
2.3.3	Ck/Guiyang/3055/2005
2.3.4	Dk/Fujian/1734/2005
2.4	Ck/Yunnan/115/2004
2.5	Ck/Korea/ES/2003
2.5	Ck/Korea/ES/2003

(tomada de la Tabla 2 de: WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group Emerg. Inf. Dis. 14, 7 (2008)).

La publicación WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group Emerg. Inf. Dis. 14, 7 (2008), que se incorpora aquí para referencia se encuentra en el sitio CDC URL: cdc.gov/EID/content/14/7/e1.htm (12.08.2011).

Un resumen de la clasificación de clado de los virus conocidos H5N1 es proporcionado por el árbol filogenético en el sitio de la OMS URL: who.int/csr/disease/avian_influenza/H5CompleteTree.pdf (15.08.2011), que se agrega a la presente como referencia.

Para determinar el clado de una proteína H5 de H5N1, por ejemplo, se puede usar la herramienta basada en el sitio web "Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) H5N1 HA clade prediction", descrito por Lu, Davis, Rowley, y Donis: "Una herramienta basada en la Web para la designación de clado de virus H5N1 de la gripe aviar altamente patógenos" en Options for the Control of Influenza VI. J.M. Katz, N. Cox & A.W. Hampson (Eds.) London: Blackwell, 2007, incorporado a la presente como referencia y que se encuentra en el sitio web URL: h5n1.flugenome.org/grouping.php (12.08.2011).

Por ejemplo, una proteína H5 del virus H5N1 clado 1 (proteína H5 (1)) es por lo tanto una HA con una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia nucleótida de un clado 1 de acuerdo con el Sistema de Nomenclatura de la OMS antes mencionado para H5N1.

Un virus H5N1 clade 2.3.1, por ejemplo, es entonces un H5N1 que entra dentro de los criterios de un clado 2.3.1 de acuerdo con el Sistema de Nomenclatura de la OMS para H5N1.

En una forma de realización preferida la proteína H5 (1) de acuerdo con la invención, principalmente la proteína H5 del virus H5N1 clado 1 según se describe en la presente comprende o consta de una secuencia polipéptida que tiene por lo menos 98.1%, preferente por lo menos 98.2%, más preferentemente por lo menos 98.3%, y más preferentemente por lo menos 98.4% de identidad de secuencia con la secuencia de polipéptido de SEQ ID NO:1.

La secuencia de identidad en el contexto de la invención se entiende como que está basada en determinada similitud de pares entre las secuencias de proteína. La determinación del porcentaje de similitud entre dos secuencias es preferentemente lograda usando un algoritmo computacional en particular la muy conocida Herramienta de Búsqueda de Alineamiento Local Básica (Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ: Basic local alignment search tool. J Mol Biol 1990, 215(3):403-410). Para los fines de la presente invención, la identidad porcentual de secuencia de una secuencia de aminoácidos se determina usando el algoritmo de búsqueda de homología BLAST blastp usando los siguientes parámetros: un umbral estimado de 10, tamaño de palabra 3, BLOSUM62 matrix, penalidad de apertura de espacio de 11, una penalidad por extensión de 1, y un ajuste de matriz de puntaje condicional composicional. La base de datos contra la cual buscar, es la fijación de secuencias de proteínas no redundantes (nr). El algoritmo BLAST de búsqueda de homología se describe en Altschul SF (1990), J Mol Biol 1990, 215(3):403-410, que se agrega a la presente como referencia.

Una variante puede por ejemplo diferir del número de acceso de referencia de la molécula BAE07201 sin péptido de señal (los restos de aminoácidos de terminal N 16 no aparecen en SEQ ID NO:1) de como mínimo 1 a 15 restos de aminoácidos, como mínimo 1 a 10 restos de aminoácidos, tales como 6-10, como mínimo 5, como mínimo 4, 3, 2, o hasta 1 de resto de aminoácidos.

En una forma de realización ejemplar, la proteína H5 (1) de acuerdo con la invención, es decir, la proteína H5 (1) del virus H5N1 clado 1 en un método para el

tratamiento y la prevención de las infecciones con un virus H5N1 de un clado diferente, es preferentemente una proteína H5 del virus de la gripe donde la proteína H5 tiene el aminoácido 223N y la modificación 328K+, donde la numeración de las posiciones de aminoácido de la proteína H5 se refiere a la posición de aminoácido como se da a modo de ejemplo en la secuencia SEQ ID NO:2 y donde la modificación 328K+ significa que se ha insertado una segunda lisina (K+) en la posición del aminoácido 328 de la proteína H5. Preferentemente, dicha proteína H5 (1) también se denomina Mut k+ o mutK+ en la siguiente. Preferentemente dicha proteína H5 y cualquier proteína H5 adicional según la invención es una proteína H5 aislada.

El término "proteína H5 (1) de clado 1 H5N1", según se utiliza en la presente, preferentemente significa "proteína H5 (1) como antígeno simple del virus H5N1 clado 1" o en particular "proteína H5 (1) como antígeno simple".

Los términos "hemaglutinina 5 (H5)" o "H5 del virus de la gripe aviar" o "proteína H5" como se usa en la presente son equivalentes y significan, pero sin limitarse a ellas, cualquier proteína H5 existente naturalmente y cualquier forma modificada de la proteína H5, incluyendo cualquier mutante por eliminación, sustitución y/o inserción de la proteína H5.

La numeración de las posiciones de aminoácido de la Mut k+ proteína H5 (1) como se usa en la presente, se refiere a la posición de aminoácido como se da a modo de ejemplo en la secuencia SEQ ID NO:2. La secuencia SEQ ID NO:2 representa la secuencia de aminoácidos de la hemaglutinina de la cepa duck/China/E319-2/03 pero a falta del péptido señal amino terminal. En otras palabras, si se hace referencia al aminoácido en la posición 223 (aminoácido 223), el resto aminoácido corresponde al aminoácido 223 en la secuencia SEQ ID NO:2. Sin embargo, esto no significa que las Mut k+ proteína H5 según la presente invención tenga idéntica secuencia de aminoácidos que la secuencia SEQ ID NO:2. Solo indica que los aminoácidos correspondientes de las proteínas H5 según la invención codifican el resto aminoácido, como se ha mencionado explícitamente. En el caso habitual, el aminoácido 223 sería la serina (S). Los términos "223N" o "155N" significan a modo de ejemplo que el aminoácido en las posiciones 223 y 155 respectivamente - numerando según las posiciones de aminoácido de la secuencia SEQ ID NO:2-, debe codificar el aminoácido asparagina (N). En otras palabras, si se hace referencia a una "proteína H5 (1) que tiene el aminoácido 223N", una molécula de aminoácido de H5 que normalmente codifica la serina en la posición de aminoácido 223 -numerando según las posiciones de aminoácido de la SEQ ID NO:2 - este aminoácido debe estar

sustituido por una asparagina (N). El término “328K+” o “modificación 328K+” significa que en la posición de aminoácido 328 de la proteína H5 - numerando según las posiciones de aminoácido de la SEQ ID NO:2 - se ha insertado una segunda lisina (K+). En los casos en los que las secuencias de aminoácidos en las posiciones 328 y 329 codifican naturalmente la lisina-lisina, no se debe insertar una lisina (K) adicional. Sin embargo, la mayoría de las secuencias de la H5 conocidas codifican en las posiciones de aminoácidos 328 y 329 la lisina-arginina. En cualquiera de estos casos, el término modificación 328K+ significa que debe insertarse una segunda lisina (K) entre la lisina en la posición 328 y la arginina en la posición 329. La secuencia modificada debe ser entonces lisina-lisina-arginina (KKR).

Con respecto al presente ejemplo, la hemaglutinina de la cepa duck/China/E319-2/03 se traslada a una proteína H5 (1) de H5N1 clado 1, debido a que se parece a la secuencia H5 del virus H5N1 clado 1 A/HongKong/213/2003, el año/ubicación/huésped de este aislado HK y muestra reacción con anticuerpos específicos clado-1. De allí que la secuencia Mut K+ se clasifica como una secuencia H5 de un H5N1 clado 1. Dentro del contexto de la invención, la secuencia Mut K+ diseñada se comprende y define como un virus de proteína H5 del virus H5N1 clado 1.

Así en particular también cualquier proteína H5 diseñada se entiende y define como una proteína H5 del virus H5N1 clado 1 de acuerdo con la invención, si está codificada mediante una secuencia nucleótida que cumple con los criterios de una secuencia nucleótida de un clado 1 de acuerdo con el Sistema de Nomenclatura de la OMS antes mencionado para H5N1.

Por lo tanto, en una forma de realización, la presente invención se aplica a la proteína H5 y cualquier forma modificada de la proteína H5, incluyendo cualquier mutante de la proteína H5 por eliminación, sustitución y/o inserción, donde estas proteínas H5 tienen el aminoácido 223N y la modificación 328K+, donde la numeración de las posiciones de aminoácido de la proteína H5 se refiere a la posición de aminoácido como se da a modo de ejemplo en la secuencia SEQ ID NO:2 y donde la modificación 328K+ significa que se ha insertado una segunda lisina (K+) en la posición de aminoácido 328 de la proteína H5. Se explica por sí mismo que cualquiera de las proteínas H5 como se proporcionan junto con la presente, son antigénicas, lo que significa que presentan propiedades antigénicas en un ensayo convencional de inhibición de la hemaglutinina para los virus de la gripe.

Según una forma de realización adicional, la presente invención se refiere también a cualquier parte de la proteína H5 (1), lo que significa cualquier fragmento

peptídico que presenta propiedades antigénicas en un ensayo convencional de inhibición de la hemaglutinina, que tiene en una forma de realización al menos el aminoácido 223N y la modificación 328K+, donde la numeración de las posiciones de aminoácido de la proteína H5 se refiere a la posición de aminoácido como se da a modo de ejemplo en la secuencia SEQ ID NO:2 y donde la modificación 328K+ significa que se ha insertado una segunda lisina (K+) en la posición de aminoácido 328 de la proteína H5.

Una proteína H5 (1) muestra propiedades antigénicas si inhibe la hemaglutinación en un ensayo convencional de inhibición de la hemaglutinina (denominado en la parte siguiente de esta memoria HI por sus iniciales en inglés: hemagglutinin inhibition), por ejemplo como se describe en el ejemplo 2. Normalmente, dicha parte antigénica de la proteína H5 (1) comprende 200, 180, 160, 150, 140, 130, 120, 110 o más preferentemente 105 aminoácidos contiguos de la secuencia de aminoácidos que codifica la proteína H5 como se ha mencionado anteriormente, modificada o no modificada, la cual muestra propiedades antigénicas en un ensayo convencional de inhibición de la hemaglutinina como se describe en el ejemplo 2. Un ensayo convencional de inhibición de la hemaglutinina también se describe por ejemplo en *Stephenson et al., Virus Research vol. 103, págs. 91-95 (2004)* con referencias adicionales. Sin embargo, debe entenderse que el ensayo HI como se describe en el ejemplo 2 es el ensayo de referencia pertinente relacionado con todos los aspectos de la invención como se describe en la presente.

En resumen, se realizó un ensayo HI para detectar la presencia de anticuerpos específicos para la HA. En el ensayo HI se usó un virus H5N2 heterólogo, A/chicken/Mexico/232/94, con una concentración de cuatro unidades de hemaglutinación [4 unidades HA]. En placas de microvaloración con fondo en U se mezclaron subsiguientemente diluciones a la mitad en serie de suero en PBS con volúmenes iguales (25 µL) que contenían 4 unidades HA de virus, y se incubaron a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) durante 30 minutos. Se añadieron glóbulos rojos de pollo con una concentración de 0,5% en PBS a los pozos que contenían el suero-virus y se incubaron durante 40 minutos a temperatura ambiente. Los títulos HI se determinaron como recíprocos de las mayores diluciones de suero en las que se observó la inhibición de la hemaglutinación.

De forma importante, *Haesebrouck y Pensaert (1986)* encontraron que "puede existir una correlación entre los títulos HI frente al virus de ataque y la protección del ataque". *Haesebrouck y Pensaert (1986)* también determinaron que los cerdos con

títulos HI ≥ 40 fueron "totalmente resistentes al ataque y no se produjo replicación de los virus en el tracto respiratorio durante el ataque". Por lo tanto, el desarrollo de títulos HI ≥ 40 en el ganado porcino vacunado se correlacionaría con la protección. (F. Haesebrouck y M.B. Pensaert, 1986). "*Effect of intratracheal challenge of fattening pigs previously immunized with an inactivated influenza H1N1 vaccine*" (*Veterinary Microbiology*, 11 (1986) 239-249). Se debe suponer que los títulos HI equivalentes o casi equivalentes de la H5 también producirán una protección inmune total del ganado porcino frente al virus de la gripe aviar. Los títulos menores producen al menos la seroconversión de los animales vacunados y producen una protección inmune parcial de estos animales, lo cual puede también reducir de forma importante el riesgo de una pandemia.

Además, una parte antígena de la proteína H5 (1) según la invención incluye, pero sin limitarse a ellos, mutantes por eliminación de la proteína H5 que comprenden:

- i. al menos 35, 30, 25, 20, 18, 15, 13, 10, 9, o más preferentemente 8 aminoácidos contiguos de la secuencia de aminoácidos que rodea e incluye el aminoácido 223N; y
- ii. al menos 35, 30, 25, 20, 18, 15, 13, 10, 9, o más preferentemente 8 aminoácidos contiguos de la secuencia de aminoácidos que rodea e incluye la modificación de aminoácido 328K+, y
- iii. donde cualquiera de tales partes antigénicas de la proteína H5 muestra inhibición de la hemaglutinina en un ensayo convencional de inhibición de la hemaglutinina como se ha descrito en el ejemplo 2.

Preferentemente, estos aminoácidos que rodean el aminoácido 223N y/o 328K+ son codificados por la secuencia SEQ ID NO:2 o la secuencia SEQ ID NO:5.

Además, las proteínas H5 (1) preferidas según la invención son:

- i. cualquiera de las mencionadas anteriormente que tienen el aminoácido 223N y la modificación 328K+;
- ii. cualquiera de las mencionadas anteriormente que tienen el aminoácido 94N/223N y la modificación 328K+;
- iii. cualquier proteína H5 de origen aviar que tiene el aminoácido 223N y la modificación 328K+, donde el origen aviar significa que la secuencia H5 deriva de un virus aislado que fue originalmente aislado de un ave de corral infectada con un virus de gripe aviar del tipo 5; o
- iv. cualquier proteína H5 de origen aviar que tiene los aminoácidos 94N/223N y la

modificación 328K+, donde el origen aviar significa que la secuencia H5 deriva de un virus aislado que fue originalmente aislado de un ave de corral infectada con un virus de gripe aviar del tipo 5; o

- v. cualquier proteína H5 de origen aviar que tiene los aminoácidos 155N/223N y la modificación 328K+, donde el origen aviar significa que la secuencia H5 deriva de un virus aislado que fue originalmente aislado de un ave de corral infectada con un virus de gripe aviar del tipo 5; o
- vi. cualquier proteína H5 de origen aviar que tiene los aminoácidos 120N/155N/223N y la modificación 328K+, donde el origen aviar significa que la secuencia H5 deriva de un virus aislado que fue originalmente aislado de un ave de corral infectada con un virus de gripe aviar del tipo 5; o
- vii. cualquier proteína H5 que tiene las modificaciones 94N/223N y la modificación 328K+; o
- viii. cualquier proteína H5 que tiene las modificaciones 94N/155N/223N y la modificación 328K+; o
- ix. cualquier proteína H5 que tiene las modificaciones 94N/120N/155N/223N y la modificación 328K+; o
- x. cualquier proteína H5 que tiene la modificación 223N, la modificación 328K+ y uno o más de los siguientes agrupamientos de aminoácidos elegidos entre el grupo que consiste en:
 - a. aa 93-95: GNF
 - b. aa 123-125: SDH
 - c. aa 128-130: SSG
 - d. aa 138-140: GSS
 - e. aa 226- 228: MDF
 - f. aa 270-272: EVE
 - g. aa 309-311: NKL; o
- xi. cualquier proteína H5 que tiene el aminoácido 223N y la modificación 328K+ y uno o más de los siguientes agrupamientos de aminoácidos elegidos entre el grupo que consiste en:
 - a. aa 93-95: GNF
 - b. aa 128-130: SSG
 - c. aa 138-140: GSS; o
- xii. cualquier proteína H5 que tiene la secuencia de aminoácidos de la secuencia SEQ ID NO:5.

Además, las proteínas H5 (1) preferidas como se proporcionan junto con la presente incluyen las proteínas H5 como se describen en *Hoffmann et al, PNAS, vol. 106, no.36, págs. 12915-12920 del 6 de Septiembre 6, 2005*, donde las proteínas H5 incluyen una o más de las modificaciones como se han descrito anteriormente, al menos el aminoácido 223N y la modificación 328K+, donde la numeración de las posiciones de los aminoácidos de la proteína H5 se refiere a la posición de aminoácido como se da a modo de ejemplo en la secuencia SEQ ID NO:2 y donde la modificación 328K+ significa que se inserta una segunda lisina (K+) en la posición del aminoácido 328 de la proteína H5. La descripción de esta referencia debe incluirse totalmente en la presente como referencia.

Además, las proteínas H5 (1) preferidas como se proporcionan junto con la presente memoria incluyen las proteínas H5 que comprenden el aminoácido 223N y la modificación 328K+, donde la numeración de las posiciones de aminoácido de la proteína H5 se refiere a la posición de aminoácido como se da a modo de ejemplo en la secuencia SEQ ID NO:2 y donde la modificación 328K+ significa que se ha insertado una segunda lisina (K+) en la posición del aminoácido 328 de la proteína H5, y

- i. las secuencias de aminoácido de las secuencias SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4; SEQ ID NO: 5; SEQ ID NO:6 o SEQ ID NO:7; o
- ii. cualquier péptido que tiene al menos una homología de secuencia de 85%, más preferentemente al menos una homología de secuencia de aproximadamente 90%, todavía más preferentemente al menos una homología de secuencia de aproximadamente 95%, incluso más preferentemente al menos una homología de secuencia de aproximadamente 97%, todavía incluso más preferentemente al menos una homología de secuencia de aproximadamente 98%, e incluso más preferentemente al menos una homología de secuencia de 99% con el polipéptido de i) que comprende inhibición de la hemaglutinina en un ensayo convencional de inhibición de la hemaglutinina como se ha descrito anteriormente; o
- iii. cualquier parte antigénica de los polipéptidos de i) o ii) que comprenden al menos 35, 30, 25, 20, 18, 15, 13, 10, 9 o más preferentemente 8 aminoácidos contiguos de cualquiera de los péptidos i) o ii).
- iv. cualquiera de los péptidos de i), ii) o iii) que tienen los aminoácidos 36T, 36K, 83A, 83T, 83D, 86A, 86V, 120N, 120S, 155N, 155S, 156A, 156T, 189R, 189K,

212K, 212R, 212E, 223N, 223N o 120N/155N.

- v. cualquiera de los péptidos de i), ii), iii) o iv) que tienen uno o más de los siguientes agrupamientos de aminoácidos elegidos entre el grupo que consiste en:
 - a. aa 93-95: GNF
 - b. aa 123-125: SDH
 - c. aa 128-130: SSG
 - d. aa 138-140: GSS
 - e. aa 226- 228: MDF
 - f. aa 270-272: EVE
 - g. aa 309-311: NKL; o
- vi. cualquiera de los péptidos de i), ii), iii) o iv) que tienen uno o más de los siguientes agrupamientos de aminoácidos elegidos entre el grupo que consiste en:
 - a. aa 93-95: GNF
 - b. aa 128-130: SSG
 - c. aa 138-140: GSS.

“Homología de secuencia”, tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a un método para determinar el grado de relación de dos secuencias. Para determinar la homología de secuencia, se alinean óptimamente dos o más secuencias y, si es necesario, se introducen huecos. En contraposición con la identidad de la secuencia, las sustituciones moderadas de aminoácidos se cuentan como un emparejamiento cuando se determina la homología de secuencia. En otras palabras, para obtener un polipéptido o polinucleótido con un 95% de homología de secuencia con una secuencia de referencia, el 85%, preferentemente el 90%, incluso más preferentemente el 95% de los restos aminoácidos o nucleótidos en la secuencia de referencia debe emparejarse o comprender una sustitución moderada con otro aminoácido o nucleótido, o un cierto número de aminoácidos o nucleótidos hasta el 15%, preferentemente hasta el 10%, incluso más preferentemente hasta el 5% de los restos totales de aminoácidos o nucleótidos, que no incluyen sustituciones moderadas, en la secuencia de referencia puede insertarse en la secuencia de referencia. Preferentemente, la secuencia homóloga comprende al menos un tramo de 50, incluso más preferentemente de 100, incluso más preferentemente de 250, incluso más preferentemente de 500 nucleótidos. Tras dicha alineación, la homología de secuencia

se constata sobre una base de posición-por-posición, p. ej. las secuencias son “homólogas” en una posición particular si en esa posición los restos nucleotídicos o de aminoácidos son idénticos. El número total de dichas identidades de posición se divide entonces por el número total de restos de nucleótidos o de aminoácidos en la secuencia de referencia para dar el % de homología de secuencia. La homología de secuencia se puede calcular fácilmente por métodos conocidos, que incluyen, pero sin limitarse a ellos, los descritos en *Computational Molecular Biology*, Lesk, A. N., comp., Oxford University Press, Nueva York (1988), *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D. W., comp., Academic Press, Nueva York (1993); *Computer Analysis of Sequence Data, Part I*, Griffin, A. M. y Griffin, H. G., comps., Humana Press, Nueva Jersey (1994); *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinge, G., Academic Press (1987); *Sequence Analysis Primer*, Gribskov, M. y Devereux, J., comps., M. Stockton Press, Nueva York (1991); y Carillo, H., y Lipman, D., *SIAM J. Applied Math.*, 48: 1073 (1988), cuyas enseñanzas se incorporan en esta memoria como referencia. Se han diseñado métodos preferidos para determinar la homología de secuencia para obtener el mayor emparejamiento entre las secuencias sometidas a ensayo. Los métodos para determinar la homología de secuencia se codifican en programas de ordenador disponibles públicamente que determinan la identidad de secuencia entre secuencias dadas. Ejemplos de este tipo de programas incluyen, pero sin limitarse a ellos, el paquete de programas GCG (Devereux, J., et al., *Nucleic Acids Research*, 12(1): 387 (1984)), BLASTP, BLASTN y FASTA (Altschul, S. F. et al., *J. Molec. Biol.*, 215:403-410 (1990)). El programa BLASTX está públicamente disponible de NCBI y de otras fuentes (*BLAST Manual*, Altschul, S. et al., NCVI NLM NIH Bethesda, MD 20894, Altschul, S. F. et al., *J. Molec. Biol.*, 215: 403-410 (1990), cuyas enseñanzas se incorporan en esta memoria como referencia). Estos programas alinean de forma óptima las secuencias utilizando pesos de huecos por defecto con el fin de producir el nivel más alto de homología de secuencia entre la secuencia dada y la de referencia.

Además, las proteínas H5 (1) preferidas incluyen las proteínas H5 que comprenden la modificación 328K+ como se ha mencionado anteriormente y la secuencia de aminoácidos, proporcionada en la tabla 1, o cualquiera de sus partes inmunogénicas:

TABLA 1: antígenos de la H5

Nombre de la secuencia	Secuencia básica	Posiciones de los aminoácidos [#]									
		36	83	86	120	155	156	189	212	223	263
223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	-	-	-	-	-	N	-
36T/223N/328K+	cualquier HA H5	T	-	-	-	-	-	-	-	N	-
36K/223N/328K+	cualquier HA H5	K	-	-	-	-	-	-	-	N	-
83A/223N/328K+	cualquier HA H5	-	A	-	-	-	-	-	-	N	-
83T/223N/328K+	cualquier HA H5	-	T	-	-	-	-	-	-	N	-
83D/223N/328K+	cualquier HA H5	-	D	-	-	-	-	-	-	N	-
86A/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	A	-	-	-	-	-	N	-
86V/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	V	-	-	-	-	-	N	-
120N/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	N	-	-	-	-	N	-
120S/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	S	-	-	-	-	N	-
155N/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	-	N	-	-	-	N	-
155S/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	-	S	-	-	-	N	-
156A/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	-	-	A	-	-	N	-
156T/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	-	-	T	-	-	N	-
189R/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	-	-	-	R	-	N	-
189K/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	-	-	-	K	-	N	-
212K/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	-	-	-	-	K	N	-
212R/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	-	-	-	-	R	N	-
212E/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	-	-	-	-	E	N	-
223N/263A/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	-	-	-	-	-	N	A
223N/263T/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	-	-	-	-	-	N	T
120N/155N/223N/328K+	cualquier HA H5	-	-	-	N	N	-	-	-	N	-
A/duck/China/E319-2/03/328k+	AAR99628	T	A	A	S	D	A	R	K	N	A
A/duck/China/E319-2/03_223N/328k+	AAR99628	T	A	A	S	D	A	R	K	N	A
A/duck/China/E319-2/03_120N/223N/328k+	AAR99628	T	A	A	N	D	A	R	K	N	A
A/duck/China/E319-2/03_155N/223N/328k+	AAR99628	T	A	A	S	N	A	R	K	N	A
A/duck/China/E319-2/03_120N/155N/223N/328k+	AAR99628	T	A	A	S	N	N	R	K	N	A
HA/HK/213/03/328K+	AY518362	T	A	A	N	N	A	R	K	N	A
HA/Vietnam/1203/04		K	T	V	S	S	T	K	R	N	T
HA/Vietnam/1203/04_223N/328k+		K	T	V	S	S	T	K	R	N	T
HA/Vietnam/3046/04_223N/328k+		T	A	V	S	S	T	K	R	N	T
HA/Vietnam/3062/04_223N/328k+		T	A	V	S	S	T	K	R	N	T
HA/chicken/Vietnam/39/04_223N/328k+		T	A	V	S	S	T	K	R	N	T
HA/halcón/HK-D0028/04_223N/328k+		T	A	A	S	S	A	K	E	N	A
HA/chicken/Singapur/3/97_223N/328k+		T	D	V	S	N	A	K	E	N	A
HA/HK/156/97/328K+		T	A	A	S	S	A	K	E	N	T

las posiciones de aminoácidos dadas en la tabla 1 se refieren a las posiciones definidas a modo de ejemplo en la secuencia SEQ ID NO:2. En otras palabras, el aminoácido 223 de la tabla 1 se refiere al aminoácido 223 de la secuencia SEQ ID NO:2.

- significa que los aminoácidos en esta posición son variables en comparación

con la secuencia de referencia.

Además, la presente invención se refiere también a las proteínas H5 (1) que tienen al menos el aminoácido 223N y la modificación 328K+, donde la numeración de las posiciones de aminoácido de la proteína H5 se refiere a la posición de aminoácido como se da a modo de ejemplo en la secuencia SEQ ID NO:2 y donde la modificación 328K+ significa que se ha insertado una segunda lisina (K+) en la posición del aminoácido 328 de la proteína H5, y comprende:

- i. un péptido que tiene las secuencias con N° de registro de NCBI AAT65209, CAJ32556, ABC47656, CAF21874, CAF21870, AAC58998, AAC58997, AAC58996, AAC58994, AAC58993, AAC58992, AAC58991, AAC58990, AAC58995, AAS45134, AAN17270, AAN17269, AAN17268, AAN17267, AAN17266, AAN17265, AAN17264, AAN17263, AAN17262, AAN17261, AAN17260, AAN17259, AAN17257, AAN17256, AAN17255, AAN17254, AAA43083, AAA43082, AAB19079, BAE48696, BAE48693, BAE48696, BAE48695, BAE48694, BAE48692, BAE48691, BAE48690, BAE48689, BAE48688, BAE48687, BAE48686, BAE48685, BAE48684, BAE48683, AAC58999, ABC72082, AAV91149, AAP71993, AAP71992, AAP71991, AAP71990, AAP71989, AAP72011, AAP72010, AAP72009, AAP72008, AAP72007, AAP72006, AAP72005, AAP72004, AAP72003, AAP72002, AAP72001, AAP72000, AAP71999, AAP71998, AAP71997, AAP71996, AAP71995, AAP71994, AAF99718, ABF58847, AAG38534, AAC32102, AAC32099, AAL75847, AAC32101, AAC32098, AAC32088, AAC32078, AAR99628, AAC32100, AAM49555, AAL75843, AAL75839, AAD13573, AAD13568, AAF04720, AAF04719, AAC34263, AAR16155, AAD13574, AAD13570, AAD13575, AAD13572, AAD13569, AAD13567, AAD13566, AAK57506, AAG01225, AAG01215, AAG01205, AAG01195, o ABD83813 modificadas de una forma descrita anteriormente, lo que significa que estas secuencias incluyen las modificaciones 223N y 328K+ mencionadas anteriormente que no son parte de las secuencias de fenotipo salvaje; o
- ii. cualquier péptido que tiene al menos una homología de secuencia de 85%, más preferentemente al menos una homología de secuencia de aproximadamente 90%, todavía más preferentemente al menos una homología de secuencia de aproximadamente 95%, incluso más preferentemente al menos una homología de secuencia de aproximadamente 97%, todavía incluso

más preferentemente al menos una homología de secuencia de aproximadamente 98% e incluso más preferentemente al menos una homología de secuencia de 99% con el polipéptido de i) y que presenta inhibición de la hemaglutinina en un ensayo convencional de inhibición de la hemaglutinina como se ha descrito anteriormente;

- iii. cualquiera de los péptidos de i) o ii) que tienen los aminoácidos 36T, 36K, 83A, 83T, 83D, 86A, 86V, 120N, 120S, 155N, 155S, 156A, 156T, 189R, 189K, 212K, 212R, 212E, 263A, 263T o 120N/155N; o
- iv. cualquiera de dichos péptidos de i), ii) o iii) que tienen uno o más de los siguientes agrupamientos de aminoácidos elegidos entre el grupo que consiste en:
 - a. aa 93-95: GNF
 - b. aa 123-125: SDH
 - c. aa 128-130: SSG
 - d. aa 138-140: GSS
 - e. aa 226- 228: MDF
 - f. aa 270-272: EVE
 - g. aa 309-311: NKL; o
- v. cualquier péptido de i), ii), iii) o iv) que tiene uno o más de los siguientes agrupamientos de aminoácidos elegidos entre el grupo que consiste en:
 - a. aa 93-95: GNF
 - b. aa 128-130: SSG
 - c. aa 138-140: GSS

Preferentemente la proteína H5 (1) para ser usada en un método de tratamiento o prevención de las infecciones con el virus H5N1 de un clado diferente es expresada de forma recombinante y/o producida mediante un sistema de expresión de baculovirus, preferentemente en cultivos de células de insectos.

El término “proteína H5 (1)” como se mencionó en la presente es de esta manera en particular equivalente al término “proteína H5 recombinante” usada en la presente.

Con respecto al virus H5N1 de clado diferente como se mencionó en la presente, dicho virus H5N1 de un clado diferente se selecciona preferentemente del grupo que consta del virus H5N1 clado 0, el virus H5N1 clado 2, el virus H5N1 clado 3, el virus H5N1 clado 4, el virus H5N1 clado 5, el virus H5N1 clado 6, el virus H5N1

clado 7, el virus H5N1 clado 8 y el virus H5N1 clado 9.

En otra forma de realización de la invención, el virus H5N1 de un clado diferente es el virus H5N1 clado 2.2 o el virus H5N1 clado 2.3.

En una forma de realización preferida particular de la invención el virus H5N1 de un clado diferente es el virus H5N1 clado 2.2.1 o el virus H5N1 2.3.2.

Con el fin de ser claros, la proteína H5 del virus H5N1 de un clado diferente se denomina de aquí en adelante “proteína H5 (2)”. Por lo tanto, la proteína H5 (2) como se mencionó en la presente es en particular una proteína H5 codificada por el genoma de un H5N1 de cualquier clado con la excepción del clado 1.

En otra forma de realización preferida, el virus H5N1 de un clado diferente es un virus H5N1 de origen norafricano o vietnamita donde dicho virus H5N1 de origen norafricano es preferentemente un virus H5N1 que comprende una proteína H5 (2) del virus de la gripe,

en el cual dicha proteína H5 (2) tiene

- (a) los aminoácidos 113D, 126H, 145(-), 156R, 160F, 167T, y 181N, en los cuales la modificación 145(-) significa que la posición 145 del aminoácido H5 desaparece o
- (b) los aminoácidos 87P, 145L, 172T, 201E, 206I, 208K, 254T, 341G y 421K, o
- (c) los aminoácidos 145L, 172T, y 254V,

y donde la numeración de las posiciones de los aminoácidos de la proteína H5 (2) se refiere a la posición del aminoácido como ejemplar en la SEQ ID NO:8; o donde dicha proteína H5 (2) consta de o comprende una secuencia de aminoácidos que es por lo menos 95%, preferentemente por lo menos 96%, más preferentemente aun por lo menos 97%, o mejor aun por lo menos 98%, y hasta por lo menos 99%, o en particular preferentemente 100% homóloga con una de las secuencias determinadas en la SEQ ID NOs: 9 a 46.

En el contexto de la invención, dicha proteína H5 (2) de acuerdo con (a) es una proteína Subclado A y dicha proteína H5 de acuerdo con (b) o (c) es una proteína de Subclado B.

Dentro del contexto de la invención, se entiende que el término “aminoácido” en particular se refiere a un resto de aminoácido o respectivamente a un aminoácido que ha estado unido en forma covalente mediante los lazos péptidos a otros dos ácidos péptidos o si el aminoácido está ubicado en el terminal N o C en la secuencia péptida a otro aminoácido más.

En otra forma de realización preferida de la invención, el virus H5N1 de un clado diferente comprende una proteína H5 (2) que contiene

- (a) los aminoácidos 87L, 113D, 126H, 145(-), 156R, 160F, 167T, y 181N, o
- (b) los aminoácidos 87P, 113N, 126R, 145L, 160Y, 172T, 181H, 201E, 206I, 208K, 254T, 341G y 421K, o
- (c) los aminoácidos 87L, 113N, 126R, 145L, 156G, 160Y, 172T, 181H, y 254V,

y/o

donde dicha proteína H5 (2) comprenda un péptido que contenga:

- i. cualquiera de las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 9 a 46;
- ii. cualquier péptido que tenga por lo menos 85%, preferentemente por lo menos 95%, aun más preferentemente por lo menos 96%, aun más preferentemente por lo menos 97%, aun más preferentemente por lo menos 98%, aun más preferentemente por lo menos 99%, más preferentemente 100% de la secuencia homóloga al polipéptido de i) y que comprenda un inhibidor de la hemaglutinina en un estudio estándar de inhibición de hemaglutinina; o
- iii. cualquier parte de los polipéptidos de i) o ii) que comprenda por lo menos 334 aminoácidos contiguos de cualquiera de dichos péptidos de i) o ii) y donde cualquiera de dichos péptidos comprenda un inhibidor de la hemaglutinina en un estudio estándar de inhibición de hemaglutinina,

y/o

donde dicha proteína H5 (2) conste de o comprenda una secuencia contigua de aminoácidos que contenga por lo menos una identidad de secuencia de 95% aun más preferentemente por lo menos 96%, aun más preferentemente por lo menos 97%, aun más preferentemente por lo menos 98%, aun más preferentemente por lo menos 99%, más preferentemente 100% con cualquiera de las secuencias determinadas en SEQ ID NOs: 9 a 46.

Más particularmente, el virus H5N1 de un clado diferente comprenda preferentemente la proteína H5 (2) que conste de o comprenda una secuencia de aminoácidos que por lo menos sea 95%, preferentemente por lo menos 96%, más preferentemente por lo menos 97%, aun más preferentemente por lo menos 98%, aun más preferentemente por lo menos 99%, o en particular preferentemente 100% homóloga con cualquiera de las secuencias establecidas en SEQ ID NOs: 15 o 20, y

donde dicha proteína H5 (2) comprenda o conste de la secuencia de aminoácidos determinados en SEQ ID NO:20 sea en particular más preferida.

En particular la presente invención está dirigida a la proteína H5 (1) descrita en la presente para ser usada como método de tratamiento o prevención de las infecciones

(A) con un virus H5N1 Subclado A H5N1 virus de origen norafricano, principalmente una infección con un virus H5N1 que comprenda una proteína H5 (2) que contenga los aminoácidos de acuerdo con (a) de la reivindicación 13 o 14 o que comprenda una proteína H5 de acuerdo con la reivindicación 16 o 17 relacionada con cualquiera de las secuencias determinadas en SEQ ID NOs: 9 a 19, o 42 o 43,

o

(B) con el virus H5N1 Subclado B de origen norafricano, principalmente una infección con un virus H5N1 que comprenda una proteína H5 que contenga los aminoácidos de acuerdo con (b) o (c) de la reivindicación 13 o 14 o que comprenda una proteína H5 de acuerdo con la reivindicación 16 o 17 relacionada con cualquiera de las secuencias determinadas en SEQ ID NOs: 20 a 41, o 44 a 46.

Según una forma de realización adicional, la presente invención también se refiere a moléculas de ácido nucleico que codifican cualquiera de las proteínas H5 (1) como se han descrito anteriormente para ser usadas como método de tratamiento o prevención de las infecciones con el virus H5N1 de un clado diferente. Preferentemente, estas moléculas de ácido nucleico son moléculas de ARN , ADN o (c)ADN. Por lo tanto, la presente invención se refiere a una molécula de ácido nucleico, preferentemente una molécula de cADN que codifica una proteína H5 o cualquier forma modificada de la proteína H5, incluyendo cualquier mutante de la proteína H5 por eliminación, sustitución y/o inserción, donde estas H5 tienen el aminoácido 223N y la modificación 328K+, donde la numeración de las posiciones de aminoácido de la proteína H5 se refiere a la posición de aminoácido como se da a modo de ejemplo en la secuencia SEQ ID NO:2 y donde la modificación 328K+ significa que se ha insertado una segunda lisina (K+) en la posición del aminoácido 328 de la proteína H5.

Según una forma de realización adicional, la presente invención se refiere también a una molécula de ácido nucleico, preferentemente una molécula de cADN

que codifica cualquier parte de la proteína H5 (1) , lo que significa que codifica cualquier fragmento peptídico que presenta propiedades antigénicas en un ensayo convencional de inhibición de la hemaglutinina como se ha descrito anteriormente, y que tiene al menos el aminoácido 223N y la modificación 328K+, donde la numeración de las posiciones de aminoácido de la proteína H5 se refiere a la posición de aminoácido como se da a modo de ejemplo en la secuencia SEQ ID NO:2 y donde la modificación 328K+ significa que se ha insertado una segunda lisina (K+) en la posición del aminoácido 328 de la proteína H5. Normalmente, dichas moléculas de ácido nucleico que codifican una parte antigénica de la proteína H5 comprenden 600, 540, 480, 450, 420, 390, 360, 330 o más preferentemente 315 nucleótidos contiguos de la secuencia de nucleótidos que codifica la proteína H5 como se ha mencionado anteriormente, modificada o no modificada, y que presenta propiedades antigénicas en un ensayo convencional de inhibición de la hemaglutinina como se describe en la presente.

Formas de realización adicionales de las partes antigénicas de la proteína H5 (1) se describen en la parte precedente. La construcción de cualquiera de dichas moléculas de ácido nucleico, preferentemente moléculas de cADN, que codifican la parte antigénica de la proteína H5 como se ha descrito anteriormente es de conocimiento general de un experto en la técnica. Esto también incluye, pero sin limitarse a ella, la construcción de moléculas de ácido nucleico, preferentemente moléculas de cADN, que codifican las partes antigénicas de la proteína H5 como se ha mencionado anteriormente, incluyendo los mutantes por eliminación de la proteína H5, que comprenden:

- i. al menos 105, 90, 75, 60, 48, 45, 39, 30, 27, o más preferentemente 24 aminonucleótidos contiguos de la secuencia de nucleótidos que rodea e incluye la secuencia codificadora que codifica el aminoácido 223N; y
- ii. al menos 105, 90, 75, 60, 48, 45, 39, 30, 27, o más preferentemente 24 aminonucleótidos contiguos de la secuencia de nucleótidos que rodea e incluye la secuencia codificadora que codifica la modificación 328K+, y
- iii. donde cualquiera de tales partes antigénicas de la proteína H5 muestra inhibición de la hemaglutinina en un ensayo convencional de inhibición de la hemaglutinina como se ha descrito en el ejemplo 2.

Preferentemente, dichos nucleótidos que rodean los nucleótidos que codifican los aminoácidos 223N y/o 328K+, codifican las secuencias SEQ ID NO:2 o SEQ ID

NO:5.

Además, las moléculas de ácido nucleico preferidas que codifican la proteína H5 (1) según la invención son:

- i. cualquiera de las mencionadas anteriormente que codifican el aminoácido 223N y la modificación 328K+;
- ii. cualquiera de las mencionadas anteriormente que codifican el aminoácido 94N/223N y la modificación 328K+;
- iii. cualquier molécula de ácido nucleico de origen aviar que codifica el aminoácido 223N y la modificación 328K+, donde el origen aviar significa que la secuencia H5 deriva de un virus aislado que fue originalmente aislado de un ave de corral infectada con un virus de gripe aviar del tipo 5; o
- iv. cualquier molécula de ácido nucleico de origen aviar que codifica los aminoácidos 94N/223N y la modificación 328K+, donde el origen aviar significa que la secuencia H5 deriva de un virus aislado que fue originalmente aislado de un ave de corral infectada con un virus de gripe aviar del tipo 5; o
- v. cualquier molécula de ácido nucleico de origen aviar que codifica los aminoácidos 155N/223N y la modificación 328K+, donde el origen aviar significa que la secuencia H5 deriva de un virus aislado que fue originalmente aislado de un ave de corral infectada con un virus de gripe aviar del tipo 5; o
- vi. cualquier molécula de ácido nucleico que codifica una proteína H5 de origen aviar que tiene los aminoácidos 120N/155N/223N y la modificación 328K+, donde el origen aviar significa que la secuencia H5 deriva de un virus aislado que fue originalmente aislado de un ave de corral infectada con un virus de gripe aviar del tipo 5; o
- vii. cualquier molécula de ácido nucleico que codifica una proteína H5 que tiene las modificaciones 94N/223N y la modificación 328K+; o
- viii. cualquier molécula de ácido nucleico que codifica una proteína H5 que tiene las modificaciones 94N/155N/223N y la modificación 328K+; o ;
- ix. cualquier molécula de ácido nucleico que codifica una proteína H5 que tiene las modificaciones 94N/120N/155N/223N y la modificación 328K+; o
- x. cualquier molécula de ácido nucleico que codifica una proteína H5 que tiene la modificación 223N, la modificación 328K+ y uno o más de los siguientes agrupamientos de aminoácidos elegidos entre el grupo que consiste en:
 - a. aa 93-95: GNF
 - b. aa 123-125: SDH

- c. aa 128-130: SSG
 - d. aa 138-140: GSS
 - e. aa 226- 228: MDF
 - f. aa 270-272: EVE
 - g. aa 309-311: NKL; o
- xi. cualquier molécula de ácido nucleico que codifica una proteína H5 que tiene el aminoácido 223N, la modificación 328K+ y uno o más de los siguientes agrupamientos de aminoácidos elegidos entre el grupo que consiste en:
- a. aa 93-95: GNF
 - b. aa 128-130: SSG
 - c. aa 138-140: GSS; o
- xii. cualquier molécula de ácido nucleico que codifica una proteína H5 que tiene la secuencia de aminoácidos de la secuencia SEQ ID NO:5.

Además, las proteínas H5 (1) preferidas como se proporcionan junto con la presente memoria incluyen las proteínas H5 como se describen en *Hoffmann et al, PNAS, vol. 106, no.36, págs. 12915-12920 del 6 de Septiembre 6, 2005*, donde las proteínas H5 incluyen una o más de las modificaciones como se han descrito anteriormente, al menos el aminoácido 223N y la modificación 328K+, donde la numeración de las posiciones de los aminoácidos de la proteína H5 se refiere a la posición de aminoácido como se da a modo de ejemplo en la secuencia SEQ ID NO:2 y en la que la modificación 328K+ significa que se inserta una segunda lisina (K+) en la posición del aminoácido 328 de la proteína H5. La descripción de esta referencia debe incluirse totalmente en la presente como referencia. Por lo tanto, según formas de realización adicionales, la presente invención también se refiere a cualquier molécula de ácido nucleico, preferentemente una molécula de cADN, que codifica cualquiera de dichas proteínas descritas por *Hoffmann et al, PNAS, vol. 106, no.36, págs. 12915-12920 del 6 de Septiembre 6, 2005*, donde las proteínas H5 incluyen una o más de las modificaciones como se han descrito anteriormente, al menos el aminoácido 223N y la modificación 328K+, donde la numeración de las posiciones de los aminoácidos de la proteína H5 se refiere a la posición de aminoácido como se da a modo de ejemplo en la secuencia SEQ ID NO:2 y en la que la modificación 328K+ significa que se ha insertado una segunda lisina (K+) en la posición del aminoácido 328 de la proteína H5.

Los métodos para introducir cualquiera de las modificaciones mencionadas

anteriormente en la secuencia de nucleótidos, incluyendo la secuencia que codifica la proteína H5 de un virus de gripe, son bien conocidos en la técnica. La secuencia genómica completa del virus de la gripe puede modificarse según la invención, por ejemplo según los métodos descritos en el documento US 6.951.754, con referencias adicionales.

Además, se pueden emplear técnicas convencionales de biología molecular, microbiología y de ADN recombinante conocidas por el experto en la técnica para modificar la secuencia de ácidos nucleicos que codifica un antígeno como se ha descrito en la presente. Dichas técnicas están completamente explicadas en la bibliografía. Véase, por ejemplo, *Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.*; *ADN Cloning: A Practical Approach, Volúmenes I y II (D. N. Glover ed. 1985)*; *Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait ed. 1984)*; *Nucleic Acid Hybridization [B. D. Hames & S. J. Higgins eds. (1985)]*; *Transcription And Translation [B. D. Hames & S. J. Higgins, eds. (1984)]*; *Animal Cell Culture [R. I. Freshney, ed. (1986)]*; *Immobilized Cells And Enzymes [IRL Press, (1986)]*; *B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984)*; *F. M. Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc. 1994).*

Según una forma de realización adicional, la presente invención también se refiere a un vector que comprende cualquiera de dichas moléculas de ácido nucleico como se han descrito anteriormente. En otras palabras, la presente invención se refiere a un vector que incluye la secuencia que codifica cualquiera de dichas proteínas H5 (1), o una de sus partes, como se han descrito anteriormente. Preferentemente, dicho vector es un vector de expresión que permite la expresión de cualquiera de dichas proteínas H5 (1) o una de sus partes como se han descrito anteriormente. Los vectores según la invención son aquellos que son adecuados para la transfección o infección de células bacterianas, de levaduras o animales, *in vitro* o *in vivo*.

Los vectores y los métodos para hacer y/o usar vectores (o recombinantes) para la expresión pueden ser los descritos, o sus análogos, en: las patentes estadounidenses N° 4.603.112, 4.769.330, 5.174.993, 5.505.941, 5.338.683, 5.494.807, 4.722.848, 5.942.235, 5.364.773, 5.762.938, 5.770.212, 5.942.235 y 382.425, las publicaciones PCT WO 94/16716, WO 96/39491 y WO 95/30018, *Paoletti, "Applications of pox virus vectors to vaccination: An update, "PNAS USA 93: 11349-11353, Octubre de 1996, Moss, "Genetically engineered poxviruses for recombinant*

gene expression, vaccination, and safety," *PNAS USA* 93: 11341-11348, Octubre de 1996, Smith et al., patente estadounidense N° 4.745.051, (baculovirus recombinante), Richardson, C. D. (Editor), *Methods in Molecular Biology* 39, "Baculovirus Expression Protocols" (1995 Humana Press Inc.), Smith et al., "Production of Human Beta Interferon in Insect Cells Infected with a Baculovirus Expression Vector", *Molecular and Cellular Biology*, Dic., 1983, Vol. 3, N° 12, p. 2156-2165; Pennock et al., "Strong and Regulated Expression of Escherichia coli B-Galactosidase in Infect Cells with a Baculovirus vector, "Molecular and Cellular Biology Mar. 1984, Vol. 4, N° 3, p. 399-406; EPA0 370 573, solicitud de patente estadounidense N° 920,197, presentada el 16 de Octubre de 1986, publicación de patente EP N° 265785, patente estadounidense N° 4.769.331 (virus del herpes recombinante), Roizman, "The function of herpes simplex virus genes: A primer for genetic engineering of novel vectors," *PNAS USA* 93:11307-11312, Octubre de 1996, Andreansky et al., "The application of genetically engineered herpes simplex viruses to the treatment of experimental brain tumors," *PNAS USA* 93: 11313-11318, Octubre de 1996, Robertson et al. "Epstein-Barr virus vectors for gene delivery to B lymphocytes", *PNAS USA* 93: 11334-11340, Octubre 1996, Frolov et al., "Alphavirus-based expression vectors: Strategies and applications," *PNAS USA* 93: 11371-11377, Octubre 1996, Kitson et al., *J. Virol.* 65,3068-3075,1991; patentes estadounidenses N° 5.591.439, 5.552.143, WO 98/00166, solicitudes de patente estadounidense permitidas N° de serie 08/675.556 y 08/675.566 ambas presentadas el 3 de Julio de 1996 (adenovirus recombinante), Grunhaus et al., 1992,"Adenovirus as cloning vectors," *Seminars in Virology* (Vol. 3) p. 237-52, 1993, Ballay et al. *EMBO Journal*, vol. 4, p. 3861-65, Graham, *Tibtech* 8,85-87, Abril de 1990, Prevec et al., *J. Gen Virol.* 70, 42434, PCT WO 91/11525, Felgner et al. (1994), *J. Biol. Chem.* 269, 2550-2561, *Science*, 259: 1745-49,1993 y McClements et al., "Immunization with ADN vaccines encoding glycoprotein D or glycoprotein B, alone or in combination, induces protective immunity in animal models of herpes simplex virus-2 disease", *PNAS USA* 93: 11414-11420, October 1996, y las patentes estadounidenses N° 5.591.639, 5.589.466 y 5.580.859, así como los documentos WO 90/11092, WO93/19183, WO94/21797, WO95/11307, WO95/20660, Tang et al., *Nature* y Furth et al. *Analytical Biochemistry*, relacionados con los vectores de expresión del ADN, entre otros. Véanse también los documentos WO 98/33510; Ju et al., *Diabetologia*, 41: 736-739,1998 (sistema de expresión lentiviral); Sanford et al., patente estadounidense N° 4.945.050; Fischbach et al. (Intracel), WO 90/01543; Robinson et al., *seminars in Immunology* vol. 9, págs. 271-283 (1997), (sistemas de vectores de ADN); Szoka et

al., patente estadounidense N° (método para insertar ADN en células vivas); McCormick *et al.*, patente estadounidense N° 5.677.178 (uso de virus citopáticos); y la patente estadounidense N° 5.928.913 (vectores para la administración de genes), así como otros documentos citados en la presente cada uno de los cuales se agrega a la presente como referencia.

En la práctica de la invención se usa ventajosamente un vector viral, por ejemplo, elegido entre los virus de herpes de cerdo, tal como el virus de la enfermedad de Aujeszky, adenovirus porcino, virus de la viruela, especialmente virus de la vaccinia, virus de la viruela aviar, virus de la viruela de los canarios y virus de la viruela porcina, así como vectores de ADN (plásmidos de ADN).

Métodos para producir las proteínas H5 (1) según la presente invención

Según otro aspecto, la presente invención proporciona métodos para producir y/o recuperar cantidades elevadas de proteína H5 recombinante: **i)** permitiendo la infección de células susceptibles cultivadas con un vector viral recombinante que contiene secuencias codificadoras de ADN de la H5, donde la proteína H5 es expresada por el vector viral recombinante, y **ii)** recuperando a continuación la proteína H5 del cultivo celular. Cantidades elevadas de proteína H5 significa, pero sin estar limitado a ello, más de aproximadamente 20 µg/mL de cultivo celular, preferentemente más de aproximadamente 25 µg/mL, incluso más preferentemente más de aproximadamente 30 µg/mL, incluso más preferentemente más de aproximadamente 40 µg/mL, incluso más preferentemente más de aproximadamente 50 µg/mL, incluso más preferentemente más de aproximadamente 60 µg/mL, incluso más preferentemente más de aproximadamente 80 µg/mL, incluso más preferentemente más de aproximadamente 100 µg/mL, incluso más preferentemente más de aproximadamente 150 µg/mL y lo más preferentemente más de aproximadamente 190 µg/mL.

Según una forma de realización preferida, la proteína H5 (1) se recupera recogiendo totalmente (es decir, intactas) las células SF+ que expresan la proteína H5.

Las células preferidas son aquellas susceptibles de infección con un vector viral recombinante apropiado que contiene un ADN de H5 y que expresa la proteína H5. Preferentemente, las células son células de insectos y, más preferentemente, incluyen las células de insectos vendidas bajo la marca registrada células de insectos Sf+ (Protein Sciences Corporation, Meriden, CT). Los cultivos de células preferidos tienen un recuento celular entre aproximadamente $0,3-2,0 \times 10^6$ células/mL, más

preferentemente de aproximadamente $0,35-1,9 \times 10^6$ células/mL, todavía más preferentemente de aproximadamente $0,4-1,8 \times 10^6$ células/mL, incluso más preferentemente de aproximadamente $0,45-1,7 \times 10^6$ células/mL, y lo más preferentemente de aproximadamente $0,5-1,5 \times 10^6$ células/mL.

Los vectores virales preferidos incluyen baculovirus, tal como BaculoGold (BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA), en particular con la condición de que las células de producción sean células de insectos. A pesar de que se prefiere el sistema de expresión de baculovirus, se entiende por los expertos en la técnica que otros sistemas de expresión funcionarán para los fines de la presente invención, principalmente la expresión de la H5 en el sobrenadante de un cultivo celular. Estos otros sistemas de expresión pueden requerir el uso de una secuencia señal con el fin de producir la expresión de la H5 en los medios.

Los medios de crecimiento apropiados también podrán ser determinados por los expertos en la técnica, siendo un medio de crecimiento preferido el medio de células de insecto exento de suero, tal como Excell 420 (JRH Biosciences, Inc., Lenexa, KS) y similares.

El vector viral recombinante que contiene las secuencias de ADN de la H5 tiene una multiplicidad de infección (conocido generalmente como MOI por sus siglas en inglés: multiplicity of infection) preferida de entre aproximadamente 0,03-1,5, más preferentemente de aproximadamente 0,05-1,3, todavía más preferentemente de aproximadamente 0,09-1,1 y lo más preferentemente de aproximadamente 0,1-1,0, cuando se utiliza para la infección de las células susceptibles. Preferentemente, los valores de MOI arriba mencionados se refieren a un mL de fluido del cultivo celular. Preferentemente, el método descrito en la presente comprende la infección de $0,35-1,9 \times 10^6$ células/mL, todavía más preferentemente de aproximadamente $0,4-1,8 \times 10^6$ células/mL, incluso más preferentemente de aproximadamente $0,45-1,7 \times 10^6$ células/mL, y lo más preferentemente de aproximadamente $0,5-1,5 \times 10^6$ células/mL, con un vector viral recombinante que contiene un ADN de la H5 y que expresa la proteína H5 con una MOI (multiplicidad de infección) de entre aproximadamente 0,03-1,5, más preferentemente de aproximadamente 0,05-1,3, todavía más preferentemente de aproximadamente 0,09-1,1 y lo más preferentemente de aproximadamente 0,1-1,0.

Las células infectadas se incuban luego a lo largo de un periodo de hasta diez días, más preferentemente de aproximadamente dos días a aproximadamente diez días, todavía más preferentemente de aproximadamente cuatro días a

aproximadamente nueve días, y lo más preferentemente de aproximadamente cinco días a aproximadamente ocho días. Las condiciones de incubación preferidas incluyen una temperatura entre aproximadamente 22-32°C, más preferentemente de aproximadamente 24-30°C, todavía más preferentemente de aproximadamente 25-29°C, incluso más preferentemente de aproximadamente 26-28°C, y lo más preferentemente de aproximadamente 27°C. Preferentemente, las células Sf+ se observan después de la inoculación en cuanto a cambios característicos inducidos por baculovirus. Una observación de este tipo puede incluir la vigilancia de las tendencias de densidad celular y la disminución en la viabilidad durante el periodo post-infección. Se encontró que el título viral máximo se observa 3-5 días después de la infección y la expresión de la proteína H5 en las células se obtiene entre los días 5 y 8 y/o cuando la viabilidad de las células desciende a menos de 10%.

Por lo tanto, un aspecto de la presente invención proporciona un método para producir y/o recuperar proteína H5 recombinante, preferentemente en las cantidades descritas anteriormente, **i)** permitiendo la infección de un cierto número de células susceptibles (véase anteriormente) en cultivo con un vector viral recombinante con una MOI como se ha definido anteriormente, **ii)** expresando la proteína H5 mediante el vector viral recombinante, y **iii)** recuperando a continuación la proteína H5 de las células obtenidas entre los días 5 y 8 después de la infección y/o cuando la viabilidad de las células desciende a menos de 10%. Preferentemente, el vector viral recombinante es un baculovirus recombinante que contiene secuencias codificadoras de ADN de la H5 y las células son células SF+. Adicionalmente, se prefiere que el cultivo se examine periódicamente en cuanto a la evidencia macroscópica y microscópica de contaminación o en cuanto a cambios atípicos en la morfología de la célula durante el periodo post-infección. Debería desecharse cualquier cultivo que presente cualquier contaminación.

Para la recuperación de la proteína H5 (1) que se utilizará en una composición inmunogénica o inmunológica, tal como una vacuna, se prefiere la inclusión de una etapa de desactivación con el fin de desactivar el vector viral.

Una "composición inmunogénica o inmunológica" se refiere a una composición de materia que comprende al menos un antígeno que induce una respuesta inmunológica en el huésped de una respuesta inmune celular y/o mediada por anticuerpos a la composición o vacuna de interés. Habitualmente, una "respuesta inmunológica" incluye, pero sin limitarse a ellos, uno o más de los siguientes efectos: la producción o activación de anticuerpos, células B, células T auxiliares, células T

supresoras y/o células T citotóxicas y/o células T gamma-delta, dirigidas específicamente a un antígeno o antígenos incluidos en la composición o vacuna de interés. Preferentemente, el huésped presentará una respuesta inmunológica terapéutica o protectora, de modo que esa resistencia a la nueva infección resultará reforzada y/o la gravedad clínica de la enfermedad quedará reducida. Una protección de este tipo se demostrará por una reducción o carencia de síntomas exhibidos normalmente por un huésped infectado, un tiempo de recuperación más rápido y/o un título vírico disminuido en el huésped infectado.

Según se usa en la presente, “vacuna” se refiere a ese término de acuerdo como se lo usa en el arte. Más particularmente, “vacuna” se refiere a un compuesto inmunogénico que, cuando se lo administra a un animal que lo necesite, trae como resultado una reducción en la incidencia de o en la gravedad de los signos clínicos de la infección de la gripe hasta incluir la prevención total de dichos signos clínicos. Preferentemente, la reducción en la incidencia o en la gravedad es de por lo menos 10%, más preferentemente por lo menos 20%, aun más preferentemente por lo menos 30%, aun más preferentemente por lo menos 40%, más preferentemente por lo menos 50%, aun más preferentemente por lo menos 60%, aun más preferentemente por lo menos 70%, más preferentemente por lo menos 80%, aun más preferentemente por lo menos 90%, aun más preferentemente por lo menos 95%, y más preferentemente 100% en comparación con un animal o grupo de animales que no recibieron los compuestos de la presente invención pero fueron expuestos a niveles infecciosos del virus de la gripe que normalmente traería como resultado la infección por gripe produciendo una muestra de signos clínicos.

Por lo tanto, la presente invención también se refiere a un método para producir y/o recuperar proteína H5 recombinante, preferentemente en las cantidades descritas anteriormente, **i)** permitiendo la infección de un cierto número de células susceptibles (véase anteriormente) en cultivo con un vector viral recombinante con una MOI como se ha definido anteriormente, **ii)** expresando la proteína H5 mediante el vector viral recombinante, **iii)** recuperando la proteína H5 expresada en las células obtenidas entre los días 5 y 8 después de la infección y/o cuando la viabilidad de las células desciende a menos de 10%, y **iv)** desactivando el vector viral recombinante.

Preferentemente, esta desactivación se hace bien justo antes o bien justo después de la etapa de filtración, siendo después de la etapa de filtración el tiempo preferido para la desactivación. Para los fines de la presente invención se puede utilizar cualquier método de desactivación convencional. Así, la desactivación se

puede efectuar mediante tratamientos químicos y/o físicos. En formas preferidas, se determina el volumen de los fluidos recolectados y la temperatura se lleva a un intervalo entre aproximadamente 32-42°C, más preferentemente entre aproximadamente 34-40°C, y lo más preferentemente entre aproximadamente 35-39°C. Métodos de desactivación preferidos incluyen la adición de etilenimina binaria (abreviada generalmente como BEI por sus iniciales en inglés: binary ethylenimine) ciclada, preferentemente en una concentración de aproximadamente 1 a aproximadamente 20mM, más preferentemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 10mM, todavía más preferentemente de aproximadamente 2 a aproximadamente 8mM, todavía más preferentemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 7mM y lo más preferentemente de aproximadamente 5mM. Por ejemplo, la desactivación incluye la adición de una disolución de hidrobromuro de 2-bromoetilenamina, preferentemente de aproximadamente 0,4M, que se ha ciclado a etilenimina binaria (BEI) 0,2M en NaOH 0,3N a los fluidos para dar una concentración final de BEI de aproximadamente 5mM. Preferentemente, los fluidos se agitan entonces continuamente durante 72-96 horas y los fluidos recolectados desactivados pueden almacenarse congelados a -40°C o menos o entre aproximadamente 1-7°C. Después de haberse completado la desactivación, se añade una disolución de tiosulfato de sodio, preferentemente con una concentración 1,0M para neutralizar cualquier BEI residual. Preferentemente, el tiosulfato de sodio se añade en una cantidad equivalente comparada con la BEI añadida antes de la desactivación. Por ejemplo, en el caso de añadir BEI hasta una concentración final de 5mM, se añade una disolución de tiosulfato de sodio 1,0M para dar una concentración mínima final de 5mM para neutralizar toda la BEI residual.

Por lo tanto, un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un método para producir y/o recuperar proteína H5 (1) recombinante, preferentemente en las cantidades descritas anteriormente, **i)** permitiendo la infección de un cierto número de células susceptibles (véase anteriormente) en cultivo con un vector viral recombinante con una MOI como se ha definido anteriormente, **ii)** expresando la proteína H5 mediante el vector viral recombinante, **iii)** recuperando la proteína H5 expresada en las células obtenidas entre los días 5 y 8 después de la infección y/o cuando la viabilidad de las células desciende a menos de 10%, y **iv)** desactivando el vector viral recombinante. Preferentemente, el vector viral recombinante es un baculovirus que contiene secuencias codificadoras de ADN de la H5 y las células son células SF+. Las etapas de desactivación preferidas son las descritas anteriormente.

Preferentemente, la desactivación se efectúa entre aproximadamente 35-39°C y en presencia de BEI 2 a 8mM, todavía más preferentemente en presencia de BEI de aproximadamente 5mM.

Según un aspecto adicional de la presente invención, el método descrito anteriormente incluye también una etapa de neutralización después de la etapa **iv)**. Esta etapa **v)** comprende añadir una cantidad equivalente de un agente que neutraliza el agente de desactivación en la disolución. Preferentemente, si el agente de desactivación es la BEI, se prefiere la adición de tiosulfato de sodio en una cantidad equivalente. Por lo tanto, según un aspecto adicional, la etapa **v)** comprende añadir una disolución de tiosulfato de sodio hasta una concentración final de aproximadamente 1 hasta aproximadamente 20mM, preferentemente de aproximadamente 2 hasta aproximadamente 10mM, todavía más preferentemente de aproximadamente 2 hasta aproximadamente 8mM, todavía más preferentemente de aproximadamente 3 hasta aproximadamente 7mM y lo más preferentemente de aproximadamente 5mM, cuando el agente de desactivación es la BEI.

En formas preferidas y, especialmente, en formas que utilizarán la proteína H5 recombinante en una composición inmunogénica, tal como una vacuna, en cada lote de proteína H5 recolectada se analizará la desactivación mediante el paso en células de insecto dependientes del anclaje susceptibles al baculovirus, tales como las células Sf9. En una forma preferida de este ensayo, se inoculan 150 cm² de monocapa de cultivo celular apropiado con 1,0 mL de fluidos de H5 desactivados y se mantienen a 25-29°C durante 14 días con al menos dos pasadas. Al final del periodo de mantenimiento, se determina en las monocapas celulares el efecto citopatogénico (abreviado generalmente como CPE por sus iniciales en inglés: cytopathogenic effect) típico de baculovirus de H5. Preferentemente, también se utilizan controles de virus positivos. Este tipo de controles pueden consistir en un cultivo de células Sf9 inoculadas con un baculovirus de H5 de referencia no desactivado y un matraz de células Sf9 que permanecen sin inocular. Después de la inoculación y de la pasada, la ausencia de células infectadas con virus en los fluidos virales tratados con BEI constituiría un ensayo de desactivación satisfactorio. Las células de control inoculadas con el virus de referencia deberían presentar un CPE típico de baculovirus de H5 y el matraz no inoculado no debería mostrar evidencia alguna de CPE de baculovirus de H5. Alternativamente, al final del periodo de mantenimiento, las muestras de sobrenadante se podrían recoger e inocular en una placa de 96 pocillos con Sf9, que haya sido cargada con células Sf9, y luego se podrían mantener a 25-29°C durante 5-

6 días. La placa se fija entonces y se tina con anticuerpo anti-H5 conjugado con FITC o cualquier anticuerpo marcado dirigido a las proteínas específicas de baculovirus (p. ej. gp64). La ausencia de CPE, expresión de la H5 o expresión de las proteínas específicas de baculovirus (p. ej. gp64) en los fluidos virales tratados con BEI constituye un ensayo de desactivación satisfactorio. Las células de control inoculadas con el virus de referencia debería presentar un CPE y actividad IFA y el matraz no inoculado no debería mostrar evidencia alguna de CPE de baculovirus de H5 ni contener actividad IFA.

Por lo tanto, un aspecto adicional descrito en la presente se refiere a un ensayo de desactivación para determinar la eficacia de la desactivación del vector viral de recombinación que expresa la proteína H5 (1), que comprende las etapas: **i)** poner en contacto al menos una parte del fluido del cultivo que contiene el vector viral recombinante con un agente desactivante, preferentemente como se ha descrito anteriormente, **ii)** añadir un agente de neutralización para neutralizar el agente de desactivación, preferentemente según se ha descrito anteriormente, y **iii)** determinar la infectividad residual mediante los ensayos como se han descrito anteriormente.

Después de la desactivación, la cantidad relativa de proteína H5 recombinante en una muestra se puede determinar por varias vías. Los métodos preferidos de cuantificación incluyen densitometría por SDS-PAGE, ELISA y estudios de vacunación de animales que se correlacionan con cantidades conocidas de vacuna con resultados clínicos (serología, etc.). Cuando se usa SDS-PAGE para la cuantificación, el material de la muestra que contiene una cantidad desconocida de proteína H5 recombinante se deposita sobre un gel junto con muestras que contienen cantidades conocidas diferentes de proteína H5 recombinante. Entonces se puede producir una curva convencional basada en las muestras conocidas y se puede determinar la cantidad de H5 recombinante de la muestra desconocida por comparación con esta curva convencional. Como los análisis por ELISA se reconocen generalmente como el patrón industrial para la cuantificación de antígenos, se prefieren para la cuantificación.

Vacunas que comprenden proteínas H5 (1) o moléculas de ácido nucleico o vectores que las codifican

La invención proporciona además una combinación de

(a) la proteína H5 (1) descrita en la presente

y

(b) un virus inactivo de la enfermedad de Newcastle

para ser usado en un método de tratamiento o prevención de infecciones con el virus H5N1 de un clado diferente, en particular para ser usado en cualquier método de tratamiento y prevención de infecciones con el virus H5N1 de un clado diferente como se describe en la presente.

Dicha combinación también se denomina a continuación como “la combinación descrita en la presente”.

De acuerdo con la invención, se entiende que la combinación descrita en la presente se incluye preferentemente es una vacuna combinada multivalente o la combinación descrita en la presente es en particular dirigida a una vacunación combinada, más en particular con una administración de la proteína H5 (1) descrita en la presente y del virus inactivo de la enfermedad de Newcastle dentro de un máximo de 24 horas a un animal en particular un ave de corral o un ser humano necesitado de la misma.

Preferentemente el virus inactivo de la enfermedad de Newcastle es un virión completo del virus inactivo de la enfermedad de Newcastle.

En otra forma de realización preferida, el virus inactivo de la enfermedad de Newcastle es un virus inactivo de la enfermedad de Newcastle obtenido mediante una inactivación del virus de la enfermedad de Newcastle que comprenda un polinucleótido ARN que tenga por lo menos 70%, preferentemente por lo menos 80%, más preferentemente por lo menos 90%, aun más preferentemente por lo menos 95% o en particular 100% de identidad de secuencia con una copia ARN del polinucleótido determinado en la SEQ ID NO: 51 (secuencia cADN de la cepa del virus LaSota) que ha sido inactivado.

En particular, el virus inactivo de la enfermedad de Newcastle es una cepa de virus LaSota inactiva de la enfermedad de Newcastle.

En una forma de realización preferida, el Virus inactivo de la Enfermedad de Newcastle es un Virus de la enfermedad de Newcastle que ha sido inactivado mediante un reactivo seleccionado del grupo que consta de Formaldehído, etilenimina binaria (BEI), Beta-Propiolactona (BPL) y sus combinaciones.

La cantidad del virus inactivo de la enfermedad de Newcastle en la combinación descrita en la presente es preferentemente entre los equivalentes de 10^2 y 10^{10} de dosis infecciosas de huevos (EID50), preferentemente entre 10^6 y 10^9 EID50, en particular preferentemente entre 10^7 y 10^9 EID50. La cantidad de la proteína H5 (1) en la combinación descrita en la presente es preferentemente la misma que la

mencionada a continuación.

La cantidad de la proteína H5 (1) de acuerdo con la invención está preferentemente entre 10 y 1000 unidades de Hemaglutinación (HAU) por dosis, más preferentemente entre 50 y 950 HAU por dosis, aun más preferentemente entre 100 y 900 HAU por dosis, aun más preferentemente entre 200 y 800 HAU por dosis, aun más preferentemente entre 300 y 700 HAU por dosis, aun más preferentemente entre 300 y 500 HAU por dosis.

Según un aspecto adicional, la presente invención se refiere a vacunas o composiciones farmacéuticas en general, que comprenden:

- i. una o más de las proteínas H5 (1) como se han descrito en la presente o la combinación descrita en la presente;
- ii. una o más de las moléculas de ácido nucleico como se han descrito en la presente, que codifican cualquiera de tales proteínas H5 (1); y/o
- iii. una o más de los vectores como se han descrito en la presente, incluyendo cualquiera de dichas moléculas de ácido nucleico y que codifican cualquiera de tales proteínas H5 (1) como se han descrito en la presente; y
- iv. un vehículo y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.

El término "composición farmacéutica" o "composición farmacéutica/vacuna" como se ha descrito en la presente incluye, pero sin limitarse a ellas, vacunas para la reducción o prevención de una infección o una composición de materia para el tratamiento y la disminución de una infección.

La preparación de vacunas basadas en ácidos nucleicos, preferentemente vacunas de cADN, que codifican la hemaglutinina de gripe se describen por ejemplo en *Deck et al, Vaccine 1997; 15 (1): 71-78; Ulmer et al., Science 1993; 259: 1745-1749; Ulmer et al., Vaccine 1994; 12 (16):1541-1544*. Cualquiera de estos métodos se pueden usar para la producción de vacunas basadas en ácidos nucleicos, preferentemente vacunas de cADN, que codifican la proteína H5 de la gripe como se ha descrito en la presente.

Además, una vacuna que comprende una proteína H5 (1) o sus partes, como se han descrito en la presente, se puede producir mediante enfoques convencionales, p. ej. mediante técnicas de expresión recombinante o mediante técnicas de purificación bioquímica y separación. Las técnicas de expresión recombinante, incluyendo la expresión en células de insectos son bien conocidas en la técnica y se describen por ejemplo en *Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual*,

Second Edition (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; DNA Cloning: A Practical Approach, Volumes I and II (D. N. Glover ed. 1985); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait ed. 1984); Nucleic Acid Hybridization [B. D. Hames & S. J. Higgins eds. (1985)]; Transcription And Translation [B. D. Hames & S. J. Higgins, eds. (1984)]; Animal Cell Culture [R. I. Freshney, ed. (1986)]; Immobilized Cells And Enzymes [IRL Press, (1986)]; B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); F. M. Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc. 1994). Ejemplos adicionales de sistemas de expresión recombinante bien establecidos son los sistemas de expresión bacteriana, tal como *E. coli* o *B. subtilis*, sistemas de expresión basados en levaduras, tales como *S. cerevisiae* o *S. pombe*, o sistemas de expresión de células de mamíferos, tales como los sistemas de expresión basados en BHK, CHO y/o NS0. Dichos sistemas son bien conocidos en la técnica y están disponibles generalmente, por ejemplo comercialmente en Clontech Laboratories, Inc. 4030 Fabian Way, Palo Alto, California 94303-4607, Estados Unidos. Estrategias de expresión adicionales se describen por ejemplo en *Lüschow et al., Vaccine no. 19 (2001), págs. 4249-4259*, o *Veit et al., PNAS vol. 103 (2006), págs. 8197-8202*. Además, sistemas víricos asociados al adeno recombinante están bien establecidos y se describen por ejemplo en los documentos US 5.436.146 o WO200203872 con referencias adicionales. Además, sistemas de expresión basados en virus de vaccinia (viruela), por ejemplo como se describen en el documento US 6.265.183 con referencias adicionales, también están bien establecidos y son adecuados para producir antígeno(s) recombinante(s), composición(ones) antigénica(s) como se usan según la presente invención. Sistemas de expresión adecuados adicionales utilizan virus de popova recombinantes, tales como SV40, virus de viruela de las aves de corral, virus de la pseudorrabia y retrovirus.

Las composiciones farmacéuticas/vacunas apropiadas como se han descrito en la presente también pueden comprender virus desactivados que comprenden una proteína H5 (1) como se ha descrito en la presente, una versión apatogénica de un virus vivo que comprende una proteína H5 (1) como se ha descrito en la presente, una preparación y/o fragmentos de un virus, en donde dicha preparación y/o fragmento comprende la proteína H5 (1) como se ha descrito en la presente.

El experto conoce componentes adicionales que pueden estar comprendidos en dichas composiciones/vacunas junto con el antígeno (véase, por ejemplo, *Remington's Pharmaceutical Sciences. (1990). 18ª ed. Mack Publ., Easton*). El experto puede utilizar disoluciones estériles inyectables, fisiológicamente aceptables,

conocidas. Para preparar una disolución lista para el uso hay disoluciones isotónicas acuosas fácilmente disponibles, tales como, p. ej., disolución salina o disoluciones correspondientes de proteínas en plasma. La composición farmacéutica/vacuna puede estar presente en forma de liofilizados o preparaciones secas, las cuales se pueden reconstituir con una disolución inyectable conocida directamente antes del uso en condiciones estériles, p. ej. en forma de un kit en partes.

Además, las composiciones farmacéuticas/vacunas de la presente invención pueden incluir uno o más vehículos aceptables desde el punto de vista veterinario. Tal como se emplea en la presente, "un vehículo aceptable desde el punto de vista veterinario" incluye, pero sin limitarse a ellos, uno y cualquiera entre disolventes, medios dispersantes, recubrimientos, adyuvantes, agentes estabilizadores, diluyentes, conservantes, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos, agentes que retrasan la adsorción y similares.

Los diluyentes pueden incluir agua, disolución salina, dextrosa, etanol, glicerol y similares. Los agentes isotónicos pueden incluir cloruro de sodio, dextrosa, manitol, sorbitol y lactosa, entre otros. Los estabilizantes incluyen albúmina y sales alcalinas de ácido etilendiaminotetracético, entre otros.

Un conservante, tal como se utiliza en la presente, se refiere a un agente activo anti-microbiológicamente tal como, por ejemplo, gentamicina, mertiolato y similares. En particular, la adición de un conservante es lo más preferido para la preparación de una composición en multi-dosis. Esos agentes activos anti-microbiológicamente se añaden en concentraciones eficaces para prevenir cualquier contaminación microbiológica de la composición de interés o para la inhibición de cualquier crecimiento microbiológico en la composición de interés.

"Adyuvantes", tal como se utilizan en la presente, pueden incluir hidróxido de aluminio y fosfato de aluminio, saponinas, p. ej. Quil A, QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA), GPI-0100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, AL), emulsión de agua en aceite, emulsión de aceite en agua o emulsión de agua en aceite en agua.

La emulsión se puede basar, en particular, en aceite de parafina líquido ligero (tipo de la Farmacopea Europea); aceite isoprenoide, tales como escalano o escaleno; aceite resultante de la oligomerización de alquenos, en particular de isobuteno o deceno; ésteres de ácidos o de alcoholes que contienen un grupo alquilo lineal, más particularmente aceites vegetales, oleato de etilo, di-(caprilato/caprato) de propilenglicol, tri-(caprilato/caprato) de glicerilo o dioleato de propilenglicol; ésteres de

ácidos grasos o alcoholes ramificados, en particular ésteres de ácido isosteárico. El aceite se utiliza en combinación con emulsionantes para formar la emulsión. Los emulsionantes son preferentemente tensioactivos no iónicos, en particular ésteres de sorbitan, de manida (p. ej. oleato de anhidromanitol), de glicol, de poliglicerol, de propilenglicol y de ácido oleico, isosteárico, ricinoleico o hidroxiesteárico, que están opcionalmente etoxilados, y copolímeros de bloques de polioxipropileno-polioxietileno, en particular los productos Pluronic, en especial L121. Véase *Hunter et al., The Theory and Practical Application of Adjuvants* (Ed. Stewart-Tull, D. E. S.). JohnWiley and Sons, NY, págs. 51-94 (1995) y *Todd et al., Vaccine 15: 564-570* (1997). Ejemplos de emulsiones de aceite-en-agua son adyuvantes basados en Emulsigen, tales como EMULSIGEN®, EMULSIGEN-D®, EMULSIGEN-P®, EMULSIGEN-75® (MVP Laboratories, Inc. Omaha, NE, Estados Unidos). Sorprendentemente, se ha encontrado que composiciones farmacéuticas/vacunas que comprenden una proteína H5, preferentemente una proteína H5 recombinante como se ha descrito en la presente, se han preparado de forma eficaz con emulsiones de aceite-en-agua como adyuvantes, preferentemente con tales adyuvantes basadas en Emulsigen, más preferentemente con EMULSIGEN® y EMULSIGEN-D®.

Además, es posible utilizar la emulsión SPT descrita en la página 147 de "*Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach*" editada por M. Powell y M. Newman, Plenum Press, 1995, y la emulsión MF59 descrita en la página 183 de este mismo libro.

Un ejemplo adicional de adyuvante es un compuesto elegido entre los polímeros de ácido acrílico o metacrílico y los copolímeros de anhídrido maleico y derivado de alqueno. Compuestos adyuvantes ventajosos son los polímeros de ácido acrílico o metacrílico que están reticulados, especialmente con polialqueno-éteres de azúcares o polialcoholes. Estos compuestos se conocen por el término carbómero (*Phameuropa Vol. 8, n° 2, junio de 1996*). Los expertos en la técnica también pueden referirse a la patente de EE.UU. n° 2.909.462 que describe polímeros acrílicos de este tipo reticulados con un compuesto polihidroxilado que tiene al menos 3 grupos hidroxilo, preferentemente no más de 8, estando los átomos de hidrógeno de al menos tres hidroxilos sustituidos con radicales alifáticos insaturados que tienen al menos 2 átomos de carbono. Los radicales preferidos son los que contienen de 2 a 4 átomos de carbono, p. ej. vinilos, alilos y otros grupos etilénicamente insaturados. Los radicales insaturados pueden contener por sí mismos otros sustituyentes tal como metilo. Los productos vendidos bajo el nombre Carbopol; (BF Goodrich, Ohio, EE.UU.) son

particularmente apropiados. Están reticulados con una alil-sacarosa o con alil-pentaeritritol. Entre ellos, se pueden mencionar Carbopol 974P, 934P y 971P. Lo más preferido es el uso de Carbopol 971P. Entre los copolímeros de anhídrido maleico y derivado de alqueno, los copolímeros EMA (Monsanto) que son copolímeros de anhídrido maleico y etileno. La disolución de estos polímeros en agua produce una disolución ácida que será neutralizada, preferentemente hasta un pH fisiológico, con el fin de obtener la disolución adyuvante en la que se incorporará la propia composición inmunogénica, inmunológica o de vacuna.

Adyuvantes adecuados adicionales incluyen, pero sin estar limitados a ellos, el sistema adyuvante RIBI (Ribi Inc.), co-polímero de bloques (CytRx, Atlanta GA), SAF-M (Chiron, Emeryville CA), monofosforil-lípido A, adyuvante de lípido-amina Avridina, enterotoxina térmicamente lábil procedente de *E. coli* (recombinante o de otro modo), toxina del cólera o dipéptido muramilo, entre muchos otros.

Preferentemente, el adyuvante se añade en una cantidad de aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 10 mg por dosis. Incluso más preferentemente, el adyuvante se añade en una cantidad de aproximadamente 100 µg hasta aproximadamente 10 mg por dosis. Incluso más preferentemente, el adyuvante se añade en una cantidad de aproximadamente 500 µg hasta aproximadamente 5 mg por dosis. Incluso más preferentemente, el adyuvante se añade en una cantidad de aproximadamente 750 µg hasta aproximadamente 2,5 mg por dosis. Lo más preferido, el adyuvante se añade en una cantidad de aproximadamente 1 mg por dosis.

Las composiciones farmacéuticas/vacunas pueden además incluir uno varios otros agentes inmunomoduladores, tales como p. ej., interleucinas, interferones u otras citocinas. Las composiciones farmacéuticas/vacunas también pueden incluir gentamicina y mertiolato. Si bien las cantidades y concentraciones de los adyuvantes y aditivos útiles en el contexto de la presente invención pueden ser determinadas fácilmente por el experto en la técnica, la presente invención contempla composiciones que comprenden de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 2.000 µg de adyuvante y preferentemente aproximadamente 250 µg/1 mL de dosis de la composición de vacuna. En otra forma de realización preferida, la presente invención contempla composiciones de vacuna que comprenden entre aproximadamente 1 µg/mL y aproximadamente 60 µg/mL de antibióticos, y más preferentemente menos de aproximadamente 30 µg/mL de antibióticos.

Por lo tanto, según una forma de realización adicional, la presente invención también se refiere a una composición farmacéutica/vacuna que comprende:

- i. una cantidad terapéuticamente eficaz de una cualquiera de las proteínas H5 del virus de la gripe como se han descrito en la presente, en la que la proteína H5 tiene el aminoácido 223N y la modificación 328K+, en donde la numeración de las posiciones de aminoácido de la proteína H5 se refiere a la posición de aminoácido como se da a modo de ejemplo en la secuencia SEQ ID NO:2 y en donde la modificación 328K+ significa que se ha insertado una segunda lisina (K+) en la posición del aminoácido 328 de la proteína H5; y
- ii. adyuvantes farmacéuticamente aceptables como se han descrito anteriormente.

Preferentemente, el adyuvante se elige entre el grupo que consiste en:

- a) EMULSIGEN®, una emulsión de aceite-en-agua (abreviado generalmente como o/w por sus iniciales en inglés: oil-in-water);
- b) EMULSIGEN-D®, una emulsión de aceite-en-agua (o/w) con bromuro de dimetildioctadecilamonio (DDA);
- c) un Poligen, un copolímero;
- d) EMULSIGEN-P®, una emulsión de aceite-en-agua (o/w) con un inmunoestimulante patentado
- e) Carbigen es un polímero reticulado
- f) EMULSIGEN-75®, un adyuvante doble que comprende una emulsión de aceite-en-agua (o/w) con un polímero reticulado
- g) ISA 70, una emulsión de agua-en-aceite (w/o)

Más preferentemente, el adyuvante es una emulsión de aceite-en-agua tal como un adyuvante basado en un emulsigen elegido entre el grupo que consiste en EMULSIGEN®, EMULSIGEN-D®, EMULSIGEN-P®, EMULSIGEN-75®, EMULSIGEN® y EMULSIGEN-P®. Más preferentemente, se usan EMULSIGEN® y EMULSIGEN-P® en la formulación de la presente invención.

Según un aspecto adicional, las composiciones farmacéuticas/vacunas como se proporcionan junto con la presente comprenden uno o más antígenos. Preferentemente, ese antígeno adicional es un antígeno de un patógeno de ave de corral o mamífero. Según formas de realización adicionales, este antígeno adicional es un antígeno de gripe adicional, tal como hemaglutinina H5, H7, H9 o cualquier otra hemaglutinina del virus de la gripe, en donde la H5 se prefiere a la proteína H5 de un virus H5N1 de un clado diferente al clado 1, en particular de un virus H5N1 de origen

norafricano, tal como la proteína H5 (2) descrita en la presente. El (los) antígeno(s) adicional(es) se puede(n) añadir en una forma purificada, como parte de una preparación antigénica, en forma de un microorganismo muerto o en forma de un microorganismo vivo modificado.

El término "antígeno", como se usa en la presente, significa, pero sin limitarse a ellos, péptidos, polipéptidos, glicopéptidos o polisacáridos que son capaces de interactuar específicamente con una molécula de reconocimiento de un antígeno del sistema inmune, tal como una inmunoglobulina (anticuerpo) o receptor antigénico de células T con el fin de inducir, activar o estimular una respuesta autoinmune dirigida a dicho antígeno en un huésped al que se le administra dicho antígeno. El término "antígeno" también se refiere a moléculas de ácido nucleico, preferentemente moléculas de ADN o ARN, cada una de las cuales codifica y expresa un péptido, polipéptido o glicopéptido que es capaz de interactuar específicamente con una molécula de reconocimiento de un antígeno del sistema inmune, tal como una inmunoglobulina (anticuerpo) o receptor antigénico de células T con el fin de inducir, activar o estimular una respuesta inmune frente al antígeno que es codificado por la molécula de ácido nucleico. El antígeno usado para la preparación de la composición farmacéutica que se usa según la invención es un microorganismo o una parte y/o preparación antigénica de dicho microorganismo. En este sentido, el término "inmunización", como se usa en la presente, significa, pero sin estar limitado a ellas, cualquier causa o aumento de una respuesta inmune. El término "respuesta inmune" ya ha sido descrito anteriormente.

Las estrategias de administración de vacunas de la gripe son bien conocidas en la técnica. Se contemplan estrategias de vacunación por vía mucosa para vacunas con virus desactivados y atenuados. Aunque la mucosa puede ser objetivo para la administración local de una vacuna, se han empleado varias estrategias para la administración de proteínas inmunogénicas en la mucosa.

En una forma de realización específica, la vacuna puede administrarse mezclada o como conjugado o proteína de fusión quimérica con toxina del cólera, tal como toxina B del cólera o toxina quimérica A/B del cólera (*Hajishengallis*, *J Immunol.*, 154: 4322-32, 1995; *Jobling y Holmes*, *Infect Immun.*, 60: 4915-24, 1992). Se han descrito vacunas por vía mucosa basadas en el uso de la subunidad B de la toxina del cólera (*Lebens y Holmgren*, *Dev Biol Stand* 82: 215-27, 1994). En otra forma de realización, se puede preparar una mezcla con una enterotoxina (LT) térmicamente inestable para la vacunación por vía mucosa.

Otras estrategias de inmunización por vía mucosa incluyen encapsular el virus en microcápsulas (véanse los documentos US 5.075.109, US 5.820.883 y US 5.853.763) y usar un vehículo membranoso inmunopotenciador (véase el documento WO 98/0558). La inmunogenicidad de los inmunógenos administrados oralmente puede ser mejorada usando glóbulos rojos sanguíneos (abreviado generalmente como rbc por sus iniciales en inglés: red blood cells) o rbc fantasma (véase el documento US 5.643.577) o usando antígeno de la enfermedad de la lengua azul (véase el documento US 5.690.938).

Según otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para preparar una composición farmacéutica/vacuna como se ha descrito anteriormente, preferentemente un método para producir una vacuna que comprende una proteína H5 recombinante expresada en baculovirus, como se ha descrito anteriormente. Generalmente, este método incluye las etapas de transfectar un constructo en un virus, en donde el constructo comprende **i)** cADN de H5 recombinante como se ha descrito en la presente, **ii)** infectar células en medios de crecimiento con el virus transfectado, **iii)** hacer que el virus exprese la proteína H5 recombinante como se ha descrito en la presente, **iv)** recuperar la proteína H5 expresada a partir del cultivo, y **v)** preparar la composición por combinación de la proteína H5 expresada con un adyuvante adecuado y/u otro vehículo farmacéuticamente aceptable.

Adyuvantes preferidos son los descritos anteriormente. Por lo tanto, según un aspecto adicional, el método para preparar una composición antigénica tal como, por ejemplo, una vacuna, para producir una respuesta inmune frente las infecciones de gripe comprende **i)** preparar y recuperar una proteína H5, y **ii)** mezclar esto con un adyuvante adecuado.

Además, las composiciones para vacuna de la presente invención también pueden incluir diluyentes, agentes isotónicos, estabilizantes y/o conservantes. Los diluyentes pueden incluir agua, disolución salina, dextrosa, etanol, glicerol y similares. Los agentes isotónicos pueden incluir sales inorgánicas u orgánicas, p. ej. cloruro de sodio, dextrosa, manitol, sorbitol y lactosa, sacáridos, trahalosa, manitol y sacarosa, entre otros. Los estabilizantes incluyen albúmina y sales alcalinas de ácido etilendiamintetracético, entre otros. Adyuvantes adecuados son los descritos anteriormente.

Uso medicinal de cualquiera de dichas proteínas H5 (1), moléculas de ácido nucleico, vectores y vacunas y las combinaciones descritas en la presente

Las proteínas H5 (1) como se proporcionan junto con la presente memoria, las moléculas de ácido nucleico que codifican cualquiera de dichas proteínas H5 (1), los vectores que comprenden cualquiera de dichas moléculas de ácido nucleico que codifican cualquiera de dichas proteínas H5 (1), como se han descrito en la presente, y cualquier composición farmacéutica/vacuna que comprende cualquiera de dichas proteínas H5 (1), moléculas de ácido nucleico o vectores o la combinación descrita en la presente se pueden usar como medicina, preferentemente para el tratamiento y la profilaxis de infecciones producidas por el virus de la gripe, más preferentemente por el virus de la gripe A. Las proteínas H5 (1) como se proporcionan junto con la presente memoria, las moléculas de ácido nucleico que codifican cualquiera de dichas proteínas H5, los vectores que comprenden cualquiera de dichas moléculas de ácido nucleico que codifican cualquiera de dichas proteínas H5 (1), como se han descrito en la presente, y cualquier composición farmacéutica/vacuna que comprende cualquiera de dichas proteínas H5 (1), moléculas de ácido nucleico o vectores como se describe en la presente o la combinación descrita en la presente se pueden usar para el tratamiento o la profilaxis de seres humanos, así como en medicina veterinaria. Cuando se usan en medicina veterinaria, se prefiere el tratamiento de aves de corral, preferentemente pájaros, pollos, patos, pavos y similares, así como de mamíferos, preferentemente cerdos, ganado vacuno, caballos, focas, camellos, perros, gatos, hámster, ratones y similares.

En lo que respecta a la presente invención, la “profilaxis” se refiere a la reducción en la incidencia de o en la gravedad de los signos clínicos de la infección por gripe hasta y con inclusión de la prevención completa de dichos signos clínicos. Preferentemente, la reducción en la incidencia o gravedad es de por lo menos 10%, más preferentemente por lo menos 20%, más preferentemente aún por lo menos 30%, aun más preferentemente por lo menos 40%, más preferentemente por lo menos 50%, aun más preferentemente por lo menos 60%, aun más preferentemente por lo menos 70%, más preferentemente por lo menos 80%, aun más preferentemente por lo menos 90%, aun más preferentemente 95% y lo mejor, 100% en comparación con un animal o un grupo de animales que no recibió las composiciones de la presente invención pero que fueron expuestos a niveles infecciosos del virus de la gripe que normalmente traería como resultado una infección por gripe que mostrara signos clínicos.

Por lo tanto, según otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de las proteínas H5 (1) como se proporcionan junto con la presente, las moléculas de ácido nucleico que codifican cualquiera de dichas proteínas H5 (1), los vectores que

comprenden cualquiera de dichas moléculas de ácido nucleico que codifican cualquiera de dichas proteínas H5 (1), como se han descrito en la presente y cualquier composición farmacéutica/vacuna que comprende cualquiera de dichas proteínas H5 (1), moléculas de ácido nucleico o vectores, como se han descrito en la presente o la combinación descrita en la presente, se pueden usar como medicina, preferentemente para seres humanos y/o como medicina veterinaria, preferentemente para las aves de corral, en particular los pollos.

Además, las proteínas H5 (1) como se proporcionan junto con la presente, las moléculas de ácido nucleico que codifican cualquiera de dichas proteínas H5 (1), los vectores que comprenden cualquiera de dichas moléculas de ácido nucleico que codifican cualquiera de dichas proteínas H5 (1), como se han descrito en la presente o la combinación descrita en la presente, se pueden usar en la preparación de una composición farmacéutica, como se ha descrito en la presente, preferentemente con una sola vacuna o en dosis de vacunas para la profilaxis o el tratamiento de infecciones causadas por el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1 es preferentemente el virus H5N1 de un clado diferente como se describe en la presente. Como se ha mencionado anteriormente, estas composiciones farmacéuticas/vacunas se pueden usar para el tratamiento y/o la profilaxis de seres humanos así como para el tratamiento y/o la profilaxis de animales, tales como aves de corral, preferentemente pájaros, pollos, patos, pavos y similares, así como de mamíferos, preferentemente cerdos, ganado vacuno, caballos, focas, camellos, perros, gatos, hámster, ratones y similares.

Según un aspecto adicional, la presente invención también se refiere a un método para el tratamiento o la profilaxis de infecciones del virus de la gripe, causadas por el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto al clado 1 es preferentemente el virus H5N1 de un clado diferente como se describe en la presente, en donde el método que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de la proteína H5 (1) según se describe en la presente o en la combinación como se ha descrito en la presente, a un sujeto que necesita dicho tratamiento. Además, la presente invención también se refiere a un método para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones del virus de la gripe causadas por el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1 es preferentemente el virus H5N1 de un clado diferente como se describe en la presente, en donde el método que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquier molécula de

ácido nucleico o vector H5, como se han descrito en la presente, que codifica cualquier proteína H5 (1), como se ha descrito en la presente, a un sujeto que necesita dicho tratamiento. Además, la presente invención también se refiere a un método para el tratamiento o la profilaxis de infecciones del virus de la gripe causadas por el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1 es preferentemente el virus H5N1 de un clado diferente como se describe en la presente, en donde el método que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de la vacuna que comprende cualquier proteína H5 (1), molécula de ácido nucleico o vector, como se han descrito en la presente, a un sujeto que necesita dicho tratamiento. El que lo necesita puede ser un ser humano así como un animal, preferentemente ave de corral, incluso más preferentemente un pájaro, pollo, pato, pavo, o un mamífero, preferentemente cerdo, ganado vacuno, caballo, foca, camello, perro, gato, hámster, ratón y similares.

Preferentemente, la administración como se describe en la presente, es una sola administración o en una dosis.

Preferentemente, cuando se vacunan pollos, la proteína H5, como se ha descrito en la presente, se puede usar para la vacunación con 1 día de edad o más, p. ej. en el décimo día, o entre el día 1 y el 10, o en el décimo día o más.

Preferentemente, la infección de la gripe que se puede tratar mediante la administración de cualquier proteína H5 (1), la molécula de ácido nucleico o vector que codifica cualquiera de dichas proteínas H5, o cualquier composición farmacéutica/vacuna, como se han descrito en la presente, está causada por el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1 es preferentemente el virus H5N1 de un clado diferente como se describe en la presente y según sea el caso, también en combinación con otro virus de la gripe aviar, porcina o humana o cualquiera de sus combinaciones o híbridos.

Otra ventaja adicional de la presente invención es que favorece a un concepto “DIVA” (Diferenciación de los Animales Infectados y Vacunados según su sigla en inglés) con Kits Elisa específicos para diferenciación entre seres humanos o animales vacunados y seres humanos o animales infectados con virus H5N1.

Según otro aspecto, la presente invención se refiere a un kit en partes que comprende i) cualquiera de dichas proteínas H5 (1), como se han descrito en la presente, la molécula de ácido nucleico o vector que codifica cualquiera de dichas proteínas H5, o cualquier composición farmacéutica/vacuna que comprende cualquiera de dichas proteínas H5, moléculas de ácido nucleico o vectores como se han descrito

en la presente, y **ii)** un prospecto del envase que indica el uso de dicha proteína H5, molécula de ácido nucleico, vector o vacuna para el tratamiento o la profilaxis de infecciones causadas por el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1 es preferentemente el virus H5N1 de un clado diferente como se describe en la presente. Cuando se vacunan pollos, la proteína H5 (1) como se ha descrito en la presente se puede usar para la vacunación con 1 día de edad o más.

Se entiende entonces que el kit de partes mencionado en la presente es para ser usado o es usado respectivamente en el tratamiento y profilaxis de infecciones causadas por el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1 es preferentemente el virus H5N1 de un clado diferente como se describe en la presente.

De acuerdo con una forma de realización adicional, este kit en partes comprende al menos un antígeno adicional de un patógeno de ave de corral o mamífero y la información que indica el uso medicinal, humano o veterinario, de dicho antígeno adicional, en particular el antígeno adicional mencionado anteriormente.

La invención proporciona además un método para reducir la carga viral en un sujeto, que comprende la administración de la proteína H5 (1) descrita en la presente o la combinación como se describe en la presente a un sujeto infectado con o en riesgo de una infección viral con el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1 es preferentemente el virus H5N1 de un clado diferente como se describe en la presente.

La invención también se relaciona con la proteína H5 (1) descrita en la presente o la combinación como se describe en la presente para el uso en un método para la reducción de la carga viral en un sujeto, en donde dicha proteína H5 (1) o dicha combinación deberá ser administrada a un sujeto infectado con o en riesgo de una infección viral con el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, y en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1 es preferentemente el virus H5N1 de un clado diferente como se lo describe en la presente.

Además, la invención proporciona el uso de la proteína H5 (1) descrita en la presente o de la combinación descrita en la presente para la preparación de un medicamento para reducir la carga viral en un sujeto infectado con o en riesgo de una infección viral con el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1 es preferentemente el virus H5N1 de un clado diferente como se describe en la presente.

Preferentemente, la proteína H5 (1) de acuerdo con la invención, la combinación descrita en la presente, la vacuna descrita en la presente o el kit mencionado en la presente son para el uso como una sola vacuna o vacunación con una dosis.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos recogen materiales y procedimientos preferidos de acuerdo con la presente invención. Ha de entenderse, sin embargo, que estos ejemplos se proporcionan a modo de ilustración solamente, y nada en ellos debe considerarse una limitación tras el alcance global de la invención.

EJEMPLO 1

Construcción de baculovirus recombinantes que codifican y expresan antígenos de la HA H5

El baculovirus recombinante que contiene el antígeno de la HA H5 se generó como sigue: las secuencias codificadoras del HA H5 (SEQ ID NO:3) se sintetizaron químicamente y se subclonaron en el vector de transferencia pVL1392 (BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA). La HA MutK+ H5 (SEQ ID NO:5) se generó usando iniciadores de oligonucleótido y el kit de mutagénesis dirigida al sitio QuikChange® (Stratagene, La Jolla, CA) y se subclonó en el vector de transferencia pVL1392 (BD Biosciences Pharmingen, San Diego, CA). Los plásmidos pVL1392 que contienen los genes que codifican el antígeno HA H5 (SEQ ID NO:3) y la HA MutK+ H5 (SEQ ID NO:5) se co-transfectaron luego con ADN de baculovirus DiamondBac® (Sigma) en células de insecto Sf9 (BD Biosciences Pharmingen) para generar el baculovirus recombinante que contiene los genes de la HA H5 que codificaban SEQ ID NO:3 y la HA mutK+ H5 que codifica SEQ ID NO:5. Los baculovirus recombinantes que contienen los genes que codifican la HA H5 (SEQ ID NO:3) y la HA MutK+ H5 (SEQ ID NO:5) se purificaron en placas y se propagaron virus de la semilla madre (abreviado generalmente como MSV por sus iniciales en inglés: master seed viruses) en la línea celular SF+, se tomaron alícuotas y se almacenaron a -70°C. Las células de insecto infectadas con baculovirus HA H5 como se han descrito anteriormente para generar MSV o virus de una semilla de trabajo que expresan el antígeno HA H5 (SEQ ID NO:3) y antígeno de la HA MutK+ H5 (SEQ ID NO:5) como se detectó mediante anticuerpos de suero policlonal o monoclonales por un análisis indirecto de anticuerpos fluorescentes o por transferencia de Western.

Después de sembrar con cantidades apropiadas de baculovirus recombinantes (HA H5 y HA MutK+ H5, respectivamente), se incubaron los matraces con agitación que contienen las células SF+ (Protein Sciences, Inc., Meriden, CT) a $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 7 días y con agitación a 100 rpm durante este tiempo. Los matraces utilizaban tapones ventilados para permitir el flujo de aire. Se recogieron el cultivo celular completo en bruto que contiene las células SF+ infectadas con baculovirus y los sobrenadantes de los cultivos celulares cada cultivo.

EJEMPLO 2

Preparación de composiciones farmacéuticas (vacunas) que comprenden antígenos de la HA H5

Se recogieron la proteína HA H5 y la proteína HA Mutk+ H5 del cultivo celular completo en bruto expresadas en células de insecto mediante un sistema de expresión basado en baculovirus. Los baculovirus se desactivaron en presencia de etilenimina binaria (BEI) ciclada 5mM (concentración final) entre aproximadamente 32 y 39°C durante 72 a 96 horas. Después de que se completó la desactivación se añadió una solución de tiosulfato de sodio 0,3M hasta una concentración final de 5mM para neutralizar cualquier resto de BEI. Después de la neutralización se añadieron varios adyuvantes y se generaron las siguientes composiciones farmacéuticas/vacunas.

VACUNAS

Nombre genérico del producto	501
Antígeno	Proteína HA H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió Emulsigen como adyuvante.

Nombre genérico del producto	502
Antígeno	Proteína HA H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió Emulsigen-D como adyuvante.

Nombre genérico del producto	503
Antígeno	Proteína HA H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió Polygen como adyuvante.

Nombre genérico del producto	504
Antígeno	Proteína HA H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió Emulsigen-P como adyuvante.

Nombre genérico del producto	505
Antígeno	Proteína HA H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió Carbigen como adyuvante.

Nombre genérico del producto	506
Antígeno	Proteína HA H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió Emulsigen-75 como adyuvante.

Nombre genérico del producto	507
Antígeno	Proteína HA H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió ISA 70 como adyuvante.

Nombre genérico del producto	508
Antígeno	Proteína HA MutK+ H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió Emulsigen como adyuvante.

Nombre genérico del producto	509
Antígeno	Proteína HA MutK+ H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió Emulsigen-D como adyuvante.

Nombre genérico del producto	510
Antígeno	Proteína HA MutK+ H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió Polygen como adyuvante.

Nombre genérico del producto	511
Antígeno	Proteína HA MutK+ H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió Emulsigen-P como adyuvante.

Nombre genérico del producto	512
Antígeno	Proteína HA MutK+ H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió Carbigen como adyuvante.

Nombre genérico del producto	513
Antígeno	Proteína HA MutK+ H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió Emulsigen-75 como adyuvante.

Nombre genérico del producto	514
Antígeno	Proteína HA K+ H5 de células completas en bruto expresada en células de insecto por un sistema de expresión basado en baculovirus.
Formulación	Una vacuna experimental que comprende células de insecto cultivadas y sobrenadante que expresan la HA H5 recombinante. A la vacuna se le añadió ISA 70 como adyuvante.

EJEMPLO 3

Vacunación de pollos frente a la gripe aviar

Una vacuna en combinación que comprenda H5 HA Mutk+ (Fracción 1) y virus inactivo de la enfermedad de Newcastle (Fracción 2), denominada “BACULO AI + ND KV” ha sido evaluada en pruebas en animales. La vacuna fue formulada con H5 hemaglutinina producida en el sistema de expresión Baculovirus sobre la base del MutK+ construcción (Ejemplos 1 y 2). El origen de la fracción del virus de la enfermedad de Newcastle (ND) es el virus completo.

Fracción 1

H5 hemaglutinina (H5 HA) recombinante, expresada en baculovirus del virus de la Gripe Aviar H5N1. Fracción (AI) de la Gripe **Aviar**.

La fracción AI está inactivada con etilenimina binaria (BEI). No se permite ineffectividad residual que provenga del vector Baculovirus.

Fracción 2:

Virión completo, Virus de la enfermedad de Newcastle (ND), cepa LaSota. Fracción de la enfermedad de **Newcastle**.

La fracción ND está inactivada con Formaldehído, BEI o Beta-Propio-Lactona (BPL). No se permite infectividad residual que provenga del virus ND.

Composición de la fórmula:

El material cultivado inactivado de la proteína H5 HA y ND se mezcla con una emulsión de agua/aceite. La mezcla incluye aceite mineral como adyuvante.

Para la evaluación de la eficacia de la vacuna, se consideraron tres parámetros clínicos: 1) Morbilidad/mortalidad. 2) niveles de anticuerpos. 3) Carga viral.

En todos los estudios se vacunaron pollos SPF, la administración de la vacuna fue vía subcutánea en la parte posterior del cuello. Se administró una dosis de 0,5 ml a menos que se estableciera lo contrario.

Se mantuvo a los pollos dentro de unidades aislantes durante todos los estudios. Dichos estudios cumplieron con los lineamientos internacionales OIE para la evaluación de las vacunas de la gripe aviar.

El desafío fue conducido para evaluar la fracción antigénica de la gripe aviar (AI). Se inocularon los pollos 3 semanas posteriores a la vacunación mediante vía intranasal (50 µl) y oral (50 µl) administrando un total de 100 µl de fluido con alantoína que contiene 10^6 EID₅₀ del virus de desafío.

Se llevaron a cabo dos estudios para evaluar la protección del desafío contra HPAI H5N1:

1) Estudio de protectotipos usando una vacunación simple o doble (evaluación del efecto estimulante) en pollos de 1 día de edad o 10 días (evaluación del efecto de la edad) y dosis de 0,5 o 0,2 ml (evaluación del efecto de la dosis).

Se utilizaron dos cepas de desafío diferentes para este estudio: a) Una cepa vietnamita de subclado 2.3.2 (aislada en 2006) que ha estado causando recientemente la enfermedad en la producción de aves de corral del sudeste de Asia (China, Vietnam). b) Una cepa egipcia grupo B1 subclado 2.2.1 (aislada en 2010), que ha estado causando recientemente la enfermedad en la producción de aves de corral de Egipto. Las cepas de desafío no están genéticamente cerca de la construcción baculovirus de la vacuna (MutK+). Los resultados se interpretan en el contexto de los protectotipos y abarcan hasta la protección conferida para dos inmunizaciones con vacunas similares o diferentes.

Conclusiones:

1) Se observó protección entre 80 y 100 % dependiendo de la edad o la dosis. Se

observó 100 % de protección cuando se la administró como dosis de 0.5 ml a los 10 días de edad de la formulación bivalente.

- 2) Cuando fue administrada como una inmunización simple de 0.5 ml de BACULO AI + ND KV a los 10 días de edad, se observa la misma protección que si se administran dos inyecciones de la vacuna Volvac AI KV comercial inactiva tradicionalmente producida.
- 3) Cuando fue administrada como una inmunización simple de 0.5 ml de BACULO AI + ND KV a los 10 días de edad, se detectaron similares niveles de anticuerpos específicos H5 en comparación con la administración de dos inyecciones de la vacuna Volvac AI KV comercial inactiva tradicionalmente producida.
- 4) Se observaron bajos niveles de carga viral hasta los 3 días posteriores al desafío, cuando se administró la vacuna como inmunización simple con 0.5 ml de BACULO AI + ND KV a los 10 días de edad.

- 2) Estudio de eficacia de BACULO, usando una vacunación única a los 10 días de edad.

Se usaron tres cepas diferentes de desafío para este estudio: a) Cepa egipcia subclado 2.2.1 (aislada en 2008). b) Una cepa egipcia del grupo A1 subclado 2.2.1 (aislada in 2010). c) Una cepa egipcia del grupo B1 subclado 2.2.1 (aislada en 2010). Las dos últimas recientemente han causado enfermedad dentro de la producción de aves de corral en Egipto.

Conclusiones:

- 1) Se observó protección entre 90 y 100 %.
- 2) La vacuna BACULO AI + ND KV demostró un rendimiento que cumple con los lineamientos de la Agencia de Medicina Europea (EMA) para las vacunas contra el virus HPAI en las aves.
- 3) Este es el primer informe disponible que demuestra la eficacia con una administración simple de la inyección para una vacuna sobre la base del baculovirus que incluye una hemaglutinina generalmente distante de aquellos de los virus usados para el desafío.

EJEMPLO 4

1. Diseño experimental.

Este experimento fue diseñado y conducido de forma similar a la descrita en el Ejemplo 3:

Para la evaluación de la eficacia de la vacuna, se consideraron tres parámetros clínicos: 1) Morbilidad/mortalidad. 2) niveles de anticuerpos. 3) Carga viral.

En todos los estudios se vacunaron pollos SPF, la administración de la vacuna fue vía subcutánea en la parte posterior del cuello. Se usó un prototipo de vacuna que contiene una proteína H5 de clado 1 (llamada Mut K+) formulado como un producto bivalente con una segunda fracción antigénica ND (virus de la enfermedad de Newcastle).

Se administró una dosis de 0,5 ml a menos que se estableciera lo contrario. Los animales fueron vacunados a los 10 días de edad.

Se mantuvo a los pollos dentro de unidades aislantes durante todos los estudios. Dichos estudios cumplieron con los lineamientos internacionales OIE para la evaluación de las vacunas de la gripe aviar.

El desafío fue conducido para evaluar la fracción antigénica de la gripe aviar (AI). Se inocularon los pollos 3 semanas posteriores a la vacunación mediante vía intranasal (50 µl) y oral (50 µl) administrando un total de 100 µl de fluido con alantoína que contiene 10^6 EID₅₀ del virus de desafío.

Esto también se resume en la tabla siguiente (Tabla A) (la vacunación se realizó a los 10 días de edad, columna 1 (ID de los grupos experimentales de acuerdo con la vacuna aplicada), columna 2 (Dosis de la vacuna), y columna 3 (Edad de desafío)).

El virus de desafío fue A/Chicken/Egypt/1063/2010, que se clasifica como HP AIV subtipo H5N1 subclado 2.2.1.1. Esta es la cepa de desafío oficial usada en Egipto para la evaluación de los lotes de vacuna. La dosis de desafío fue de 10^6 EID₅₀.

2. Resultados y Análisis de Datos.

Los resultados y análisis de datos se resumen en la tabla siguiente (Tabla A): Columna 4 (HI GMT (Titro Geométrico Medio) 3 semanas posteriores a la vacunación, pre-desafío), columna 5 (Porcentaje de supervivencia, 2 semanas posteriores al desafío), y columna 6 (Detección de la carga viral, muestras positivas RT-PCR).

Grupo Experimental (10 pollos cada uno) -ID de la Vacuna-	Dosis de la Vacuna (edad)	Dosis de desafío (edad) -Strain 1063-	GMT medido a los 31 días de edad		Porcentaje de supervivencia post-desafío (%)	Detección de la carga viral de ARN viral utilizando RT-PCR- (#positivos/total)
			Homólogo (cepa de la vacuna)	Heterogéneo (virus de desafío)		
Mut K+	0.5 ml (10 días de edad)	10 ⁶ EID ₅₀ (31 días de edad)	9.1	0.9	100	2/10
Sin vacuna			-	-	0	10/10

Tabla A: Resumen del diseño experimental y de los resultados y análisis de datos del Ejemplo 4.

3. Conclusiones

- El grupo vacunado sobrevivió al desafío. El prototipo de la vacuna disparó una respuesta inmunológica eficiente, medida como titración HI usando el antígeno homólogo.
- El prototipo de vacuna Mut K+ proporcionó una buena protección viral, medida como habilidad para reducir la carga viral. Los valores Ct RT-PCR fueron muy bajos para producir un virus infeccioso sino solamente material genético residual.

En el listado de secuencia (SEQ ID NOs: 1 a 51):

SEQ ID NO: 1 corresponde a H5 de A/Hong Kong/213/2003(H5N1) sin péptido de señal,

SEQ ID NOs: 2-7 corresponden a SEQ ID NOs: 1-6 de la solicitud internacional (PCT) número PCT/US2007/082699,

SEQ ID NO: 8 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 “1709-6”,

SEQ ID NO: 9 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 “1553-1/A1”,

SEQ ID NO: 10 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 “1553-15/A1”,

SEQ ID NO: 11 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 “2095-50/A1”,

SEQ ID NO: 12 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 “3982-2/A1”,

SEQ ID NO: 13 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 “3982-5/A1”,

SEQ ID NO: 14 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 “3982-7/A1”,

SEQ ID NO: 15 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 “3982-8/A1”,

SEQ ID NO: 16 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 “3982-9/A1”,

SEQ ID NO: 17 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 “3982-12/A1”,

SEQ ID NO: 18 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 “3982-20/A1”,

SEQ ID NO: 19 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "3982-44/A1",
 SEQ ID NO: 20 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "1553-2/B1",
 SEQ ID NO: 21 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "1553-6/B1",
 SEQ ID NO: 22 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "1553-13/B2",
 SEQ ID NO: 23 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "1553-26/B2",
 SEQ ID NO: 24 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "1553-28/B1",
 SEQ ID NO: 25 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "2095-39/B2",
 SEQ ID NO: 26 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "2095-46/B1",
 SEQ ID NO: 27 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "2095-49/B1",
 SEQ ID NO: 28 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "2095-65/B1",
 SEQ ID NO: 29 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "2095-68/B2",
 SEQ ID NO: 30 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "2095-70/B2",
 SEQ ID NO: 31 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "2095-73/B2",
 SEQ ID NO: 32 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "2095-75/B2",
 SEQ ID NO: 33 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "3982-3/B1",
 SEQ ID NO: 34 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "3982-4/B1",
 SEQ ID NO: 35 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "3982-13/B1",
 SEQ ID NO: 36 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "3982-14/B2",
 SEQ ID NO: 37 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "3982-19/B3",
 SEQ ID NO: 38 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "3982-21/B2",
 SEQ ID NO: 39 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "3982-43/B1",
 SEQ ID NO: 40 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "3982-50/B1",
 SEQ ID NO: 41 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "3982-52/B1",
 SEQ ID NO: 42 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "3982-55/A1",
 SEQ ID NO: 43 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "3982-56/A1",
 SEQ ID NO: 44 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "3982-78/B2",
 SEQ ID NO: 45 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "4794-17/B",
 SEQ ID NO: 46 corresponde a la secuencia H5 de H5N1 "4794-18/B",
 SEQ ID NO: 47 corresponde a la secuencia H5 traducida de SEQ ID NO: 50,
 SEQ ID NO: 48 codifica una secuencia H5 de H5N1 "3982-8/A1" (SEQ ID NO: 15),
 SEQ ID NO: 49 codifica una secuencia H5 de H5N1 "1553-2/B1" (SEQ ID NO: 20),
 SEQ ID NO: 50 corresponde a la secuencia de consenso obtenida luego del análisis de la codificación de secuencia del gen 38 H5 HA para SEQ ID NOs: 9 a 46,
 SEQ ID NO: 51 corresponde al cADN de la cepa LaSota del virus de la enfermedad de Newcastle.

REIVINDICACIONES

1. Una proteína H5 (1) del virus H5N1 clado 1 para ser usado en un método de tratamiento o prevención de las infecciones con el virus H5N1 de un clado diferente, en donde dicha proteína H5 (1) comprende o conste de una secuencia polipéptida que contiene por lo menos 98% de identidad de secuencia con la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:1.
2. La proteína H5 (1) de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha proteína H5 (1) comprende o conste de una secuencia de polipéptidos que contiene por lo menos 98,1%, preferentemente por lo menos 98,2%, más preferentemente por lo menos 98,3% y más preferentemente por lo menos 98,4% de identidad de secuencia con la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:1
3. La proteína H5 (1) de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde dicha proteína H5 (1) tiene el aminoácido 223N y la modificación 328K+, en donde la numeración de las posiciones de los aminoácidos de la proteína H5 (1) se refiere a la posición del aminoácido brindada como ejemplo de SEQ ID NO:2, y en donde la modificación 328K+ significa que en la posición de aminoácido 328 de la proteína H5 (1) se inserta una segunda lisina (K+).
4. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dicha proteína H5 (1) tiene el aminoácido 94N.
5. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que dicha proteína H5 (1) tiene el aminoácido 120N.
6. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicha proteína H5 (1) tiene el aminoácido 155N.
7. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que dicha proteína H5 (1) tiene uno o más de los siguientes grupos de aminoácidos seleccionados del grupo que consta de:
 - a. aa 93 - 95: GNF
 - b. aa 123 – 125: SDH
 - c. aa 128 – 130: SSG
 - d. aa 138 - 140: GSS
 - e. aa 226 - 228: MDF
 - f. aa 270 – 272: EVE
 - g. aa 309 – 311: NKL.
8. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que dicha proteína H5 (1) comprende un péptido que comprende:

- i. las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO:5; SEQ ID NO:6 or SEQ ID NO:7; o
 - ii. cualquier péptido que tenga por lo menos 85% de homología de secuencia con el polipéptido de i) y que comprende inhibición de hemaglutinina inhibition en un estudio estándar de inhibición de hemaglutinina; o
 - iii. cualquier parte de los polipéptidos de i) o ii) que comprenda por lo menos 8 aminoácidos contiguos de cualquiera de dichos péptidos de i) o ii) y en donde cualquiera de dichos péptidos comprenda inhibición de la hemaglutinina en un estudio estándar de inhibición de hemaglutinina; o
 - iv. cualquier péptido de i), ii) o iii) que tiene uno de los aminoácidos 36T, 36K, 83A, 83T, 83D, 86A, 86V, 120S, 155S, 156A, 156T, 189R, 189K, 212K, 212R, 212E, 263A o 263T; o
 - v. cualquier péptido de i), ii), iii) o iv) que tiene uno o más de los siguientes agrupamientos de aminoácidos seleccionados entre el grupo que consiste en:
 - a. aa 93-95: GNF
 - b. aa 123-125: SDH
 - c. aa 128-130: SSG
 - d. aa 138-140: GSS
 - e. aa 226- 228: MDF
 - f. aa 270-272: EVE
 - g. aa 309-311: NKL.
9. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde dicha proteína H5 (1) comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:5.
10. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde dicha proteína H5 (1) se expresa de forma recombinante y/o produce mediante el sistema de expresión baculovirus, preferentemente en cultivos de células de insectos.
11. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde dicho virus H5N1 de un clado diferente se selecciona entre el grupo que consta del virus H5N1 clado 0, el virus H5N1 clado 2, el virus H5N1 clado 3, el virus H5N1 clado 4, el virus H5N1 clado 5, el virus H5N1 clado 6, el virus H5N1

clado 7, el virus H5N1 clado 8, y el virus H5N1 clado 9.

12. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde dicho virus H5N1 de un clado diferente es un virus H5N1 de clado 2.2 H5N1 o un virus H5N1 de clado 2.3.
13. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde dicho virus H5N1 de un clado diferente es un virus H5N1 de clado 2.2.1 o un virus H5N1 de clado 2.3.2.
14. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde dicho virus H5N1 de un clado diferente es un virus H5N1 de origen norafricano o vietnamita.
15. La proteína H5 (1) de acuerdo con la reivindicación 14, en donde dicho virus H5N1 de origen norafricano es un virus H5N1 que comprende una proteína H5 (2) del virus de la gripe, donde dicha proteína H5 (2) tiene
 - (a) los aminoácidos 113D, 126H, 145(-), 156R, 160F, 167T, y 181N, en donde la modificación 145(-) significa que se borra la posición del aminoácido 145 de H5, o
 - (b) los aminoácidos 87P, 145L, 172T, 201E, 206I, 208K, 254T, 341G y 421K, o
 - (c) los aminoácidos 145L, 172T, y 254V,
 y en donde la numeración de las posiciones de los aminoácidos de la proteína H5 (2) se refiere a la posición del aminoácido dada como ejemplar en la SEQ ID NO:8;

o en donde dicha proteína H5 (2) consta de o comprende una secuencia de aminoácidos que es por lo menos 95%, preferentemente por lo menos 96%, más preferentemente por lo menos 97%, aún más preferentemente por lo menos 98%, aun más preferentemente por lo menos 99%, o en particular preferentemente 100% homólogo con cualquiera de las secuencias establecidas en SEQ ID NOs: 9 a 46.
16. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en donde dicho virus H5N1 de un clado diferente que comprende la proteína H5 (2) tiene:
 - (a) los aminoácidos 87L, 113D, 126H, 145(-), 156R, 160F, 167T, y 181N, o
 - (b) los aminoácidos 87P, 113N, 126R, 145L, 160Y, 172T, 181H, 201E, 206I, 208K, 254T, 341G y 421K, o

- (c) los aminoácidos 87L, 113N, 126R, 145L, 156G, 160Y, 172T, 181H, y 254V,

y/o

donde dicha proteína H5 (2) contiene un péptido que comprende:

- i. cualquiera de las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 9 a 46;
- ii. cualquier péptido que tenga por lo menos 85%, preferentemente por lo menos 95%, aun más preferentemente por lo menos 96%, aun más preferentemente por lo menos 97%, aun más preferentemente por lo menos 98%, aun más preferentemente por lo menos 99%, con máxima preferencia 100% de homología de secuencia con el polipéptido de i) y que comprenda inhibición de la hemaglutinina en un estudio estándar de inhibición de la hemaglutinina o
- iii. cualquier parte de los polipéptidos de i) o ii) que comprenda por lo menos 334 aminoácidos contiguos de cualquiera de dichos péptidos de i) o ii) y en donde cualquiera de dichos péptidos comprenda inhibición de hemaglutinina en un estudio estándar de inhibición de hemaglutinina,

y/o

donde dicha proteína H5 (2) consta de o comprende una secuencia continua de aminoácidos que tiene por lo menos 95% aun más preferentemente por lo menos 96%, aun más preferentemente por lo menos 97%, aun más preferentemente por lo menos 98%, aun más preferentemente por lo menos 99%, y como máxima preferentemente 100% de identidad de secuencia con cualquiera de las secuencias determinadas en SEQ ID NOs: 9 a 46.

17. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en donde dicho virus H5N1 de un clado diferente comprende la proteína H5 (2) que consta de o comprende una secuencia de aminoácidos que es por lo menos 95%, preferentemente por lo menos 96%, más preferentemente por lo menos 97%, aun más preferentemente por lo menos 98%, aun más preferentemente por lo menos 99%, o en particular preferentemente 100% homóloga con cualquiera de las secuencias determinadas en SEQ ID NOs: 15 o 20, y en donde dicha proteína H5 (2) comprende o consta de la secuencia de aminoácido determinada en SEQ ID NO:20 son particularmente preferidas.
18. La proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 para ser usada en un método de tratamiento o prevención de las infecciones
 - (A) con el virus H5N1 subclado A de origen norafricano, digamos una

infección con un virus H5N1 que comprende una proteína H5 (2) que tiene los aminoácidos de acuerdo con (a) de la reivindicación 13 o 14 o que comprende una proteína H5 de acuerdo con la reivindicación 16 o 17 relacionada con cualquiera de las secuencias determinadas en SEQ ID NOs: 9 a 19, o 42 o 43,

o

(B) con el virus H5N1 subclado B de origen norafricano, digamos una infección con un virus H5N1 que comprende una proteína H5 que tiene los aminoácidos de acuerdo con (b) o (c) de la reivindicación 13 o 14 o que comprende una proteína H5 de acuerdo con la reivindicación 16 o 17 relacionada con cualquiera de las secuencias determinadas en SEQ ID NOs: 20 a 41, o 44 a 46.

19. Una combinación de la proteína H5 (1) de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y un virus inactivo de la enfermedad de Newcastle para usar en un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18.
20. La combinación de la reivindicación 19, en donde el virus inactivo de la enfermedad de Newcastle es un virión completo inactivo de la enfermedad de Newcastle.
21. La combinación de la reivindicación 19 o 20, en donde el virus inactivo de la enfermedad de Newcastle es un virus inactivo de la enfermedad de Newcastle obtenido mediante inactivación de un virus de la enfermedad de Newcastle que comprende un polinucleótido ARN que tiene por lo menos 70%, preferentemente por lo menos 80%, más preferentemente por lo menos 90%, aun más preferentemente por lo menos 95% o en particular 100% de identidad de secuencia con una copia ARN del polinucleótido determinado en SEQ ID NO: 51, que ha sido inactivado.
22. La combinación de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21, en donde el virus de la enfermedad de Newcastle es un virus de la cepa LaSota de la enfermedad de Newcastle.
23. La combinación de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 22, en donde el virus de la enfermedad de Newcastle es inactivado con un reactivo seleccionado del grupo que consta de Formaldehído, BEI, Beta-Propio-Lactona (BPL), y las

combinaciones de los mismos.

24. Una vacuna para el uso en un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 que comprende:
 - a. la proteína H5 (1) de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o la combinación de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 23, y
 - b. un excipiente y/o vehículo farmacéutico aceptable.
25. La vacuna de acuerdo con la reivindicación 24, en donde el excipiente es uno o más adyuvantes.
26. La vacuna de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el adyuvante es un adyuvante sobre la base de un Emulsígeno.
27. La vacuna de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 24 a 26, en donde la vacuna comprende uno o más antígenos adicionales.
28. La vacuna de acuerdo con la reivindicación 27, en donde el o los antígenos es un antígeno de un patógeno de ave de corral.
29. La vacuna de acuerdo con la reivindicación 28, en donde el o los antígenos es H5, H7, or H9 del virus de la gripe.
30. La vacuna de acuerdo con la reivindicación 29, en donde la H5 del virus de la gripe es una proteína H5 de un virus H5N1 de un clado diferente de 1.
31. Uso de la proteína H5 (1) de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o de la combinación de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 23 para la preparación de una composición farmacéutica, preferentemente con una vacuna de una sola inyección o una vacuna de una dosis para la profilaxis o tratamiento de infecciones causadas por el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1 es preferentemente un virus H5N1 de un clado diferente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 18.
32. Un método para el tratamiento o profilaxis de las infecciones por el virus de la gripe causadas por el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado diferente del clado 1 es preferentemente dicho virus H5N1 de un clado diferente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 18, en donde el método que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de la proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o de una combinación de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 23 a un sujeto necesitado de dicho tratamiento.

33. Un método para el tratamiento o profilaxis de las infecciones por el virus de la gripe causadas por el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1 es preferentemente dicho virus H5N1 de un clado diferente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 18, en donde el método consta o comprende la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de la vacuna de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 24 a 30 a un sujeto necesitado de dicho tratamiento.
34. El método de la reivindicación 32 o 33 en donde dicha administración es una administración en una sola inyección o una administración en una dosis.
35. Un kit de partes, que comprende
 - a. la proteína H5 (1) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, la combinación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 19 a 23, o la vacuna de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 24 a 30; y
 - b. un prospecto del envase que indica el uso de dicha proteína H5 (1), combinación o vacuna de a) para el tratamiento o profilaxis de infecciones causadas por el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, es preferentemente dicho virus H5N1 de un clado diferente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 18.
36. El kit de acuerdo con la reivindicación 35, en donde dicho kit comprende por lo menos uno o más antígenos de patógenos de aves de corral o mamíferos, en donde dicho antígeno extra es preferentemente el antígeno extra de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 27 a 29.
37. La proteína H5 (1) de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, la combinación de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 23, la vacuna de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 24 a 30, o el kit de acuerdo con la reivindicación 35 o 36 para su uso como vacuna en una sola inyección o en vacunación de una dosis.
38. Un método para reducir la incidencia de o la gravedad de la infección de la gripe que comprende el paso de administrar una composición seleccionada del grupo que consta de la proteína de la reivindicación 1 y la combinación de la reivindicación 19.
39. La proteína H5 (1) de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o la

combinación de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 23 para su uso en un método para reducir la carga viral en un sujeto, en donde dicha proteína H5 (1) o dicha combinación debe ser administrada a un sujeto infectado con o en riesgo de una infección viral con el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, y en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1 es preferentemente dicho virus H5N1 de un clado diferente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 18.

40. Uso de la proteína H5 (1) de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o de la combinación de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 23 para la preparación de un medicamento para reducir la carga viral en un sujeto infectado con o en riesgo de una infección viral con el virus H5N1 de un clado distinto del clado 1, en donde dicho virus H5N1 de un clado distinto del clado 1 es preferentemente dicho virus H5N1 de un clado diferente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 18.

RESUMEN

La presente invención se basa en el sorprendente hallazgo de que la proteína H5 del H5N1 clado 1 induce, en particular mediante una sola vacuna, una respuesta inmune protectora de clados cruzados a los virus de la gripe con H5N1 HA.

En un aspecto, la invención se dirige de esa manera a la proteína H5 del virus H5N1 clado 1 para su uso en un método de tratamiento o prevención de las infecciones con el virus H5N1 de un clado diferente, principalmente de un clado diferente al clado 1 o de cualquier clado con la excepción del clado 1 respectivamente.

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Boehringer Ingelheim Vetmedica S.A. de C.V.

<120> PROTEÍNAS H5, DE H5N1 PARA UN NUEVO USO MEDICINAL

<130> Caso P01-2749

<160> 51

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 552

<212> PRT

<213> Virus de la gripe aviar

<400> 1

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
1 5 10 15

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
20 25 30

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys
35 40 45

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
50 55 60

Pro Met Cys Asp Glu Phe Ile Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val
65 70 75 80

Glu Lys Ala Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asp Phe Asn
85 90 95

Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu
100 105 110

Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Asn Ser Trp Ser Ser His Glu Ala Ser
115 120 125

Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Lys Ser Ser Phe Phe
130 135 140

Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Ala Tyr Pro Thr Ile
145 150 155 160

Lys Arg Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
165 170 175

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln
 180 185 190
 Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
 195 200 205
 Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Asn Gly
 210 215 220
 Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn
 225 230 235 240
 Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile
 245 250 255
 Val Lys Lys Gly Asp Ser Ala Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly
 260 265 270
 Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Met Gly Ala Ile Asn Ser Ser
 275 280 285
 Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
 290 295 300
 Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser
 305 310 315 320
 Pro Gln Arg Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile
 325 330 335
 Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr
 340 345 350
 Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys
 355 360 365
 Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser
 370 375 380
 Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe
 385 390 395 400
 Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp
 405 410 415
 Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met
 420 425 430

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu
435 440 445

Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly
450 455 460

Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu
465 470 475 480

Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala
485 490 495

Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly
500 505 510

Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala
515 520 525

Leu Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly
530 535 540

Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
545 550

<210> 2
<211> 551
<212> PRT
<213> virus de la gripe aviar

<400> 2

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
1 5 10 15

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
20 25 30

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys
35 40 45

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
50 55 60

Pro Met Cys Asp Glu Phe Ile Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val
65 70 75 80

Glu Lys Ala Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
85 90 95

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu
100 105 110

Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Ser Asp His Glu Ala Ser
115 120 125

Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Ser Ser Ser Phe Phe
130 135 140

Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asp Ala Tyr Pro Thr Ile
145 150 155 160

Lys Arg Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
165 170 175

Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln
180 185 190

Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
195 200 205

Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly
210 215 220

Arg Met Asp Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn
225 230 235 240

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile
245 250 255

Val Lys Lys Gly Asp Ser Ala Ile Met Lys Ser Glu Val Glu Tyr Gly
260 265 270

Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Met Gly Ala Ile Asn Ser Ser
275 280 285

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
290 295 300

Tyr Val Lys Ser Asn Lys Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser
305 310 315 320

Pro Gln Arg Glu Arg Arg Arg Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala
325 330 335

Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly
340 345 350

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu
355 360 365

Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile
370 375 380

Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn
385 390 395 400

Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly
405 410 415

Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu
420 425 430

Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr
435 440 445

Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn
450 455 460

Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser
465 470 475 480

Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg
485 490 495

Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr
500 505 510

Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu
515 520 525

Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser
530 535 540

Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
545 550

<210> 3
<211> 567
<212> PRT
<213> Virus de la gripe aviar

<400> 3

Met Glu Lys Thr Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
1 5 10 15

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys
50 55 60

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
65 70 75 80

Pro Met Cys Asp Glu Phe Ile Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val
85 90 95

Glu Lys Ala Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
100 105 110

Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu
115 120 125

Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Ser Asp His Glu Ala Ser
130 135 140

Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Ser Ser Ser Phe Phe
145 150 155 160

Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asp Ala Tyr Pro Thr Ile
165 170 175

Lys Arg Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
180 185 190

Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln
195 200 205

Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
210 215 220

Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly
225 230 235 240

Arg Met Asp Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn
245 250 255

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 260 265 270

Val Lys Lys Gly Asp Ser Ala Ile Met Lys Ser Glu Val Glu Tyr Gly
 275 280 285

Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Met Gly Ala Ile Asn Ser Ser
 290 295 300

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
 305 310 315 320

Tyr Val Lys Ser Asn Lys Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser
 325 330 335

Pro Gln Arg Glu Arg Arg Arg Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala
 340 345 350

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

Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu
 370 375 380

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

Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn
 405 410 415

Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly
 420 425 430

Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu
 435 440 445

Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr
 450 455 460

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

Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser
 485 490 495

Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg
 500 505 510

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr
 515 520 525

Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu
 530 535 540

Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser
 545 550 555 560

Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 4
 <211> 568
 <212> PRT
 <213> Virus de la gripe aviar
 <400> 4

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Phe Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
 1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
 20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
 35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys
 50 55 60

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
 65 70 75 80

Pro Met Cys Asp Glu Phe Ile Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val
 85 90 95

Glu Lys Ala Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asp Phe Asn
 100 105 110

Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu
 115 120 125

Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Asn Ser Trp Ser Ser His Glu Ala Ser
 130 135 140

Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Lys Ser Ser Phe Phe
 145 150 155 160

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Ala Tyr Pro Thr Ile
165 170 175

Lys Arg Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
180 185 190

Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln
195 200 205

Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
210 215 220

Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Asn Gly
225 230 235 240

Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn
245 250 255

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile
260 265 270

Val Lys Lys Gly Asp Ser Ala Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly
275 280 285

Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Met Gly Ala Ile Asn Ser Ser
290 295 300

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
305 310 315 320

Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser
325 330 335

Pro Gln Arg Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile
340 345 350

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

Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys
370 375 380

Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser
385 390 395 400

Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe
405 410 415

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp
420 425 430

Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met
435 440 445

Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu
450 455 460

Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly
465 470 475 480

Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu
485 490 495

Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala
500 505 510

Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly
515 520 525

Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala
530 535 540

Leu Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly
545 550 555 560

Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 5
<211> 568
<212> PRT
<213> Virus de la gripe aviar

<400> 5

Met Glu Lys Thr Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys
50 55 60

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
65 70 75 80

Pro Met Cys Asp Glu Phe Ile Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val
85 90 95

Glu Lys Ala Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
100 105 110

Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu
115 120 125

Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Asn Ser Trp Ser Asp His Glu Ala Ser
130 135 140

Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Ser Ser Ser Phe Phe
145 150 155 160

Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Ala Tyr Pro Thr Ile
165 170 175

Lys Arg Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
180 185 190

Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln
195 200 205

Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
210 215 220

Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Asn Gly
225 230 235 240

Arg Met Asp Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn
245 250 255

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile
260 265 270

Val Lys Lys Gly Asp Ser Ala Ile Met Lys Ser Glu Val Glu Tyr Gly
275 280 285

Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Met Gly Ala Ile Asn Ser Ser
290 295 300

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
305 310 315 320

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Tyr Val Lys Ser Asn Lys Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser
 325 330 335
 Pro Gln Arg Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile
 340 345 350
 Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr
 355 360 365
 Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys
 370 375 380
 Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser
 385 390 395 400
 Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe
 405 410 415
 Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp
 420 425 430
 Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met
 435 440 445
 Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu
 450 455 460
 Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly
 465 470 475 480
 Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu
 485 490 495
 Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala
 500 505 510
 Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly
 515 520 525
 Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala
 530 535 540
 Leu Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly
 545 550 555 560
 Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile

<210> 6
<211> 263
<212> PRT
<213> Virus de la gripe aviar

<400> 6

His Ala Asn Asn Trp Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn
1 5 10 15

Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly
20 25 30

Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys
35 40 45

Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Ile
50 55 60

Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ala Asn Pro Ala Asn
65 70 75 80

Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asp Phe Asn Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His
85 90 95

Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys
100 105 110

Asn Ser Trp Ser Ser His Glu Ala Ser Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys
115 120 125

Pro Tyr Gln Gly Lys Ser Ser Phe Phe Arg Asn Val Val Trp Leu Ile
130 135 140

Lys Lys Asn Asn Ala Tyr Pro Thr Ile Lys Arg Ser Tyr Asn Asn Thr
145 150 155 160

Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp
165 170 175

Ala Ala Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser
180 185 190

Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr
195 200 205

Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Asn Gly Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr
Página 13

210 140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing 215 220

Ile Leu Lys Pro Asn Asp Ala Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe
225 230 235 240

Ile Ala Pro Glu Tyr Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Ala
245 250 255

Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu
260

<210> 7
<211> 290
<212> PRT
<213> virus de la gripe aviar
<400> 7

Gly Ser Ala Thr Met Glu Lys Thr Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser
1 5 10 15

Leu Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser
20 25 30

Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His
35 40 45

Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu
50 55 60

Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp
65 70 75 80

Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Ile Asn Val Pro Glu Trp
85 90 95

Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ala Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro
100 105 110

Gly Asn Phe Asn Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile
115 120 125

Asn His Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Ser Asp
130 135 140

His Glu Ala Ser Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Ser
145 150 155 160

Ser Ser Phe Phe Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asp Ala

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 165 170 175

Tyr Pro Thr Ile Lys Arg Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu
 180 185 190

Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr
 195 200 205

Arg Leu Tyr Gln Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr
 210 215 220

Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn
 225 230 235 240

Gly Gln Ser Gly Arg Met Asp Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Pro Asn
 245 250 255

Asp Ala Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Tyr
 260 265 270

Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Ala Ile Met Lys Ser Glu
 275 280 285

Val Glu
 290

<210> 8
 <211> 562
 <212> PRT
 <213> H5N1

<400> 8

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
 1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
 20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
 35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys
 50 55 60

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
 65 70 75 80

Pro Met Cys Asp Glu Phe Leu Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val
 Página 15

Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
100 105 110

Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu
115 120 125

Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser
130 135 140

Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Phe Tyr
145 150 155 160

Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asp Asn Ala Tyr Pro Thr Ile
165 170 175

Lys Lys Ser Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
180 185 190

Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Ala Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln
195 200 205

Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
210 215 220

Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly
225 230 235 240

Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Ala Ile Asn
245 250 255

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile
260 265 270

Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly
275 280 285

Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser
290 295 300

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
305 310 315 320

Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser
325 330 335

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Pro Gln Gly Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile
340 345 350

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

Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys
370 375 380

Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser
385 390 395 400

Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe
405 410 415

Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp
420 425 430

Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met
435 440 445

Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu
450 455 460

Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly
465 470 475 480

Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu
485 490 495

Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala
500 505 510

Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly
515 520 525

Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala
530 535 540

Leu Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Phe Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly
545 550 555 560

Ser Leu

<210> 9
<211> 567
<212> PRT

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

<213> H5N1

<400> 9

Met Glu Lys Ile Met Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asn Leu Asp Gly Val Lys
50 55 60

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
65 70 75 80

Pro Met Cys Asp Glu Phe Leu Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val
85 90 95

Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Lys Phe Asn
100 105 110

Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu
115 120 125

Lys Ile Gln Ile Ile Pro Arg Asn Ser Trp Ser Asp His Glu Thr Ser
130 135 140

Gly Val Ser Ser Ala Cys Gln Tyr Gln Gly Arg Ser Ser Phe Phe Arg
145 150 155 160

Asn Val Val Trp Leu Thr Lys Lys Asp Asn Ala Tyr Ser Thr Ile Lys
165 170 175

Arg Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly
180 185 190

Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln Asn
195 200 205

Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu
210 215 220

Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg
225 230 235 240

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Ala Ile Asn Phe
245 250 255

Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val
260 265 270

Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn
275 280 285

Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met
290 295 300

Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr
305 310 315 320

Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro
325 330 335

Gln Glu Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala
340 345 350

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

Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu
370 375 380

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

Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn
405 410 415

Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly
420 425 430

Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu
435 440 445

Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr
450 455 460

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

Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser
485 490 495

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg
500 505 510

Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr
515 520 525

Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu
530 535 540

Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Phe Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser
545 550 555 560

Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 10
<211> 567
<212> PRT
<213> H5N1

<400> 10

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Ile Val Lys Ser
1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asn Leu Asp Gly Val Lys
50 55 60

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
65 70 75 80

Pro Met Cys Asp Glu Phe Leu Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val
85 90 95

Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
100 105 110

Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu
115 120 125

Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Gly Ser Trp Ser Asp His Glu Ala Ser
130 135 140

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Arg Ser Ser Phe Phe Arg
145 150 155 160

Asn Val Val Trp Leu Thr Lys Lys Asn Asn Ala Tyr Pro Thr Ile Lys
165 170 175

Lys Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly
180 185 190

Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln Asn
195 200 205

Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu
210 215 220

Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg
225 230 235 240

Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Ala Ile Asn Phe
245 250 255

Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val
260 265 270

Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn
275 280 285

Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met
290 295 300

Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr
305 310 315 320

Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro
325 330 335

Gln Gly Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala
340 345 350

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

Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu
370 375 380

Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 385 390 395 400

Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn
 405 410 415

Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly
 420 425 430

Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu
 435 440 445

Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr
 450 455 460

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

Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser
 485 490 495

Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg
 500 505 510

Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr
 515 520 525

Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu
 530 535 540

Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Phe Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser
 545 550 555 560

Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 11
 <211> 560
 <212> PRT
 <213> H5N1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (560)..(560)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 11

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Gly
 1 5 10 15

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asn Leu Asp Gly Val Lys
50 55 60

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
65 70 75 80

Pro Met Cys Asp Glu Phe Leu Asn Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val
85 90 95

Glu Lys Ile Tyr Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
100 105 110

Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu
115 120 125

Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Ser Asp His Glu Ala Ser
130 135 140

Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Arg Ser Ser Phe Phe Arg
145 150 155 160

Asn Val Val Trp Leu Thr Lys Lys Asp Asn Ala Tyr Pro Thr Ile Lys
165 170 175

Lys Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Ile Leu Trp Gly
180 185 190

Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln Asn
195 200 205

Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu
210 215 220

Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg
225 230 235 240

Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Ala Ile Asn Phe
245 250 255

Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val
260 265 270

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn
275 280 285

Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met
290 295 300

Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr
305 310 315 320

Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro
325 330 335

Gln Gly Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala
340 345 350

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

Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu
370 375 380

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

Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn
405 410 415

Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly
420 425 430

Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu
435 440 445

Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr
450 455 460

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

Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser
485 490 495

Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg
500 505 510

Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 515 520 525

Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu
 530 535 540

Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Phe Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly Xaa
 545 550 555 560

<210> 12
 <211> 544
 <212> PRT
 <213> H5N1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (544)..(544)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 12

Xaa Leu Leu Ala Ile Val Ser Ile Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile
 1 5 10 15

Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu
 20 25 30

Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His
 35 40 45

Asn Gly Lys Leu Cys Asn Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg
 50 55 60

Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu
 65 70 75 80

Phe Leu Asp Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro
 85 90 95

Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asp Tyr Glu Glu Leu
 100 105 110

Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile
 115 120 125

Pro Lys Asn Ser Trp Ser Asp His Glu Thr Ser Gly Val Ser Ser Ala
 130 135 140

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

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

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 385 390 395 400

Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Arg Arg
 405 410 415

Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp
 420 425 430

Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu
 435 440 445

Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu
 450 455 460

Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe
 465 470 475 480

Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr
 485 490 495

Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu
 500 505 510

Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser
 515 520 525

Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile Met Val Xaa
 530 535 540

<210> 13
 <211> 534
 <212> PRT
 <213> H5N1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 13

Xaa Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser
 1 5 10 15

Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His
 20 25 30

Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asn Leu
 35 40 45

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp
50 55 60

Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Leu Asn Val Glu Trp Ser
65 70 75 80

Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Thr Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly
85 90 95

Asn Phe Asn Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn
100 105 110

His Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Asn Tyr Trp Ser Asp His
115 120 125

Glu Thr Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Arg Pro Ser
130 135 140

Phe Phe Arg Asn Val Val Trp Leu Thr Lys Lys Asn Asn Ala Tyr Pro
145 150 155 160

Thr Ile Lys Lys Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val
165 170 175

Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Arg Leu
180 185 190

Tyr Gln Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn
195 200 205

Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln
210 215 220

Ser Gly Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Ala
225 230 235 240

Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr
245 250 255

Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu
260 265 270

Tyr Gly Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn
275 280 285

Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys
290 295 300

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg
305 310 315 320

Asn Ser Pro Gln Gly Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly
325 330 335

Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly
340 345 350

Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala
355 360 365

Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val
370 375 380

Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg
385 390 395 400

Glu Phe Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met
405 410 415

Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val
420 425 430

Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys
435 440 445

Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu
450 455 460

Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys
465 470 475 480

Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu
485 490 495

Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser
500 505 510

Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser
515 520 525

Leu Ala Leu Ala Ile Met
530

<210> 14

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

<211> 548
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (548)..(548)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 14

Xaa Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser
1 5 10 15

Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His
20 25 30

Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asn Leu
35 40 45

Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp
50 55 60

Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Lys Phe Leu Asn Val Pro Glu Trp
65 70 75 80

Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Thr Asn Asp Leu Cys Tyr Pro
85 90 95

Gly Asn Phe Asn Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile
100 105 110

Asn His Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Asn Ser Trp Ser Asp
115 120 125

His Glu Ala Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Arg Ser
130 135 140

Ser Phe Phe Arg Asn Val Val Trp Leu Thr Lys Lys Asn Asn Ala Tyr
145 150 155 160

Pro Thr Ile Lys Lys Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu
165 170 175

Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Arg
180 185 190

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Leu Tyr Gln Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu
195 200 205

Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly
210 215 220

Gln Ser Gly Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp
225 230 235 240

Ala Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala
245 250 255

Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu
260 265 270

Glu Tyr Gly Asp Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile
275 280 285

Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu
290 295 300

Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu
305 310 315 320

Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe
325 330 335

Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp
340 345 350

Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala
355 360 365

Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys
370 375 380

Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly
385 390 395 400

Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys
405 410 415

Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu
420 425 430

Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 435 440 445

Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys
 450 455 460

Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu
 465 470 475 480

Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser
 485 490 495

Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu
 500 505 510

Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser
 515 520 525

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

Ser Asn Gly Xaa
 545

<210> 15
 <211> 541
 <212> PRT
 <213> H5N1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (541)..(541)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 15

Xaa Ile Val Ser Ile Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His
 1 5 10 15

Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val
 20 25 30

Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys
 35 40 45

Leu Cys Asn Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser
 50 55 60

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Leu Asn
 65 70 75 80
 Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Thr Asn Asp
 85 90 95
 Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu
 100 105 110
 Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Asn
 115 120 125
 Ser Trp Ser Asp His Glu Ala Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr
 130 135 140
 Gln Gly Arg Ser Ser Phe Phe Arg Asn Val Val Trp Leu Thr Lys Lys
 145 150 155 160
 Asn Asn Ala Tyr Pro Thr Ile Lys Lys Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln
 165 170 175
 Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala
 180 185 190
 Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly
 195 200 205
 Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser
 210 215 220
 Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu
 225 230 235 240
 Lys Ser Asn Asp Ala Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala
 245 250 255
 Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met
 260 265 270
 Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asp Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro
 275 280 285
 Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu
 290 295 300
 Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 305 310 315 320

Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Arg Arg Arg Lys Lys
 325 330 335

Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln
 340 345 350

Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly
 355 360 365

Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly
 370 375 380

Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe
 385 390 395 400

Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn
 405 410 415

Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn
 420 425 430

Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His
 435 440 445

Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg
 450 455 460

Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg
 465 470 475 480

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

Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly
 500 505 510

Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser
 515 520 525

Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile Met Val Xaa
 530 535 540

<210> 16
 <211> 520
 <212> PRT
 <213> H5N1

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (159)..(159)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 16

Xaa Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser
 1 5 10 15

Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His
 20 25 30

Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asn Leu
 35 40 45

Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp
 50 55 60

Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Leu Asn Val Pro Glu Trp
 65 70 75 80

Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro
 85 90 95

Gly Asn Phe Asn Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile
 100 105 110

Asn His Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Asn Ser Trp Ser Asp
 115 120 125

His Glu Ala Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Arg Ser
 130 135 140

Ser Phe Phe Arg Asn Val Val Trp Leu Thr Lys Lys Asn Asn Xaa Tyr
 145 150 155 160

Pro Thr Ile Lys Lys Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu
 165 170 175

Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Lys
 180 185 190

Leu Tyr Gln Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu
 Página 35

195 140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing 200 205

Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly
210 215 220

Gln Ser Gly Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp
225 230 235 240

Ala Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala
245 250 255

Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu
260 265 270

Glu Tyr Gly Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile
275 280 285

Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu
290 295 300

Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu
305 310 315 320

Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe
325 330 335

Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp
340 345 350

Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala
355 360 365

Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys
370 375 380

Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly
385 390 395 400

Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys
405 410 415

Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu
420 425 430

Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val
435 440 445

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys
450 455 460

Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu
465 470 475 480

Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser
485 490 495

Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu
500 505 510

Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu
515 520

<210> 17
<211> 537
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (537)..(537)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 17

Xaa Ser Ile Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn
1 5 10 15

Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val
20 25 30

Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys
35 40 45

Asn Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala
50 55 60

Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Leu Asn Val Pro
65 70 75 80

Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys
85 90 95

Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser
Página 37

100 140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing 110
105

Arg Ile Asn His Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Asn Ser Trp
115 120 125

Ser Asp His Glu Ala Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly
130 135 140

Arg Ser Ser Phe Phe Arg Asn Val Val Trp Leu Thr Lys Lys Asn Asn
145 150 155 160

Ala Tyr Pro Thr Ile Lys Lys Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp
165 170 175

Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Ala Glu Gln
180 185 190

Thr Arg Leu Tyr Gln Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser
195 200 205

Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val
210 215 220

Asn Gly Gln Ser Gly Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser
225 230 235 240

Asn Asp Ala Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu
245 250 255

Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser
260 265 270

Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly
275 280 285

Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile
290 295 300

Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr
305 310 315 320

Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly
325 330 335

Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met
340 345 350

Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly
355 360 365

Tyr Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr
370 375 380

Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala
385 390 395 400

Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn
405 410 415

Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu
420 425 430

Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser
435 440 445

Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn
450 455 460

Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp
465 470 475 480

Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln
485 490 495

Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys
500 505 510

Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val
515 520 525

Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile Xaa
530 535

<210>	18
<211>	528
<212>	PRT
<213>	H5N1

```
<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural
```

```
<220>
<221> misc_feature
<222> (528)..(528)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural
```

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

<400> 18

Xaa Ile Val Ser Ile Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His
1 5 10 15

Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val
20 25 30

Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys
35 40 45

Leu Cys Asn Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser
50 55 60

Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Leu Asn
65 70 75 80

Val Pro Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp
85 90 95

Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu
100 105 110

Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Asn
115 120 125

Ser Trp Ser Asp His Glu Ala Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr
130 135 140

Gln Gly Arg Ser Ser Phe Phe Arg Asn Val Val Trp Leu Thr Lys Lys
145 150 155 160

Asn Asn Ala Tyr Pro Thr Ile Lys Lys Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln
165 170 175

Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala
180 185 190

Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly
195 200 205

Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Asn Arg Ser
210 215 220

Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu
225 230 235 240

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 Lys Ser Asn Asp Ala Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala
 245 250 255
 Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met
 260 265 270
 Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro
 275 280 285
 Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu
 290 295 300
 Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu
 305 310 315 320
 Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Arg Arg Arg Lys Lys
 325 330 335
 Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln
 340 345 350
 Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly
 355 360 365
 Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly
 370 375 380
 Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe
 385 390 395 400
 Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn
 405 410 415
 Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn
 420 425 430
 Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His
 435 440 445
 Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg
 450 455 460
 Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg
 465 470 475 480
 Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr
 485 490 495

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly
500 505 510

Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Xaa
515 520 525

<210> 19
<211> 535
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (535)..(535)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 19

Xaa Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser
1 5 10 15

Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His
20 25 30

Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asn Leu
35 40 45

Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp
50 55 60

Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Leu Asn Val Pro Glu Trp
65 70 75 80

Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro
85 90 95

Gly Asn Phe Asn Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile
100 105 110

Asn His Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Asn Ser Trp Ser Asp
115 120 125

His Glu Ala Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Arg Ser
130 135 140

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 Ser Phe Phe Arg Asn Val Val Trp Leu Thr Lys Lys Asp Asn Ala Tyr
 145 150 155 160
 Pro Thr Ile Lys Arg Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu
 165 170 175
 Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Arg
 180 185 190
 Leu Tyr Gln Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu
 195 200 205
 Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly
 210 215 220
 Gln Ser Gly Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp
 225 230 235 240
 Ala Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala
 245 250 255
 Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu
 260 265 270
 Glu Tyr Gly Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile
 275 280 285
 Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu
 290 295 300
 Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu
 305 310 315 320
 Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe
 325 330 335
 Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp
 340 345 350
 Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala
 355 360 365
 Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys
 370 375 380
 Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly
 385 390 395 400

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys
405 410 415

Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu
420 425 430

Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val
435 440 445

Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys
450 455 460

Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu
465 470 475 480

Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser
485 490 495

Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu
500 505 510

Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser
515 520 525

Ser Leu Ala Leu Ala Ile Xaa
530 535

<210> 20
<211> 568
<212> PRT
<213> H5N1

<400> 20

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Gly Gly Val Lys
50 55 60

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
65 70 75 80

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val
85 90 95

Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
100 105 110

Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu
115 120 125

Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser
130 135 140

Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Phe Tyr
145 150 155 160

Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asp Thr Tyr Pro Thr Ile
165 170 175

Lys Glu Ser Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
180 185 190

Gly Ile His His Pro Asn Asn Glu Glu Glu Gln Lys Arg Ile Tyr Lys
195 200 205

Asn Pro Thr Thr Tyr Val Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
210 215 220

Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly
225 230 235 240

Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn
245 250 255

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile
260 265 270

Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly
275 280 285

Asn Cys Ser Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Thr Ser
290 295 300

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
305 310 315 320

Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser
325 330 335

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Pro Gln Gly Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile
340 345 350

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

Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys
370 375 380

Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser
385 390 395 400

Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe
405 410 415

Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp
420 425 430

Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met
435 440 445

Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Arg Asn Leu
450 455 460

Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly
465 470 475 480

Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu
485 490 495

Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala
500 505 510

Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly
515 520 525

Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala
530 535 540

Leu Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Phe Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly
545 550 555 560

Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 21

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

<211> 568
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (375)..(375)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 21

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys
50 55 60

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
65 70 75 80

Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val
85 90 95

Glu Lys Thr Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
100 105 110

Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu
115 120 125

Lys Ile Lys Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser
130 135 140

Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Glu Pro Ser Phe Tyr
145 150 155 160

Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile
165 170 175

Lys Glu Ser Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
180 185 190

Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Thr Arg Ile Tyr Lys
195 200 205

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
210 215 220

Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly
225 230 235 240

Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn
245 250 255

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile
260 265 270

Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly
275 280 285

Asn Cys Ser Thr Lys Cys Gln Thr Pro Val Gly Ala Ile Asn Ser Ser
290 295 300

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
305 310 315 320

Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser
325 330 335

Pro Gln Gly Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile
340 345 350

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

Gly Tyr His His Ser Asn Xaa Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Arg
370 375 380

Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser
385 390 395 400

Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe
405 410 415

Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp
420 425 430

Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met
435 440 445

Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu
450 455 460

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly
465 470 475 480

Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Ile Glu
485 490 495

Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala
500 505 510

Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly
515 520 525

Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala
530 535 540

Leu Ala Ile Ile Val Ala Gly Leu Phe Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly
545 550 555 560

Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 22
<211> 568
<212> PRT
<213> H5N1

<400> 22

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys
50 55 60

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
65 70 75 80

Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val
85 90 95

Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
100 105 110

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu
115 120 125

Lys Ile Lys Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser
130 135 140

Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Arg Gly Pro Ser Phe Tyr
145 150 155 160

Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile
165 170 175

Lys Lys Ser Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
180 185 190

Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Thr Arg Ile Tyr Lys
195 200 205

Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
210 215 220

Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly
225 230 235 240

Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn
245 250 255

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile
260 265 270

Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly
275 280 285

Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser
290 295 300

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
305 310 315 320

Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser
325 330 335

Pro Gln Gly Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile
340 345 350

Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr

355 140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing 360 365

Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys
370 375 380

Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser
385 390 395 400

Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe
405 410 415

Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp
420 425 430

Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met
435 440 445

Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu
450 455 460

Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly
465 470 475 480

Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu
485 490 495

Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala
500 505 510

Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly
515 520 525

Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala
530 535 540

Leu Ala Ile Met Met Ala Gly Leu Phe Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly
545 550 555 560

Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 23
<211> 568
<212> PRT
<213> H5N1

<400> 23

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser

1 5 10 15
 Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
 20 25 30
 Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
 35 40 45
 Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys
 50 55 60
 Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
 65 70 75 80
 Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val
 85 90 95
 Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
 100 105 110
 Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu
 115 120 125
 Lys Ile Lys Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser
 130 135 140
 Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Phe Tyr
 145 150 155 160
 Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile
 165 170 175
 Lys Glu Ser Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
 180 185 190
 Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Thr Arg Ile Tyr Lys
 195 200 205
 Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Ile Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
 210 215 220
 Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Arg Gly
 225 230 235 240
 Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn
 245 250 255

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile
260 265 270

Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly
275 280 285

Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser
290 295 300

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
305 310 315 320

Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser
325 330 335

Pro Gln Gly Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile
340 345 350

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

Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys
370 375 380

Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser
385 390 395 400

Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe
405 410 415

Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp
420 425 430

Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met
435 440 445

Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu
450 455 460

Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly
465 470 475 480

Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu
485 490 495

Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala
500 505 510

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly
515 520 525

Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala
530 535 540

Leu Ala Ile Met Met Ala Gly Leu Phe Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly
545 550 555 560

Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 24
<211> 568
<212> PRT
<213> H5N1

<400> 24

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys
50 55 60

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
65 70 75 80

Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val
85 90 95

Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
100 105 110

Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu
115 120 125

Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser
130 135 140

Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Glu Pro Ser Phe Tyr
145 150 155 160

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile
165 170 175

Lys Glu Ser Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
180 185 190

Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Lys Arg Ile Tyr Lys
195 200 205

Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
210 215 220

Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Pro Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly
225 230 235 240

Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn
245 250 255

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Lys Asn Ala Tyr Lys Ile
260 265 270

Val Lys Lys Gly Ser Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly
275 280 285

Asn Cys Ser Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser
290 295 300

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
305 310 315 320

Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser
325 330 335

Pro Gln Gly Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile
340 345 350

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

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

Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser
385 390 395 400

Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe
405 410 415

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp
420 425 430

Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met
435 440 445

Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Arg Asn Leu
450 455 460

Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly
465 470 475 480

Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu
485 490 495

Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Lys Glu Ala
500 505 510

Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly
515 520 525

Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Thr Ser Ser Leu Ala
530 535 540

Leu Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly
545 550 555 560

Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
565

<210> 25
<211> 556
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (556)..(556)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 25

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
1 5 10 15

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
20 25 30

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys
50 55 60

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
65 70 75 80

Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val
85 90 95

Glu Lys Thr Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
100 105 110

Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu
115 120 125

Lys Ile Lys Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser
130 135 140

Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Arg Pro Ser Phe Tyr
145 150 155 160

Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile
165 170 175

Lys Glu Ser Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
180 185 190

Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Thr Arg Ile Tyr Lys
195 200 205

Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Ile Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
210 215 220

Leu Ile Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly
225 230 235 240

Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn
245 250 255

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile
260 265 270

Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly
275 280 285

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser
 290 295 300

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
 305 310 315 320

Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser
 325 330 335

Pro Gln Gly Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile
 340 345 350

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

Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys
 370 375 380

Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser
 385 390 395 400

Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe
 405 410 415

Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp
 420 425 430

Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met
 435 440 445

Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu
 450 455 460

Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly
 465 470 475 480

Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu
 485 490 495

Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala
 500 505 510

Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly
 515 520 525

Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala
 530 535 540

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Leu Ala Ile Met Met Ala Gly Leu Phe Leu Trp Xaa
545 550 555

<210> 26
<211> 554
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (554)..(554)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 26

Xaa Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile
1 5 10 15

Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu
20 25 30

Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His
35 40 45

Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg
50 55 60

Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu
65 70 75 80

Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro
85 90 95

Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu Glu Leu
100 105 110

Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile
115 120 125

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

Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Glu Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val Val Trp
145 150 155 160

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Leu Ile Lys Lys Asn 165 Asn Thr Tyr Pro Thr 170 Ile Lys Glu Asn 175 Tyr His
 Asn Thr Asn Gln 180 Glu Asp Leu Leu Val 185 Leu Trp Gly Ile His 190 His Pro
 Asn Asp Glu 195 Glu Glu Gln Lys Arg 200 Ile Tyr Lys Asn 205 Pro Thr Thr Tyr
 Ile Ser Val 210 Gly Thr Ser Thr 215 Leu Asn Gln Arg Leu Val 220 Pro Lys Ile
 Ala Thr Arg Pro Lys Val 230 Asn Gly Gln Ser Gly 235 Arg Val Glu Phe Phe 240
 Trp Thr Ile Leu Lys 245 Ser Asn Asp Thr Ile 250 Asn Phe Glu Ser Asn Gly 255
 Asn Phe Ile Ala 260 Pro Lys Asn Ala Tyr 265 Lys Ile Val Lys Lys 270 Gly Ser
 Ser Thr Ile 275 Met Lys Ser Glu Leu 280 Glu Tyr Gly Asn Cys 285 Ser Thr Lys
 Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala 295 Ile Asn Ser Ser Met 300 Pro Phe His Asn
 Ile His Pro Leu Thr Ile 310 Gly Glu Cys Pro Lys 315 Tyr Val Lys Ser Asn 320
 Arg Leu Val Leu Ala 325 Thr Gly Leu Arg Asn 330 Ser Pro Gln Gly Glu Gly 335
 Arg Arg Lys Lys 340 Arg Gly Leu Phe Gly 345 Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu 350
 Gly Gly Trp 355 Gln Gly Met Val Asp 360 Gly Trp Tyr Gly Tyr 365 His His Ser
 Asn Glu Gln Gly Thr Gly Tyr 375 Ala Ala Asp Lys Glu 380 Ser Thr Gln Lys
 Ala Ile Asp Gly Val Thr 390 Asn Lys Val Asn Ser 395 Ile Ile Asp Lys Met 400
 Asn Thr Gln Phe Glu 405 Ala Val Gly Arg Glu 410 Phe Asn Asn Leu Glu 415 Lys

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val
420 425 430

Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr
435 440 445

Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Arg Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg
450 455 460

Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu
465 470 475 480

Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly
485 490 495

Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Lys Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu
500 505 510

Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu
515 520 525

Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile Met Val
530 535 540

Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met Cys Ser Xaa
545 550

<210> 27
<211> 564
<212> PRT
<213> H5N1

<400> 27

Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys
1 5 10 15

Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met
20 25 30

Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr
35 40 45

His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu
50 55 60

Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp
65 70 75 80

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn
85 90 95

Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu Glu
100 105 110

Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Gln Ile
115 120 125

Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser Leu Gly Val Ser
130 135 140

Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Glu Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val Val
145 150 155 160

Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile Lys Glu Asn Tyr
165 170 175

His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His
180 185 190

Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Lys Arg Ile Tyr Lys Asn Pro Thr Thr
195 200 205

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

Ile Ala Thr Arg Pro Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu Phe
225 230 235 240

Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn Phe Glu Ser Asn
245 250 255

Gly Asn Phe Ile Ala Pro Lys Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly
260 265 270

Ser Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Ser Thr
275 280 285

Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe His
290 295 300

Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser
305 310 315 320

Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu

Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile
340 345 350

Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His
355 360 365

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

Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys
385 390 395 400

Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu
405 410 415

Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp
420 425 430

Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg
435 440 445

Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Arg Asn Leu Tyr Asp Lys Val
450 455 460

Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe
465 470 475 480

Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn
485 490 495

Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Lys Glu Ala Arg Leu Lys Arg
500 505 510

Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile
515 520 525

Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile Met
530 535 540

Val Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys
545 550 555 560

Arg Ile Cys Ile

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

<210> 28
<211> 553
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 28

Xaa Val Leu Leu Leu Ala Ile Ile Ser Leu Val Lys Ser Asp Gln Ile
1 5 10 15

Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile
20 25 30

Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys
35 40 45

Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile
50 55 60

Leu Arg Gly Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys
65 70 75 80

Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile
85 90 95

Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu
100 105 110

Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Gln
115 120 125

Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser Leu Gly Val
130 135 140

Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Glu Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val
145 150 155 160

Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile Lys Glu Ser
165 170 175

Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His
180 185 190

His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Lys Arg Ile Tyr Lys Asn Pro Thr
195 200 205

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro
 210 215 220

Lys Ile Ala Thr Arg Pro Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu
 225 230 235 240

Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn Phe Glu Ser
 245 250 255

Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Lys Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys
 260 265 270

Gly Ser Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Ser
 275 280 285

Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe
 290 295 300

His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys
 305 310 315 320

Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly
 325 330 335

Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 340 345 350

Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
 355 360 365

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

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

Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu
 405 410 415

Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu
 420 425 430

Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu
 435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Arg Asn Leu Tyr Asp Lys

450

455

460

Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys
 465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg
 485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Lys Glu Ala Arg Leu Lys
 500 505 510

Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln
 515 520 525

Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile
 530 535 540

Met Val Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met
 545 550

<210> 29
 <211> 558
 <212> PRT
 <213> H5N1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (558)..(558)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 29

Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser Asp Gln Ile
 1 5 10 15

Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile
 20 25 30

Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys
 35 40 45

Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile
 50 55 60

Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys
 65 70 75 80

Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile
 85 90 95

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu
100 105 110

Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Lys
115 120 125

Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser Leu Gly Val
130 135 140

Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val
145 150 155 160

Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile Lys Lys Ser
165 170 175

Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His
180 185 190

His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Thr Arg Ile Tyr Lys Asn Pro Thr
195 200 205

Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro
210 215 220

Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu
225 230 235 240

Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn Phe Glu Ser
245 250 255

Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys
260 265 270

Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu His Gly Asn Cys Asn
275 280 285

Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe
290 295 300

His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys
305 310 315 320

Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly
325 330 335

Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
340 345 350

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
355 360 365

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

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

Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu
405 410 415

Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu
420 425 430

Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu
435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys
450 455 460

Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys
465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg
485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Asn
500 505 510

Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln
515 520 525

Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile
530 535 540

Met Met Ala Gly Leu Phe Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly Xaa
545 550 555

<210> 30
<211> 557
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (130)..(130)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 30

Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly
1 5 10 15

Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys
20 25 30

Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn
35 40 45

Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp
50 55 60

Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe
65 70 75 80

Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala
85 90 95

Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu Glu Leu Lys
100 105 110

His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Lys Ile Ile Pro
115 120 125

Lys Xaa Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser Leu Gly Val Ser Ser Ala
130 135 140

Cys Pro Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val Val Trp Leu
145 150 155 160

Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile Lys Glu Ser Tyr His Asn
165 170 175

Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn
180 185 190

Asp Glu Glu Glu Gln Thr Arg Ile Tyr Lys Asn Pro Thr Thr Tyr Ile
195 200 205

Ser Ile Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala
210 215 220

Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu Phe Phe Trp
225 230 235 240

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn
245 250 255

Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser
260 265 270

Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Asn Thr Lys Cys
275 280 285

Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile
290 295 300

His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg
305 310 315 320

Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Gly Arg
325 330 335

Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly
340 345 350

Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn
355 360 365

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

Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn
385 390 395 400

Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Lys Arg
405 410 415

Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp
420 425 430

Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu
435 440 445

Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu
450 455 460

Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe
465 470 475 480

Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr
485 490 495

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu
500 505 510

Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser
515 520 525

Ile Tyr Ser Thr Val Ala Gly Ser Leu Ala Leu Ala Ile Met Met Ala
530 535 540

Gly Leu Phe Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln
545 550 555

<210> 31
<211> 547
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (547)..(547)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 31

Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser Asp Gln Ile
1 5 10 15

Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile
20 25 30

Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys
35 40 45

Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile
50 55 60

Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys
65 70 75 80

Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile
85 90 95

Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu
100 105 110

Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Lys
115 120 125

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser Leu Gly Val
 130 135 140
 Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Glu Gly Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val
 145 150 155 160
 Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile Lys Lys Ser
 165 170 175
 Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His
 180 185 190
 His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Thr Arg Ile Tyr Lys Asn Pro Thr
 195 200 205
 Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro
 210 215 220
 Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu
 225 230 235 240
 Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn Phe Glu Ser
 245 250 255
 Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys
 260 265 270
 Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Asn
 275 280 285
 Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe
 290 295 300
 His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys
 305 310 315 320
 Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly
 325 330 335
 Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
 340 345 350
 Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
 355 360 365
 His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr
 370 375 380

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

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

Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu
405 410 415

Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu
420 425 430

Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu
435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys
450 455 460

Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys
465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg
485 490 495

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys
500 505 510

Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln
515 520 525

Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile
530 535 540

Met Val Xaa
545

<210> 32
<211> 547
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (154)..(154)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (329)..(329)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
<221> misc_feature

<222> (547)..(547)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 32

Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser Asp Gln Ile
 1 5 10 15

Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile
 20 25 30

Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys
 35 40 45

Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile
 50 55 60

Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys
 65 70 75 80

Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile
 85 90 95

Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu
 100 105 110

Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Lys
 115 120 125

Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser Leu Gly Val
 130 135 140

Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Gly Xaa Ser Phe Tyr Arg Asn Val
 145 150 155 160

Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile Lys Glu Ser
 165 170 175

Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His
 180 185 190

His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Thr Arg Ile Tyr Lys Asn Pro Thr
 195 200 205

Thr Tyr Ile Ser Ile Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro
 210 215 220

Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu
 225 230 235 240

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn Phe Glu Ser
245 250 255

Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys
260 265 270

Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Asn
275 280 285

Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe
290 295 300

His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys
305 310 315 320

Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Xaa Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly
325 330 335

Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe
340 345 350

Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His
355 360 365

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

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

Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu
405 410 415

Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu
420 425 430

Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu
435 440 445

Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys
450 455 460

Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys
465 470 475 480

Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg

Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys
 500 505 510

Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln
 515 520 525

Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Gly Ser Leu Ala Leu Ala Ile
 530 535 540

Met Val Xaa
 545

<210> 33
 <211> 559
 <212> PRT
 <213> H5N1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 33

Xaa Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys
 1 5 10 15

Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met
 20 25 30

Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr
 35 40 45

His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu
 50 55 60

Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp
 65 70 75 80

Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn
 85 90 95

Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu Glu
 100 105 110

Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Gln Ile
 115 120 125

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser Leu Gly Val Ser
130 135 140

Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Glu Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val Val
145 150 155 160

Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile Lys Glu Asn Tyr
165 170 175

His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His
180 185 190

Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Lys Arg Ile Tyr Lys Asn Pro Thr Thr
195 200 205

Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Thr Gln Arg Leu Val Pro Lys
210 215 220

Ile Ala Thr Arg Pro Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu Phe
225 230 235 240

Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn Phe Glu Ser Asn
245 250 255

Gly Asn Phe Ile Ala Pro Lys Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly
260 265 270

Ser Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Ser Thr
275 280 285

Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe His
290 295 300

Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser
305 310 315 320

Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu
325 330 335

Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile
340 345 350

Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His
355 360 365

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

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys
385 390 395 400

Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu
405 410 415

Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp
420 425 430

Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg
435 440 445

Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Arg Asn Leu Tyr Asp Lys Val
450 455 460

Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe
465 470 475 480

Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn
485 490 495

Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Lys Glu Ala Arg Leu Lys Arg
500 505 510

Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile
515 520 525

Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile Met
530 535 540

Val Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln
545 550 555

<210> 34
<211> 554
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (554)..(554)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 34

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Xaa Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser
1 5 10 15

Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His
20 25 30

Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu
35 40 45

Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp
50 55 60

Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp
65 70 75 80

Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro
85 90 95

Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile
100 105 110

Asn Arg Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp
115 120 125

His Glu Ala Ser Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Glu
130 135 140

Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr
145 150 155 160

Tyr Pro Thr Ile Lys Glu Ser Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu
165 170 175

Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Lys
180 185 190

Arg Ile Tyr Lys Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr
195 200 205

Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Pro Lys Val Asn
210 215 220

Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn
225 230 235 240

Asp Thr Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Lys Asn
245 250 255

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Ser Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu
260 265 270

Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Ser Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala
275 280 285

Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly
290 295 300

Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly
305 310 315 320

Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu
325 330 335

Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val
340 345 350

Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Thr Gly Tyr
355 360 365

Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn
370 375 380

Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val
385 390 395 400

Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys
405 410 415

Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu
420 425 430

Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
435 440 445

Val Arg Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala
450 455 460

Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn
465 470 475 480

Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr
485 490 495

Ser Lys Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 500 505 510

Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala
 515 520 525

Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Ser Leu Trp Met
 530 535 540

Cys Ser Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Xaa
 545 550

<210> 35
 <211> 537
 <212> PRT
 <213> H5N1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (537)..(537)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 35

Xaa Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu
 1 5 10 15

Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln
 20 25 30

Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly
 35 40 45

Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu
 50 55 60

Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr
 65 70 75 80

Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn
 85 90 95

Phe Asn Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg
 100 105 110

Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu
 115 120 125

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Ala Ser Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Glu Pro Ser
130 135 140

Phe Tyr Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro
145 150 155 160

Thr Ile Lys Glu Asn Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val
165 170 175

Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Lys Arg Ile
180 185 190

Tyr Lys Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn
195 200 205

Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Pro Lys Val Asn Gly Gln
210 215 220

Ser Gly Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr
225 230 235 240

Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Lys Asn Ala Tyr
245 250 255

Lys Ile Val Lys Lys Gly Ser Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu
260 265 270

Tyr Gly Asn Cys Ser Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn
275 280 285

Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys
290 295 300

Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg
305 310 315 320

Asn Ser Pro Gln Gly Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly
325 330 335

Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly
340 345 350

Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Thr Gly Tyr Ala Ala
355 360 365

Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val

370 140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing 380

Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg
385 390 395 400

Glu Phe Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met
405 410 415

Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val
420 425 430

Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Arg
435 440 445

Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu
450 455 460

Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Lys Cys Asp Asn Glu Cys
465 470 475 480

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

Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser
500 505 510

Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser
515 520 525

Leu Ala Leu Ala Ile Met Val Ala Xaa
530 535

<210> 36
<211> 554
<212> PRT
<213> H5N1

<400> 36

Lys Gly Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu
1 5 10 15

Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln
20 25 30

Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly
35 40 45

Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu
Página 83

50 140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing 55 60

Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr
65 70 75 80

Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn
85 90 95

Phe Asn Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg
100 105 110

Phe Glu Lys Ile Lys Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu
115 120 125

Ala Ser Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Gly Pro Ser
130 135 140

Phe Tyr Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro
145 150 155 160

Thr Ile Lys Glu Ser Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val
165 170 175

Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Thr Arg Ile
180 185 190

Tyr Lys Asn Pro Asn Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn
195 200 205

Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln
210 215 220

Ser Gly Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr
225 230 235 240

Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr
245 250 255

Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu
260 265 270

Tyr Gly Asn Cys Ser Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn
275 280 285

Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys
290 295 300

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg
 305 310 315 320
 Asn Ser Pro Gln Glu Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly
 325 330 335
 Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly
 340 345 350
 Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala
 355 360 365
 Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val
 370 375 380
 Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg
 385 390 395 400
 Glu Phe Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met
 405 410 415
 Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val
 420 425 430
 Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys
 435 440 445
 Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu
 450 455 460
 Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys
 465 470 475 480
 Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu
 485 490 495
 Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser
 500 505 510
 Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser
 515 520 525
 Leu Ala Leu Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Phe Leu Trp Met Cys Ser
 530 535 540
 Asn Gly Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 545 550

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

<210> 37
 <211> 511
 <212> PRT
 <213> H5N1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (182)..(182)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (200)..(200)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (511)..(511)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 37

Xaa His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys
 1 5 10 15

Asn Ile Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn
 20 25 30

Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp
 35 40 45

Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe
 50 55 60

Leu Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala
 65 70 75 80

Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu Glu Leu Lys
 85 90 95

His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Ser
 100 105 110

Lys Asn Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser Leu Gly Val Ser Ala Ala
 115 120 125

Cys Pro Tyr Gln Gly Gly Leu Ser Phe Tyr Arg Asn Val Val Trp Leu
 130 135 140

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Ile Glu Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Leu Ile Lys Lys Asn Tyr His Asn
145 150 155 160

Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn
165 170 175

Asp Glu Ala Glu Gln Xaa Arg Leu Tyr Lys Asn Ser Thr Thr Tyr Ile
180 185 190

Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Xaa Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala
195 200 205

Thr Arg Pro Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu Phe Phe Trp
210 215 220

Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Val Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn
225 230 235 240

Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser
245 250 255

Thr Ile Met Lys Ser Asp Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Ser Thr Lys Cys
260 265 270

Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile
275 280 285

His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg
290 295 300

Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Arg Arg
305 310 315 320

Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly
325 330 335

Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn
340 345 350

Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala
355 360 365

Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn
370 375 380

Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Arg Arg

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 385 390 395 400

Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp
 405 410 415

Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu
 420 425 430

Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu
 435 440 445

Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe
 450 455 460

Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr
 465 470 475 480

Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu
 485 490 495

Ile Ser Gly Ala Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Xaa
 500 505 510

<210> 38
 <211> 537
 <212> PRT
 <213> H5N1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 38

Xaa Leu Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn
 1 5 10 15

Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr
 20 25 30

His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp
 35 40 45

Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly
 50 55 60

Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu
 65 70 75 80

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr
85 90 95

Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg
100 105 110

Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Lys Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro
115 120 125

Asp His Glu Ala Ser Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Arg
130 135 140

Gly Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn
145 150 155 160

Thr Tyr Pro Thr Ile Lys Lys Ser Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp
165 170 175

Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln
180 185 190

Thr Arg Ile Tyr Lys Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser
195 200 205

Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val
210 215 220

Asn Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser
225 230 235 240

Asn Asp Thr Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu
245 250 255

Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser
260 265 270

Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly
275 280 285

Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile
290 295 300

Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr
305 310 315 320

Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly
325 330 335

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met
340 345 350

Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly
355 360 365

Tyr Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr
370 375 380

Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala
385 390 395 400

Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn
405 410 415

Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu
420 425 430

Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser
435 440 445

Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn
450 455 460

Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp
465 470 475 480

Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Lys Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln
485 490 495

Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys
500 505 510

Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val
515 520 525

Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile Met
530 535

<210> 39
<211> 534
<212> PRT
<213> H5N1

<400> 39

Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu
1 5 10 15

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln
20 25 30

Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly
35 40 45

Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu
50 55 60

Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr
65 70 75 80

Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn
85 90 95

Phe Asn Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg
100 105 110

Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu
115 120 125

Ala Ser Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Gly Pro Ser
130 135 140

Phe Tyr Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asp Thr Tyr Pro
145 150 155 160

Thr Ile Lys Glu Ser Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val
165 170 175

Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Lys Arg Ile
180 185 190

Tyr Lys Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn
195 200 205

Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln
210 215 220

Ser Gly Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr
225 230 235 240

Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr
245 250 255

Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu

Tyr Gly Asn Cys Ser Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn
275 280 285

Thr Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys
290 295 300

Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg
305 310 315 320

Asn Ser Pro Gln Gly Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly
325 330 335

Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly
340 345 350

Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala
355 360 365

Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asn Gly Val Thr Asn Lys Val
370 375 380

Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg
385 390 395 400

Glu Phe Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met
405 410 415

Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val
420 425 430

Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Arg
435 440 445

Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu
450 455 460

Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys
465 470 475 480

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

Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser
500 505 510

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser
 515 520 525

Leu Ala Leu Ala Ile Met
 530

<210> 40
 <211> 536
 <212> PRT
 <213> H5N1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (311)..(311)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 40

Xaa Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser
 1 5 10 15

Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His
 20 25 30

Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu
 35 40 45

Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp
 50 55 60

Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp
 65 70 75 80

Ser Tyr Ile Val Glu Lys Thr Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro
 85 90 95

Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile
 100 105 110

Asn Arg Phe Glu Lys Ile Lys Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp
 115 120 125

His Glu Ala Ser Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Glu
 130 135 140

Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr
 Página 93

145	140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing 160														
Tyr	Pro	Thr	Ile	Lys 165	Glu	Ser	Tyr	His	Asn 170	Thr	Asn	Gln	Glu	Asp 175	Leu
Leu	Val	Leu	Trp 180	Gly	Ile	His	His	Pro 185	Asn	Asp	Glu	Glu	Glu 190	Gln	Thr
Arg	Ile	Tyr 195	Lys	Asn	Pro	Thr	Thr 200	Tyr	Ile	Ser	Val	Gly 205	Thr	Ser	Thr
Leu	Asn 210	Gln	Arg	Leu	Val	Pro 215	Lys	Ile	Ala	Thr	Arg 220	Ser	Lys	Val	Asn
Gly 225	Gln	Ser	Gly	Arg	Val 230	Glu	Phe	Phe	Trp	Thr 235	Ile	Leu	Lys	Ser	Asn 240
Asp	Thr	Ile	Asn	Phe 245	Glu	Ser	Asn	Gly	Asn 250	Phe	Ile	Ala	Pro	Glu 255	Asn
Ala	Tyr	Lys	Ile 260	Val	Lys	Lys	Gly	Asp 265	Ser	Thr	Ile	Met	Lys 270	Ser	Glu
Leu	Glu	Tyr 275	Gly	Asn	Cys	Ser	Thr 280	Lys	Cys	Gln	Thr	Pro 285	Val	Gly	Ala
Ile	Asn 290	Ser	Ser	Met	Pro	Phe 295	His	Asn	Ile	His	Pro 300	Leu	Thr	Ile	Gly
Glu 305	Cys	Pro	Lys	Tyr	Val 310	Xaa	Ser	Asn	Arg	Leu 315	Val	Leu	Ala	Thr	Gly 320
Leu	Arg	Asn	Ser	Pro 325	Gln	Gly	Glu	Gly	Arg 330	Arg	Lys	Lys	Arg	Gly 335	Leu
Phe	Gly	Ala	Ile 340	Ala	Gly	Phe	Ile	Glu 345	Gly	Gly	Trp	Gln	Gly 350	Met	Val
Asp	Gly	Trp 355	Tyr	Gly	Tyr	His	His 360	Ser	Asn	Glu	Gln	Gly 365	Ser	Gly	Tyr
Ala	Ala 370	Asp	Arg	Glu	Ser	Thr 375	Gln	Lys	Ala	Ile	Asp 380	Gly	Val	Thr	Asn
Lys 385	Val	Asn	Ser	Ile	Ile 390	Asp	Lys	Met	Asn	Thr 395	Gln	Phe	Glu	Ala	Val 400

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys
405 410 415

Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu
420 425 430

Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn
435 440 445

Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala
450 455 460

Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn
465 470 475 480

Glu Cys Ile Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr
485 490 495

Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu
500 505 510

Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala
515 520 525

Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile Met
530 535

<210> 41
<211> 515
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (515)..(515)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 41

Xaa Leu Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn
1 5 10 15

Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr
20 25 30

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

35

40

45

Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly
 50 55 60

Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu
 65 70 75 80

Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr
 85 90 95

Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg
 100 105 110

Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro
 115 120 125

Asp His Glu Ala Ser Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly
 130 135 140

Gly Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asp
 145 150 155 160

Thr Tyr Pro Thr Ile Lys Glu Ser Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp
 165 170 175

Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln
 180 185 190

Lys Arg Ile Tyr Lys Asn Pro Thr Thr Tyr Val Ser Val Gly Thr Ser
 195 200 205

Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val
 210 215 220

Asn Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser
 225 230 235 240

Asn Asp Thr Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu
 245 250 255

Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser
 260 265 270

Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Ser Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly
 275 280 285

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
Ala Ile Asn Thr Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile
290 295 300

Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr
305 310 315 320

Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly
325 330 335

Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met
340 345 350

Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly
355 360 365

Tyr Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr
370 375 380

Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala
385 390 395 400

Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn
405 410 415

Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu
420 425 430

Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser
435 440 445

Asn Val Arg Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn
450 455 460

Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp
465 470 475 480

Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln
485 490 495

Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys
500 505 510

Leu Glu Xaa
515

<210> 42
<211> 519
<212> PRT

<213> H5N1

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>

<221> misc_feature

<222> (517)..(517)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 42

Xaa Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser
1 5 10 15

Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His
20 25 30

Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asn Leu
35 40 45

Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp
50 55 60

Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Lys Phe Leu Asn Val Pro Glu Trp
65 70 75 80

Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro
85 90 95

Gly Asp Phe Asn Asp Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile
100 105 110

Asn His Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Asn Ser Trp Ser Asp
115 120 125

His Glu Ala Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Arg Ser
130 135 140

Ser Phe Phe Arg Asn Val Val Trp Leu Thr Lys Lys Asn Asn Ala Tyr
145 150 155 160

Pro Thr Ile Lys Lys Ser Tyr Asn Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu
165 170 175

Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp Ala Ala Glu Gln Thr Met
180 185 190

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Leu Tyr Gln Asn Pro Thr Thr Tyr Val Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu
195 200 205

Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly
210 215 220

Gln Ser Gly Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp
225 230 235 240

Ala Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala
245 250 255

Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu
260 265 270

Glu Tyr Gly Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile
275 280 285

Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu
290 295 300

Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu
305 310 315 320

Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Arg Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe
325 330 335

Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly Trp Gln Gly Met Val Asp
340 345 350

Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala
355 360 365

Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys
370 375 380

Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly
385 390 395 400

Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys
405 410 415

Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu
420 425 430

Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val
435 440 445

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys
450 455 460

Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu
465 470 475 480

Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser
485 490 495

Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu
500 505 510

Ser Ile Gly Thr Xaa Gln Ile
515

<210> 43
<211> 510
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (507)..(507)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
<221> misc_feature
<222> (510)..(510)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 43

Xaa His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys
1 5 10 15

Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn
20 25 30

Gly Lys Leu Cys Asn Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp
35 40 45

Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe
50 55 60

Pro Asn Val Leu Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala
65 70 75 80

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asp Tyr Glu Glu Leu Lys
85 90 95

His Leu Leu Ser Arg Ile Asn His Phe Glu Lys Ile Gln Ile Ile Pro
100 105 110

Lys Asn Ser Trp Ser Asp His Glu Ala Ser Gly Val Ser Ser Ala Cys
115 120 125

Pro Tyr Gln Arg Arg Ser Ser Phe Phe Arg Asn Val Val Trp Leu Thr
130 135 140

Lys Lys Asn Asn Ala Tyr Pro Thr Ile Lys Lys Ser Tyr Asn Asn Thr
145 150 155 160

Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp
165 170 175

Ala Ala Glu Gln Thr Arg Leu Tyr Gln Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser
180 185 190

Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr
195 200 205

Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Met Glu Phe Phe Trp Thr
210 215 220

Ile Leu Lys Ser Asn Asp Ala Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe
225 230 235 240

Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr
245 250 255

Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln
260 265 270

Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His
275 280 285

Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu
290 295 300

Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Arg Arg Arg
305 310 315 320

Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly
325 330 335

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu
340 345 350

Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile
355 360 365

Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr
370 375 380

Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Arg Arg Ile
385 390 395 400

Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr
405 410 415

Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp
420 425 430

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

Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr
450 455 460

His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr
465 470 475 480

Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile
485 490 495

Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Xaa Gln Ile Xaa
500 505 510

<210> 44
<211> 523
<212> PRT
<213> H5N1

<220>
<221> misc_feature
<222> (523)..(523)
<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 44

His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn
1 5 10 15

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn Gly
20 25 30

Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys
35 40 45

Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro
50 55 60

Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn
65 70 75 80

Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His
85 90 95

Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Lys Ile Ile Pro Lys
100 105 110

Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys
115 120 125

Pro Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val Val Trp Leu Ile
130 135 140

Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile Lys Lys Ser Tyr His Asn Thr
145 150 155 160

Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn Asp
165 170 175

Glu Glu Glu Gln Thr Arg Ile Tyr Lys Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser
180 185 190

Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr
195 200 205

Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr
210 215 220

Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe
225 230 235 240

Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr
245 250 255

Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln
260 265 270

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile His
275 280 285

Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu
290 295 300

Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Gly Arg Arg
305 310 315 320

Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly Gly
325 330 335

Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn Glu
340 345 350

Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile
355 360 365

Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr
370 375 380

Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile
385 390 395 400

Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr
405 410 415

Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp
420 425 430

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

Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr
450 455 460

His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr
465 470 475 480

Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile
485 490 495

Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ile Tyr
500 505 510

Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Xaa
515 520

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

<210> 45
 <211> 541
 <212> PRT
 <213> H5N1

<400> 45

Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly
 1 5 10 15

Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys
 20 25 30

Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn
 35 40 45

Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp
 50 55 60

Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe
 65 70 75 80

Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala
 85 90 95

Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu Glu Leu Lys
 100 105 110

His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Lys Ile Ile Pro
 115 120 125

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

Cys Pro Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val Val Trp Leu
 145 150 155 160

Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile Lys Glu Ser Tyr His Asn
 165 170 175

Ile Asn Lys Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn
 180 185 190

Asp Glu Glu Glu Gln Ile Arg Ile Tyr Lys Asn Pro Thr Thr Tyr Ile
 195 200 205

Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala
 210 215 220

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu Phe Phe Trp
225 230 235 240

Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn
245 250 255

Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser
260 265 270

Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Asn Thr Lys Cys
275 280 285

Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile
290 295 300

His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg
305 310 315 320

Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Gly Arg
325 330 335

Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly
340 345 350

Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn
355 360 365

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

Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn
385 390 395 400

Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Lys Arg
405 410 415

Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp
420 425 430

Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu
435 440 445

Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu
450 455 460

Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 465 470 475 480

Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr
 485 490 495

Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu
 500 505 510

Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser
 515 520 525

Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile
 530 535 540

<210> 46
 <211> 555
 <212> PRT
 <213> H5N1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (555)..(555)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

<400> 46

Xaa Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser Asp Gln Ile Cys Ile Gly
 1 5 10 15

Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val Asp Thr Ile Met Glu Lys
 20 25 30

Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile Leu Glu Lys Thr His Asn
 35 40 45

Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys Pro Leu Ile Leu Arg Asp
 50 55 60

Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn Pro Met Cys Asp Glu Phe
 65 70 75 80

Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val Glu Lys Ile Asn Pro Ala
 85 90 95

Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn Asn Tyr Glu Glu Leu Lys
 100 105 110

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu Lys Ile Lys Ile Ile Pro
115 120 125

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

Cys Pro Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Phe Tyr Arg Asn Val Val Trp Leu
145 150 155 160

Thr Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile Lys Lys Ser Tyr His Asn
165 170 175

Ile Asn Lys Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp Gly Ile His His Pro Asn
180 185 190

Asp Glu Glu Glu Gln Ile Arg Ile Tyr Lys Asn Pro Thr Thr Tyr Ile
195 200 205

Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg Leu Val Pro Lys Ile Ala
210 215 220

Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly Arg Val Glu Phe Phe Trp
225 230 235 240

Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn Phe Glu Ser Asn Gly Asn
245 250 255

Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile Val Lys Lys Gly Asp Ser
260 265 270

Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly Asn Cys Asn Thr Lys Cys
275 280 285

Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser Met Pro Phe His Asn Ile
290 295 300

His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys Tyr Val Lys Ser Asn Arg
305 310 315 320

Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser Pro Gln Gly Glu Gly Arg
325 330 335

Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Gly
340 345 350

Gly Trp Gln Gly Met Val Asp Gly Trp Tyr Gly Tyr His His Ser Asn

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 355 360 365

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

Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser Ile Ile Asp Lys Met Asn
 385 390 395 400

Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe Asn Asn Leu Glu Lys Arg
 405 410 415

Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp Gly Phe Leu Asp Val Trp
 420 425 430

Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met Glu Asn Glu Arg Thr Leu
 435 440 445

Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu Tyr Asp Lys Val Arg Leu
 450 455 460

Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly Asn Gly Cys Phe Glu Phe
 465 470 475 480

Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu Ser Val Arg Asn Gly Thr
 485 490 495

Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala Arg Leu Lys Arg Glu Glu
 500 505 510

Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly Thr Tyr Gln Ile Leu Ser
 515 520 525

Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala Leu Ala Ile Met Met Ala
 530 535 540

Gly Leu Phe Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly Xaa
 545 550 555

<210> 47
 <211> 568
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> secuencia de consenso traducida en proteína
 <400> 47

Met Glu Lys Ile Val Leu Leu Leu Ala Ile Val Ser Leu Val Lys Ser
 1 5 10 15

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

Asp Gln Ile Cys Ile Gly Tyr His Ala Asn Asn Ser Thr Glu Gln Val
20 25 30

Asp Thr Ile Met Glu Lys Asn Val Thr Val Thr His Ala Gln Asp Ile
35 40 45

Leu Glu Lys Thr His Asn Gly Lys Leu Cys Asp Leu Asp Gly Val Lys
50 55 60

Pro Leu Ile Leu Arg Asp Cys Ser Val Ala Gly Trp Leu Leu Gly Asn
65 70 75 80

Pro Met Cys Asp Glu Phe Pro Asn Val Ser Glu Trp Ser Tyr Ile Val
85 90 95

Glu Lys Ile Asn Pro Ala Asn Asp Leu Cys Tyr Pro Gly Asn Phe Asn
100 105 110

Asn Tyr Glu Glu Leu Lys His Leu Leu Ser Arg Ile Asn Arg Phe Glu
115 120 125

Lys Ile Gln Ile Ile Pro Lys Ser Ser Trp Pro Asp His Glu Ala Ser
130 135 140

Leu Gly Val Ser Ser Ala Cys Pro Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Phe Tyr
145 150 155 160

Arg Asn Val Val Trp Leu Ile Lys Lys Asn Asn Thr Tyr Pro Thr Ile
165 170 175

Lys Glu Ser Tyr His Asn Thr Asn Gln Glu Asp Leu Leu Val Leu Trp
180 185 190

Gly Ile His His Pro Asn Asp Glu Glu Glu Gln Thr Arg Ile Tyr Lys
195 200 205

Asn Pro Thr Thr Tyr Ile Ser Val Gly Thr Ser Thr Leu Asn Gln Arg
210 215 220

Leu Val Pro Lys Ile Ala Thr Arg Ser Lys Val Asn Gly Gln Ser Gly
225 230 235 240

Arg Val Glu Phe Phe Trp Thr Ile Leu Lys Ser Asn Asp Thr Ile Asn
245 250 255

Phe Glu Ser Asn Gly Asn Phe Ile Ala Pro Glu Asn Ala Tyr Lys Ile

260 140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing 265 270

Val Lys Lys Gly Asp Ser Thr Ile Met Lys Ser Glu Leu Glu Tyr Gly
275 280 285

Asn Cys Asn Thr Lys Cys Gln Thr Pro Ile Gly Ala Ile Asn Ser Ser
290 295 300

Met Pro Phe His Asn Ile His Pro Leu Thr Ile Gly Glu Cys Pro Lys
305 310 315 320

Tyr Val Lys Ser Asn Arg Leu Val Leu Ala Thr Gly Leu Arg Asn Ser
325 330 335

Pro Gln Gly Glu Gly Arg Arg Lys Lys Arg Gly Leu Phe Gly Ala Ile
340 345 350

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

Gly Tyr His His Ser Asn Glu Gln Gly Ser Gly Tyr Ala Ala Asp Lys
370 375 380

Glu Ser Thr Gln Lys Ala Ile Asp Gly Val Thr Asn Lys Val Asn Ser
385 390 395 400

Ile Ile Asp Lys Met Asn Thr Gln Phe Glu Ala Val Gly Arg Glu Phe
405 410 415

Asn Asn Leu Glu Lys Arg Ile Glu Asn Leu Asn Lys Lys Met Glu Asp
420 425 430

Gly Phe Leu Asp Val Trp Thr Tyr Asn Ala Glu Leu Leu Val Leu Met
435 440 445

Glu Asn Glu Arg Thr Leu Asp Phe His Asp Ser Asn Val Lys Asn Leu
450 455 460

Tyr Asp Lys Val Arg Leu Gln Leu Arg Asp Asn Ala Lys Glu Leu Gly
465 470 475 480

Asn Gly Cys Phe Glu Phe Tyr His Arg Cys Asp Asn Glu Cys Met Glu
485 490 495

Ser Val Arg Asn Gly Thr Tyr Asp Tyr Pro Gln Tyr Ser Glu Glu Ala
500 505 510

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing
 Arg Leu Lys Arg Glu Glu Ile Ser Gly Val Lys Leu Glu Ser Ile Gly
 515 520 525

Thr Tyr Gln Ile Leu Ser Ile Tyr Ser Thr Val Ala Ser Ser Leu Ala
 530 535 540

Leu Ala Ile Met Val Ala Gly Leu Phe Leu Trp Met Cys Ser Asn Gly
 545 550 555 560

Ser Leu Gln Cys Arg Ile Cys Ile
 565

<210> 48
 <211> 1620
 <212> ADN
 <213> H5N1

<400> 48
 caatagtcag tattgttaaa agtgatcaga tttgcattgg ttaccatgca aacaactcga 60
 cagagcaggt tgacacaata atggaaaaga acgtcactgt tacacacgcc caagacatac 120
 tggaaaagac acacaacggg aaactctgca atctagatgg agtgaagcct ctaattttaa 180
 gagattgtag tgtagctgga tggctcctag ggaaccaat gtgcgacgaa ttcctcaatg 240
 tgccggaatg gtcttacata gtggagaaga tcaatccaac caatgacctc tgttatccag 300
 ggaatttcaa cgactatgaa gaactgaaac acctattgag cagaataaac cattttgaga 360
 aaattcagat cattcccaa aattcttgggt cagatcatga agcctcagga gtgagctcag 420
 catgtccata ccagggaaga tcctcctttt ttagaaatgt ggtatggctt accaaaaaga 480
 acaatgcata cccaacaata aagaaaagtt acaataatac caaccaagaa gatcttttgg 540
 tattatgggg gattcaccat ccaaatgatg cggcagagca gacaaggctt tatcaaaacc 600
 caactaccta tatttccggt gggacatcaa cactaaacca gagattggta cccaaaatag 660
 ctactagatc taaggtaaac gggcaaagtg gaaggatgga gttcttttgg acaattttaa 720
 aatcgaatga tgcaataaac tttagagagta atggaaatct cattgctcca gaaaatgcat 780
 acaaaattgt caagaaagg gactcaacaa ttatgaaaag tgagttggaa tatggtgact 840
 gcaacaccaa gtgtcagact ccaatagggg cgataaaact cagtatgcca ttccacaaca 900
 tccaccctct caccatcggg gaatgcccc aatatgtgaa atcaaacaga ttagtccttg 960
 ctactgggct cagaaatagc cctcaaggag agagaagaag aaaaaagaga ggactatttg 1020
 gagctatagc aggttttata gagggaggat ggcagggaat ggtagatggg tggtaggggt 1080
 accaccatag caacgagcag gggagtgggt acgctgcaga caaagaatcc actcaaaagg 1140
 caatagatgg agtcaccaat aagggtcaact cgatcattga caaaatgaac actcagtttg 1200
 aggctgttgg gaggggaattt aataacttag aaaggagaat agaaaattta aacaagaaga 1260

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

tggaagacgg	attcctagat	gtctggactt	ataatgctga	acttctgggt	ctcatggaaa	1320
atgagagAAC	tctagacttt	catgactcaa	atgtcaagaa	cctttatgac	aaggtccgac	1380
tacagcttag	ggataatgca	aaggagcttg	gtaacgggtg	tttcgagttc	tatcacagat	1440
gtgataatga	atgtatggaa	agtgtaaagaa	acggtacgta	tgactacccg	cagtattcag	1500
aagaagcaag	attaaaaaaga	gaggaaaataa	gtggagtaaa	attggagtca	ataggaactt	1560
accaaatact	gtcaattttat	tcaacagtgg	cgagctccct	agcactggca	atcatgggtg	1620

<210> 49
 <211> 1707
 <212> ADN
 <213> H5N1

<400> 49	
atggagaaaa	tagtgcttct tcttgcaata gtcagtcttg ttaaaagtga tcagatttgc 60
attggttacc	atgcaaacaa ctcaacagag cagggtgaca caataatgga aaagaacgtc 120
actgttacac	acgctcaaga catactggaa aagacacaca atgggaaact ctgcatcta 180
ggtggagtga	agcctctaata tttaaagagat tgtagttag ctggatggct cctcgggaac 240
ccaatgtgtg	acgaattccc caatgtgtcg gaatggctct acatagtgga gaagatcaat 300
ccagccaatg	acctctgtta cccagggaaat ttcaacaact atgaagaact gaaacatcta 360
ttgagcagaa	taaaccgggt tgagaaaatt cagatcatcc ccaaaagttc ttggccagat 420
catgaagcct	cattaggagt gagctcagca tgtccatacc agggaggacc ctctttttat 480
agaaatgtgg	tatggcttat caaaaagaac gatacatacc caacaataaa ggaaagttac 540
cataatacca	atcaagaaga tcttttggtg ctgtggggga tccaccatcc aaataatgag 600
gaagaacaga	aaaggatcta taaaaacca actacatatg tttccgttgg gacatcaaca 660
ctaaaccaga	gattggtacc gaagatagcc actagatcta aggtaaacgg gcaaagtgga 720
agagtggagt	tcttttggac aatttttaaaa tcaaatgata caataaactt tgagagtaat 780
ggaaatttca	ttgctccaga aaatgcatac aaaattgtca agaaagggga ctcaacaatt 840
atgaaaagtg	agttggaata tggttaactgc agcaccaagt gtcaaactcc aataggggag 900
ataaacacca	gtatgccatt ccacaacatc caccctctca ccatcgggga atgccccaaa 960
tatgtgaaat	caaacagatt agtccttgct actgggctta gaaatagccc tcaaggagag 1020
ggaagaagaa	aaaagagagg actatttggg gctatagcag gttttataga gggaggatgg 1080
cagggaatgg	tagatgggtg gtatgggtac caccatagta acgagcaggg gagtgggtac 1140
gctgcagaca	aagaatccac tcaaaaggca atagatggag tcaccaataa ggtcaactcg 1200
atcattgaca	aaatgaatac tcagtttgag gctgttggga gggaatttaa taacttgga 1260
aagagaatag	aaaattttaa caagaagatg gaagacgggt tcctagatgt ctggacttat 1320

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

aatgctgaac	ttctggttct	catggaaaat	gagagaactc	tagactttca	tgactcaaat	1380
gtcaggaacc	tttacgacaa	ggtgcgacta	cagcttaggg	acaatgcaaa	ggagcttggt	1440
aacggttggt	tcgagttcta	tcacagatgc	gataatgaat	gtatggaaaag	tgtaagaaac	1500
ggaacgtatg	actacccgca	gtattcagaa	gaagcaagat	taaaaagaga	ggaaataagt	1560
ggagtaaaaat	tggaatcaat	aggaacttac	caaatactat	caattttattc	aacagtggca	1620
agttccctag	cactggcaat	catggtggct	ggtctatfff	tatggatgtg	ctccaatgga	1680
tcgttacaat	gcagaatttg	catttaa				1707

<210> 50
 <211> 1707
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> consenso de secuencias génicas H5 38

<400> 50						
atggagaaaa	tagtgcttct	tcttgcaata	gtcagtcttg	ttaaaagtga	tcagatttgc	60
attggttacc	atgcaaacaa	ctcaacagag	cagggtgaca	caataatgga	aaagaacgtc	120
actgttacac	acgctcaaga	catactggaa	aagacacaca	acgggaaaact	ctgcgatcta	180
gatggagtga	agcctcta	tttaagagat	tgtagttag	ctggatggct	cctcgggaac	240
ccaatgtgtg	acgaattccc	caatgtgtcg	gaatggtcct	acatagtgga	gaagatcaat	300
ccagccaatg	acctctgtta	cccagggaa	ttcaacaact	atgaagaact	gaaacaccta	360
ttgagcagaa	taaaccggtt	tgagaaaatt	cagatcatcc	ccaaaagttc	ttggccagat	420
catgaagcct	cattaggagt	gagctcagca	tgtccatacc	agggaggacc	ctccttttat	480
agaaatgtgg	tatggcttat	caaaaagaac	aatacatacc	caacaataaa	ggaaagttac	540
cataatacca	atcaagaaga	tcttttggtg	ctgtggggga	ttcaccatcc	aatgatgag	600
gaagagcaga	caaggatcta	taaaaaccca	actacctata	tttccgttgg	gacatcaaca	660
ctaaaccaga	gattggtacc	aaagatagcc	actagatcta	aggtaaacgg	gcaaagtgga	720
agagtggagt	tcttttggtg	aattttaaaa	tcaaatgata	caataaactt	tgagagtaat	780
ggaaatttca	ttgctccaga	aaatgcatac	aaaattgtca	agaaagggga	ctcaacaatt	840
atgaaaagtg	agttggaata	tggttaactgc	aacaccaagt	gtcaaaactcc	aataggggcg	900
ataaactcca	gtatgccatt	ccacaacatc	caccctctca	ccatcgggga	atgccccaaa	960
tatgtgaaat	caaacagatt	agtccttgct	actgggctca	gaaatagccc	tcaaggagag	1020
ggaagaagaa	aaaagagagg	actatttgga	gctatagcag	gttttataga	gggaggatgg	1080
cagggaaatgg	tagatggttg	gtatgggtac	caccatagca	acgagcaggg	gagtgggtac	1140

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

gctgcagaca aagaatccac tcaaaaggca atagatggag tcaccaataa ggtcaactcg	1200
atcattgaca aaatgaatac tcagtttgag gctgttgga ggaatttaa taacttgga	1260
aagagaatag aaaattttaa caagaagatg gaagacgggt tcctagatgt ctggacttat	1320
aatgctgaac ttctggttct catggaaaat gagagaactc tagactttca tgactcaaat	1380
gtcaagaacc ttacgacaa ggtgcgacta cagcttaggg acaatgcaa ggagcttggt	1440
aacggttggt tcgagttcta tcacagatgc gataatgaat gtatggaaag tgtaagaaac	1500
ggaacgtatg actacccgca gtattcagaa gaagcaagat taaaaagaga ggaaataagt	1560
ggagtaaaat tggaatcaat aggaacttac caatactat caattttattc aacagtggca	1620
agttccctag cactggcaat catggtgggt ggtctatttt tatggatgtg ctccaatgga	1680
tcgttacaat gcagaatttg catttaa	1707

<210> 51
 <211> 15186
 <212> ADN
 <213> Virus de la enfermedad de Newcastle

<400> 51	
accaaacaga gaatccgtga gttacgataa aaggcgaagg agcaattgaa gtcgcacggg	60
tagaagggtg gaatctcgag tgcgagcccg aagcacaaac tcgagaaagc cttctgcca	120
catgtcttcc gtatttgatg agtacgaaca gtcctcgcg gtcagactc gcccgaatgg	180
agctcatgga gggggagaaa aaggagtag cttaaaagta gacgtcccg tattcactct	240
taacagtgat gaccagaag atagatggag ctttgtgga ttctgcctcc ggattgctgt	300
tagcgaagat gccaacaaac cactcaggca aggtgctctc atatctcttt tatgctcca	360
ctcacaggta atgaggaacc atgttgccct tgcaggaaa cagaatgaag ccacattggc	420
cgtgcttgag attgatggct ttgccaacgg cacgccccag ttcaacaata ggagtggagt	480
gtctgaagag agagcacaga gatttgcgat gatagcagga tctctccctc gggcatgcag	540
caacggaacc ccgttcgtca cagccggggc cgaagatgat gcaccagaag acatcaccga	600
taccctggag aggatcctct ctatccaggc tcaagtatgg gtcacagtag caaaagccat	660
gactgcgtat gagactgcag atgagtcgga aacaaggcga atcaataagt atatgcagca	720
aggcagggtc caaaagaaat acatcctcta ccccgatgc aggagcaca tccaactcac	780
gatcagacag tctcttgag tccgcatctt tttggttagc gagctcaaga gaggccgcaa	840
cacggcagggt ggtacctcta cttattataa cctggtaggg gacgtagact catacatcag	900
gaataccggg cttactgcat tcttcttgac actcaagtac ggaatcaaca ccaagacatc	960
agcccttgca cttagtagcc tctcaggcga catccagaag atgaagcagc tcatgcgttt	1020
gtatcggatg aaaggagata atgcgccgta catgacatta cttggtgata gtgaccagat	1080

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

gagcttttgcg	cctgccgagt	atgcacaact	ttactccttt	gccatgggta	tggcatcagt	1140
cctagataaa	ggtactggga	aataccaatt	tgccagggac	tttatgagca	catcattctg	1200
gagacttggga	gtagagtacg	ctcaggctca	gggaagtagc	attaacgagg	atatggctgc	1260
cgagctaaaag	ctaacccccag	cagcaaggag	gggcctggca	gctgctgccc	aacgggtctc	1320
cgaggagacc	agcagcatag	acatgcctac	tcaacaagtc	ggagtcctca	ctgggcttag	1380
cgagggggggg	tcccaagctc	tacaaggcgg	atcgaataga	tcgcaagggc	aaccagaagc	1440
cggggatggg	gagacccaat	tcctggatct	gatgagagcg	gtagcaaata	gcatgaggga	1500
ggcgccaaac	tctgcacagg	gcaactccca	atcggggcct	cccccaactc	ctgggccatc	1560
ccaagataac	gacaccgact	gggggtattg	ataaacaaaa	cccagcctgc	ttccacaaaa	1620
acatcccaat	gccctcacc	gtagtcgacc	cctcgatttg	cggtcttata	tgaccacacc	1680
ctcaaacaaa	catccccctc	tttctccct	ccccctgctg	tacaactccg	cacgccctag	1740
ataccacagg	cacaatgcgg	ctcactaaca	atcaaaacag	agccgagggga	attagaaaaa	1800
agtacgggta	gaagagggat	attcagagat	cagggcaagt	ctcccgagtc	tctgctctct	1860
cctctacctg	atagaccagg	acaaacatgg	ccacctttac	ggatgcagag	atcgacgagc	1920
tatttgagac	aagtggaaact	gtcattgaca	acataattac	agcccaggggt	aaaccagcag	1980
agactgttgg	aaggagtgca	atcccacaag	gcaagaccaa	ggtgctgagc	gcagcatggg	2040
agaagcatgg	gagcatccag	ccaccggcca	gtcaagacaa	ccccgatcga	caggacagat	2100
ctgacaaaca	accatccaca	cccagacaaa	cgaccccgca	tgacagcccg	ccggccacat	2160
ccgccgacca	gccccccacc	caggccacag	acgaagccgt	cgacacacag	ctcaggaccg	2220
gagcaagcaa	ctctctgctg	ttgatgcttg	acaagctcag	caataaatcg	tccaatgcta	2280
aaaagggccc	atggtcagac	ccccaaagag	ggaatcacca	acgtccgact	caacagcagg	2340
ggagtcaacc	cagtcgcgga	aacagtcagg	aaagaccgca	gaaccaagtc	aaggccgccc	2400
ctggaaaacca	gggcacagac	gtgaacacag	catatcatgg	acaatgggag	gagtcacaac	2460
tatcagctgg	tgcaacccct	catgctctcc	gatcaaggca	gagccaagac	aatacccttg	2520
tatctgcgga	tcatgtccag	ccacctgtag	actttgtgca	agcgatgatg	tctatgatgg	2580
aggcgatatc	acagagagta	agtaaggttg	actatcagct	agatcttgtc	ttgaaacaga	2640
catcctccat	ccctatgatg	cggtccgaaa	tccaacagct	gaaaacatct	gttgcagtca	2700
tggaagccaa	cttggggaatg	atgaagattc	tggatcccgg	ttgtgccaac	atttcatctc	2760
tgagtgatct	acgggcagtt	gcccgatctc	acccggtttt	agtttcaggc	cctggagacc	2820
cctctcccta	tgtgacacaa	ggaggcgaaa	tggcacttaa	taaactttcg	caaccagtgc	2880
cacatccatc	tgaattgatt	aaacccgcca	ctgcatgcgg	gcctgatata	ggagtggaaa	2940
aggacactgt	ccgtgcattg	atcatgtcac	gcccgaatgca	cccagagttct	tcagccaagc	3000

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

tcctaagcaa	gtagatgca	gccgggtcga	tcgaggaaat	caggaaaatc	aagcgccttg	3060
ctctaaatgg	ctaattacta	ctgccacacg	cagcgggtcc	ctgtccactc	ggcatcacac	3120
ggaatctgca	ccgagttccc	ccccgcagac	ccaagggtcca	actctccaag	cggcaatcct	3180
ctctcgcttc	ctcagcccca	ctgaatggac	gcgtaaccgt	aattaatcta	gctacattta	3240
agattaagaa	aaaatacggg	tagaattgga	gtgccccaat	tgtgccaaga	tggactcatc	3300
taggacaatt	gggctgtact	ttgattctgc	ccattcttct	agcaacctgt	tagcattttcc	3360
gatcgtccta	caaggcacag	gagatgggaa	gaagcaaadc	gccccgcaat	ataggatcca	3420
gcgccttgac	ttgtggactg	atagtaagga	ggactcagta	ttcatcacca	cctatggatt	3480
catctttcaa	gttgggaatg	aagaagccac	tgctcgcatg	atcgatgata	aacccaagcg	3540
cgagttactt	tccgctgcga	tgctctgcct	aggaagcgtc	ccaaataaccg	gagaccttat	3600
tgagctggca	agggcctgtc	tcactatgat	agtcacatgc	aagaagagtg	caactaatac	3660
tgagagaatg	gttttctcag	tagtgcaggc	acccaagtg	ctgcaaagct	gtagggttgt	3720
ggcaaacaaa	tactcatcag	tgaatgcagt	caagcacgtg	aaagcgccag	agaagattcc	3780
cgggagtgga	accctagaat	ataaggtgaa	ctttgtctcc	ttgactgtgg	taccgaagaa	3840
ggatgtctac	aagatcccag	ctgcagtatt	gaagggttct	ggctcgagtc	tgtacaatct	3900
tgcgctcaat	gtcactatta	atgtggaggt	tgacccgagg	agtcctttgg	ttaaatctct	3960
gtctaagtct	gacagcggat	actatgctaa	cctcttcttg	catattggac	ttatgaccac	4020
cgtagatagg	aaggggaaga	aagtgcacatt	tgacaagctg	gaaaagaaaa	taaggagcct	4080
tgatctatct	gtcgggctca	gtgatgtgct	cgggccttcc	gtgttggtaa	aagcaagagg	4140
tgacagggact	aagcttttgg	cacctttctt	ctctagcagt	gggacagcct	gctatcccat	4200
agcaaagtct	tctcctcagg	tggccaagat	actctggagt	caaaccgcgt	gcctgcggag	4260
cgttaaaatc	attatccaag	caggtagcca	acgcgctgtc	gcagtgaccg	ccgaccacga	4320
ggttacctct	actaagctgg	agaaggggca	cacccttgcc	aaataacaatc	cttttaagaa	4380
ataagctgcg	tctctgagat	tgcgctccgc	ccactcacc	agatcatcat	gacacaaaaa	4440
actaatctgt	cttgattatt	tacagttagt	ttacctgcct	atcaagttag	aaaaaacacg	4500
ggtagaagat	tctggatccc	ggttggcgcc	ctccaggtgc	aagatgggct	ccagaccttc	4560
taccaagaac	ccagcaccta	tgatgctgac	tatccgggtt	gcgctggtac	tgagttgcat	4620
ctgtccggca	aactccattg	atggcaggcc	tcttgacgct	gcaggaattg	tggttacagg	4680
agacaaagcc	gtcaacatat	acacctcatc	ccagacagga	tcaatcatag	ttaagctcct	4740
cccgaatctg	ccaaggata	aggaggcatg	tgcgaaagcc	cccttggatg	catacaacag	4800
gacattgacc	actttgctca	cccccttgg	tgactctatc	cgtaggatac	aagagtctgt	4860

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

gactacatct	ggagggggga	gacaggggcg	ccttataggc	gccattattg	gcggtgtggc	4920
tcttgggggt	gcaactgccg	cacaaataac	agcggccgca	gctctgatac	aagccaaaca	4980
aaatgctgcc	aacatcctcc	gacttaaaga	gagcattgcc	gcaaccaatg	aggctgtgca	5040
tgaggctact	gacggattat	cgcaactagc	agtggcagtt	gggaagatgc	agcagtttgt	5100
taatgaccaa	cttaataaaa	cagctcagga	attagactgc	atcaaaattg	cacagcaagt	5160
tggtgtagag	ctcaacctgt	acctaaccga	attgactaca	gtattcggac	cacaaatcac	5220
ttcacctgct	ttaaacaagc	tgactattca	ggcactttac	aatctagctg	gtggaaatat	5280
ggattactta	ttgactaagt	taggtgtagg	gaacaatcaa	ctcagctcat	taatcggtag	5340
cggcttaatc	accggttaacc	ctattctata	cgactcacag	actcaactct	tgggtatacg	5400
ggtaactcta	ccttcagtcg	ggaacctaaa	taatatgcgt	gccacctact	tggaaacctt	5460
atccgtaagc	acaaccaggg	gatttgcctc	ggcacttgtc	cccaaagtgg	tgacacaggt	5520
cggttctgtg	atagaagaac	ttgacacctc	atactgtata	gaaactgact	tagatttata	5580
ttgtacaaga	atagtaacgt	tccctatgtc	ccctggtatt	tattcctgct	tgagcggcaa	5640
tacgtcggcc	tgtatgtact	caaagaccga	aggcgcaact	actacaccat	acatgactat	5700
caaaggttca	gtcatcgcca	actgcaagat	gacaacatgt	agatgtgtaa	acccccggg	5760
tatcatatcg	caaaactatg	gagaagccgt	gtctctaata	gataaacaat	catgcaatgt	5820
tttatcctta	ggcgggataa	ctttaaggct	cagtggggaa	ttcgatgtaa	cttatcagaa	5880
gaatatctca	atacaagatt	ctcaagtaat	aataacaggc	aatcttgata	tctcaactga	5940
gcttgggaat	gtcaacaact	cgatcagtaa	tgctttgaat	aagttagagg	aaagcaacag	6000
aaaactagac	aaagtcaatg	tcaaactgac	tagcacatct	gctctcatta	cctatatcgt	6060
tttgactatc	atatctcttg	tttttggtat	acttagcctg	attctagcat	gctacctaata	6120
gtacaagcaa	aaggcgcaac	aaaagacctt	attatggctt	gggaataata	ctctagatca	6180
gatgagagcc	actacaaaaa	tgtgaacaca	gatgaggaac	gaaggtttcc	ctaatagtaa	6240
tttgtgtgaa	agttctggta	gtctgtcagt	tcagaggggt	aagaaaaaac	taccggttgt	6300
agatgaccaa	aggacgatat	acgggtagaa	cggtaaagaga	ggccgcccct	caattgcgag	6360
ccaggcttca	caacctccgt	tctaccgctt	caccgacaac	ggcctcfaat	catggaccgc	6420
gccgttagcc	aagttgcgtt	agagaatgat	gaaagagagg	caaaaaatac	atggcgcttg	6480
atattccgga	ttgcaatctt	attcttaaca	gtagtgacct	tggctatatc	tgtagcctcc	6540
cttttatata	gcatgggggc	tagcacacct	agcgatcttg	taggcatacc	gactaggaat	6600
tccagggcag	aagaaaagat	tacatctaca	cttgggtcca	atcaagatgt	agtagatagg	6660
atatataagc	aagtggccct	tgagtctccg	ttggcattgt	taaaaactga	gaccacaatt	6720
atgaacgcaa	taacatctct	ctcttatcag	attaatggag	ctgcaaacaa	cagtgggtgg	6780

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

ggggcactta	tccatgaccc	agattatata	ggggggatag	gcaaagaact	cattgtagat	6840
gatgctagt	atgtcacatc	attctatccc	tctgcatttc	aagaacatct	gaattttatc	6900
ccggcgccta	ctacaggatc	aggttgcact	cgaataccct	catttgacat	gagtgtacc	6960
cattactgct	acaccataa	tgtaatatg	tctggatgca	gagatcactc	acattcatat	7020
cagtatttag	cacttggtgt	gctccggaca	tctgcaacag	ggagggtatt	cttttctact	7080
ctgcgttcca	tcaacctgga	cgacacccaa	aatcggaagt	cttgacagtgt	gagtgcaact	7140
cccctgggtt	gtgatatgct	gtgctcgaaa	gtcacggaga	cagaggaaga	agattataac	7200
tcagctgtcc	ctacgcggat	ggtacatggg	aggttagggt	tcgacggcca	gtaccacgaa	7260
aaggacctag	atgtcacaac	attattcggg	gactgggtgg	ccaactaccc	aggagtaggg	7320
ggtggatctt	ttattgacag	ccgcgtatgg	ttctcagtct	acggagggtt	aaaaccaat	7380
tcaccagtg	acactgtaca	ggaagggaaa	tatgtgatat	acaagcgata	caatgacaca	7440
tgcccagatg	agcaagacta	ccagattcga	atggccaggt	cttcgtataa	gcctggacgg	7500
tttggtgga	aacgcataca	gcaggctatc	ttatctatca	agggtgtcaac	atccttaggc	7560
gaagaccgg	tactgactgt	accgccaac	acagtcacac	tcattgggggc	cgaaggcaga	7620
attctcacag	tagggacatc	tcatttcttg	tatcaacgag	ggtcatcata	cttctctccc	7680
gcgttattat	atcctatgac	agtcagcaac	aaaacagcca	ctcttcatag	tccttataca	7740
ttcaatgcct	tactcggcc	aggtagtatc	ccttgccagg	cttcagcaag	atgccccaac	7800
ccgtgtgtta	ctggagtcta	tacagatcca	catcccctaa	tcttctatag	aaaccacacc	7860
ttgcgagggg	tattcgggac	aatgcttgat	ggtgtacaag	caagacttaa	ccctgcgtct	7920
gcagtattcg	atagcacatc	ccgcagtcgc	attactcgag	tgagttcaag	cagtacaaaa	7980
gcagcataca	caacatcaac	ttgttttaaa	gtggtaaga	ctaataagac	ctattgtctc	8040
agcattgctg	aaatatctaa	tactctcttc	ggagaattca	gaatcgctcc	gttactagtt	8100
gagatcctca	aagatgacgg	ggttagagaa	gccaggctcg	gctagttgag	tcaattataa	8160
aggagttgga	aagatggcat	tgtatcacct	atcttctgcy	acatcaagaa	tcaaaccgaa	8220
tgccggcgcy	tgctcgaatt	ccatgttgcc	agttgaccac	aatcagccag	tgctcatgcy	8280
atcagattaa	gccttgtaaa	tagtctcttg	attaagaaaa	aatgtaagt	gcaatgagat	8340
acaaggcaaa	acagctcatg	gtaaataata	cgggtagaac	atggcgagct	ccggtcctga	8400
aagggcagag	catcagatta	tcctaccaga	gtcacacctg	tcttcaccat	tgggtcaagca	8460
caaactactc	tattactgga	aattaactgg	gctaccgctt	cctgatgaat	gtgacttcga	8520
ccacctcatt	ctcagccgac	aatggaaaaa	aatacttgaa	tcggcctctc	ctgatactga	8580
gagaatgata	aaactcggaa	gggcagtaca	ccaaactctt	aaccacaatt	ccagaataac	8640

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

cggagtgctc	caccccaggt	gtttagaaga	actggcta	attgaggtcc	cagattcaac	8700
caacaaattt	cggaagattg	agaagaagat	ccaaattcac	aacacgagat	atggagaact	8760
gttcacaagg	ctgtgtacgc	atatagagaa	gaaactgctg	gggtcatctt	ggtctaacaa	8820
tgtcccccg	tcagaggagt	tcagcagcat	ccgtacggac	ccggcattct	ggtttcactc	8880
aaaatgggtcc	acagccaagt	ttgcatggct	ccatataaaa	cagatccaga	ggcatctgat	8940
gggtggcagct	aggacaaggt	ctgcggccaa	caaattgggt	atgctaacc	ataaggtagg	9000
ccaagtcttt	gtcactcctg	aacttgtcgt	tgtgacgcat	acgaatgaga	acaagttcac	9060
atgtcttacc	caggaacttg	tattgatgta	tgcagatatg	atggagggca	gagatatggt	9120
caacataata	tcaaccacgg	cggtgcatct	cagaagctta	tcagagaaaa	ttgatgacat	9180
tttgcggtta	atagacgctc	tggcaaaaaga	cttgggta	caagtctacg	atgttgatc	9240
actaatggag	ggatttgc	acggagctgt	ccagctactc	gagccgtcag	gtacatttgc	9300
aggagatttc	ttcgcattca	acctgcagga	gcttaaagac	attctaattg	gcctcctccc	9360
caatgatata	gcagaatccg	tgactcatgc	aatcgctact	gtattctctg	gtttagaaca	9420
gaatcaagca	gctgagatgt	tgtgtctgtt	gcgtctgtgg	ggtcacccac	tgcttgagtc	9480
ccgtattgcc	gcaaaggcag	tcaggagcca	aatgtgcgca	ccgaaaatgg	tagactttga	9540
tatgatcctt	caggactgt	ctttcttcaa	gggaacaatc	atcaacgggt	acagaaagaa	9600
gaatgcaggt	gtgtggccgc	gagtcaaagt	ggatacaata	tatgggaagg	tcattgggca	9660
actacatgca	gattcagcag	agatttcaca	cgatatcatg	ttgagagagt	ataagagttt	9720
atctgcactt	gaatttgagc	catgtataga	atatgaccct	gtcaccaacc	tgagcatggt	9780
cctaaaagac	aaggcaatcg	cacaccccaa	cgataattgg	cttgcctcgt	ttaggcggaa	9840
ccttctctcc	gaagaccaga	agaaacatgt	aaaagaagca	acttcgacta	atcgctctt	9900
gatagagttt	ttagagtcaa	atgattttga	tccatataaa	gagatggaat	atctgacgac	9960
ccttgagtac	cttagagatg	acaatgtggc	agtatcatac	tcgctcaagg	agaagggaagt	10020
gaaagttaat	ggacggatct	tcgctaagct	gacaaagaag	ttaagggaact	gtcaggatgat	10080
ggcggaaggg	atcctagccg	atcagattgc	acctttcttt	cagggaaatg	gagtcattca	10140
ggatagcata	tccttgacca	agagtatgct	agcgatgagt	caactgtctt	ttaacagcaa	10200
taagaaacgt	atcactgact	gtaaagaaag	agtatcttca	aaccgcaatc	atgatccgaa	10260
aagcaagaac	cgtcggagag	ttgcaacctt	cataacaact	gacctgcaaa	agtactgtct	10320
taattggaga	tatcagacaa	tcaaattgtt	cgctcatgcc	atcaatcagt	tgatgggcct	10380
acctcacttc	ttcgaatgga	ttcacctaag	actgatggac	actacgatgt	tcgtaggaga	10440
ccctttcaat	cctccaagtg	accctactga	ctgtgacctc	tcaagagtcc	ctaatgatga	10500
catatatatt	gtcagtgcca	gaggggggtat	cgaaggatta	tgccagaagc	tatggacaat	10560

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

gatctcaatt	gctgcaatcc	aacttgctgc	agctagatcg	cattgtcgtg	ttgcctgtat	10620
ggtacagggg	gataatcaag	taatagcagt	aacgagagag	gtaagatcag	acgactctcc	10680
ggagatgggt	ttgacacagt	tgcatacaagc	cagtataaat	ttcttcaagg	aattaattca	10740
tgtcaatcat	ttgattggcc	ataatttgaa	ggatcgtgaa	accatcaggt	cagacacatt	10800
cttcatatac	agcaaacgaa	tcttcaaaga	tggagcaatc	ctcagtcaag	tcctcaaaaa	10860
ttcatctaaa	ttagtgtctag	tgtcagggtga	tctcagtga	aacaccgtaa	tgtcctgtgc	10920
caacattgcc	tctactgtag	cacggctatg	cgagaacggg	cttcccaaag	acttctgtta	10980
ctattttaaac	tatataatga	gttgtgtgca	gacatacttt	gactctgagt	tctccatcac	11040
caacaattcg	caccccgatc	ttaatcagtc	gtggattgag	gacatctctt	ttgtgcactc	11100
atatgttctg	actcctgccc	aattaggggg	actgagtaac	cttcaatact	caaggctcta	11160
cactagaaaat	atcgggtgacc	cggggactac	tgcttttgca	gagatccagc	gactagaagc	11220
agtgaggatta	ctgagtccta	acattatgac	taatatctta	actaggccgc	ctgggaatgg	11280
agattggggc	agtctgtgca	acgaccata	ctctttcaat	tttgagactg	ttgcaagccc	11340
aaatattgtt	cttaagaaac	atacgcgaa	agtcctat	gaaacttggt	caaatccctt	11400
attgtctgga	gtgcacacag	aggataatga	ggcagaagag	aaggcattgg	ctgaattctt	11460
gcttaatcaa	gaggtgattc	atccccgcgt	tgcgcatgcc	atcatggagg	caagctctgt	11520
aggtaggaga	aagcaaattc	aagggcttgt	tgacacaaca	aacaccgtaa	ttaagattgc	11580
gcttactagg	aggccattag	gcataaagag	gctgatgcgg	atagtcaatt	attctagcat	11640
gcatgcaatg	ctgttttagag	acgatgtttt	ttcctccagt	agatccaacc	acctttagt	11700
ctcttcta	atgtgttctc	tgacactggc	agactatgca	cggaatagaa	gctggtcacc	11760
tttgacggga	ggcaggaaaa	tactgggtgt	atctaatacct	gatacgatag	aactcgtaga	11820
gggtgagatt	cttagtgtaa	gcggagggtg	tacaagatgt	gacagcggag	atgaacaatt	11880
tacttggttc	catcttccaa	gcaatataga	attgaccgat	gacaccagca	agaatcctcc	11940
gatgagggta	ccatatctcg	ggtcgaagac	acaggagagg	agagctgcct	cacttgcaaa	12000
aatagctcat	atgtcgccac	atgtaaaggc	tgccctaagg	gcatcatccg	tgttgatctg	12060
ggcttatggg	gataatgacg	taaattggac	tgctgtctct	acgattgcaa	aatctcgggt	12120
taatgtaaac	ttagagtatc	ttcggttact	gtccccctta	cccacggctg	ggaatcttca	12180
acatagacta	gatgatggta	taactcagat	gacattcacc	cctgcatctc	tctacagggtg	12240
tcaccttaca	ttcacatatc	caatgattct	caaaggctgt	tactgaaga	aggagtcaaa	12300
gaggggaatg	tggtttacca	acagagtcac	gctcttgggt	ttatctctaa	tcgaatcgat	12360
atttccaatg	acagcaacca	ggacatatga	tgagatcaca	ctgcacctac	atagtaaatt	12420

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

tagttgctgt	atcagagaag	cacctgttgc	ggttcctttc	gagctacttg	gggtgggtacc	12480
ggaactgagg	acagtgacct	caaataagtt	tatgtatgat	cctagccctg	gatcggaggg	12540
agactttgcg	agacttgact	tagctatctt	caagagttat	gagcttaatc	tggagtcata	12600
tcccacgata	gagctaata	acattccttc	aatatccagc	gggaagttga	ttggccagtc	12660
tgtggtttct	tatgatgaag	atacctccat	aaagaatgac	gccataatag	tgtacgacaa	12720
tacccgaaat	tggatcagtg	aagctcagaa	ttcagatgtg	gtccgcctat	ttgaatatgc	12780
agcacttgaa	gtgctcctca	actgttctta	ccaactctat	tacctgagag	taagaggcct	12840
agacaatatt	gtcttatata	tgggtgattt	atacaagaat	atgccaggaa	ttctactttc	12900
caacattgca	gtacaatat	ctcatccgt	cattcattca	aggttacatg	cagtgggcct	12960
ggtcaaccat	gacggatcac	accaacttgc	agatacggat	tttatcgaaa	tgtctgcaaa	13020
actattagta	tcttgcaccc	gacgtgtgat	ctccggctta	tattcaggaa	ataagtatga	13080
tctgctgttc	ccatctgtct	tagatgataa	cctgaatgag	aagatgcttc	agctgatatc	13140
ccggttatgc	tgtctgtaca	cggtactctt	tgctacaaca	agagaaatcc	cgaaaataag	13200
aggcttaact	acaaaagaga	aatgttcaat	acccactgag	tatttactgt	cggatgctgt	13260
gaaaccatta	cttagccccg	atcaagttag	ctctatcatg	tctcctaaca	taattacatt	13320
cccagctaata	ccgtactaca	tgtctcggaa	gagcctcaat	ttgatcaggg	aaagggagga	13380
cagggataact	atcctgggtgt	tggtgttccc	ccaagagcca	ttattagagt	tcccttctgt	13440
gcaagatatt	ggtgctcgag	tgaaagatcc	attcaccgga	caacctgcgg	catttttgca	13500
agagttagat	ttgagtgtc	cagcaaggta	tgacgcattc	acacttagtc	agattcatcc	13560
tgaactcaca	tctccaaatc	cggaggaaga	ctacttagta	cgatacttgt	tcagagggat	13620
agggactgca	tcttctctt	ggtataaggc	atctcatctc	ctttctgtac	ccgaggtaag	13680
atgtgcaaga	cacgggaact	ccttatactt	agctgaaggg	agcggagcca	tcatgagtct	13740
tctcgaactg	catgtaccac	atgaaactat	ctattacaat	acgctctttt	caaatgagat	13800
gaaccccccg	caacgacatt	tcgggccgac	ccaactcag	tttttgaatt	cgggtgttta	13860
taggaatcta	caggcggagg	taacatgcaa	agatggattt	gtccaagagt	tccgtccatt	13920
atggagagaa	aatacagagg	aaagtgacct	gacctcagat	aaagcagtgg	ggtatattac	13980
atctgcagtg	ccctacagat	ctgtatcatt	gctgcattgt	gacattgaaa	ctcctccagg	14040
gtccaatcaa	agcttactag	atcaactagc	tatcaattta	tctctgattg	ccatgcattc	14100
tgtaagggag	ggcggggtag	taatcatcaa	agtgttgat	gcaatgggat	actactttca	14160
tctactcatg	aacttgttt	ctccgtgttc	cacaaaagga	tatattctct	ctaattggtta	14220
tgcatgtcga	ggagatatgg	agtgttacct	ggtatttgtc	atgggttacc	tgggcgggcc	14280
tacatttgta	catgagggtg	tgaggatggc	aaaaactctg	gtgcagcggc	acggtacgct	14340

140220 P24281-P01-2749-Spanish-SeqListing

cttgtctaaa tcagatgaga tcacactgac caggttattc acctcacagc ggcagcgtgt	14400
gacagacatc ctatccagtc ctttaccaag attaataaaag tacttgagga agaattattga	14460
cactgcgctg attgaagccg ggggacagcc cgtccgtcca ttctgtgcgg agagtctggt	14520
gagcacgcta gcgaacataa ctcagataac ccagattatc gctagtcaca ttgacacagt	14580
tatccggtct gtgatataata tggaagctga ggggtgatctc gctgacacag tattttctatt	14640
taccccttac aatctctcta ctgacgggaa aaagaggaca tcacttaaac agtgcacgag	14700
acagatccta gaggttaca tactaggtct tagagtcgaa aatctcaata aaataggcga	14760
tataatcagt ctagagctta aaggcatgat ctccatggag gaccttatcc cactaaggac	14820
atacttgaag catagtacct gccctaaata tttgaaggct gtcctaggta ttaccaaact	14880
caaagaaatg ttacagaca cttctgtact gtacttgact cgtgctcaac aaaaattcta	14940
catgaaaact ataggcaatg cagtcaacgg atattacagt aactgtgact cttaacgaaa	15000
atcacatatt aataggctcc ttttttggcc aattgtattc ttgttgattt aatcatatta	15060
tgtagaaaa aagttgaacc ctgactcctt aggactcgaa ttcgaactca aataaatgtc	15120
ttaaaaaaaag gttgcgaca attattcttg agtgtagtct cgtcattcac caaatctttg	15180
tttggt	15186

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference P01 - 2749 / WO /	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP2012/065940	International filing date (<i>day/month/year</i>) 15/08/2012	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 15/08/2011
Applicant BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA S.A. DE C.V.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 5 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
- ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☒ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☐ the text is approved as submitted by the applicant
- ☒ the text has been established by this Authority to read as follows:

INFLUENZA H5 VACCINES

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
- ☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
- ☐ as suggested by the applicant
- ☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
- ☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2012/065940

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:
 - a. (means)

☐

 on paper
 - ☒

 in electronic form
 - b. (time)

☒

 in the international application as filed
 - ☐

 together with the international application in electronic form
 - ☐

 subsequently to this Authority for the purpose of search
2.

☐

 In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/065940

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/145
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HESSEL ANNETT ET AL: "Vectors Based on Modified Vaccinia Ankara Expressing Influenza H5N1 Hemagglutinin Induce Substantial Cross-Clade Protective Immunity", PLOS ONE, vol. 6, no. 1, January 2011 (2011-01), XP55013626, ISSN: 1932-6203 page 5, left-hand column - last paragraph page 12, left-hand column, last line - right-hand column, line 2 page 12, right-hand column, paragraph 2 ----- -/--	1-40



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 November 2012

Date of mailing of the international search report

03/12/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mata Vicente, Teresa

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/065940

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/052173 A2 (BOEHRINGER INGELHEIM VETMED [US]; VAUGHN ERIC M [US]; GONZALEZ-HEMANDE) 2 May 2008 (2008-05-02) example 2 claims 1,6,26,35 sequence 4 -----	1-40
X	WO 2007/053446 A2 (BOEHRINGER INGELHEIM VETMED [DE]; BOEHRINGER INGELHEIM VETMED [US]; DA) 10 May 2007 (2007-05-10) example 1 page 7, line 5 - line 14 sequence 4 -----	1-18, 24-40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2012/065940

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008052173	A2	02-05-2008	
		AU 2007308869 A1	02-05-2008
		CA 2664914 A1	02-05-2008
		CO 6210831 A2	20-10-2010
		DK 2086576 T3	15-10-2012
		EP 2086576 A2	12-08-2009
		ES 2391123 T3	21-11-2012
		JP 2010508030 A	18-03-2010
		KR 20090078362 A	17-07-2009
		RU 2009119597 A	10-12-2010
		SG 176419 A1	29-12-2011
		US 2008193471 A1	14-08-2008
		US 2012231027 A1	13-09-2012
		WO 2008052173 A2	02-05-2008

WO 2007053446	A2	10-05-2007	
		AR 056733 A1	17-10-2007
		AT 543512 T	15-02-2012
		AU 2006309007 A1	10-05-2007
		BR PI0617952 A2	09-08-2011
		CA 2626866 A1	10-05-2007
		CN 101300023 A	05-11-2008
		CN 102406932 A	11-04-2012
		EP 1942924 A2	16-07-2008
		JP 2009513667 A	02-04-2009
		KR 20080065680 A	14-07-2008
		US 2007207168 A1	06-09-2007
		WO 2007053446 A2	10-05-2007
