



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนวิจัย

กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานวิจัย

การตรวจหาและศึกษาลักษณะทางพันธุศาสตร์

ของเชื้อไข้หวัดนก (H5N1) ในตลาดค้าสัตว์ปีก

มีชีวิตรและในตลาดสด

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โดย

อลงกร อมรศิลป์

พฤศจิกายน 2550



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนวิจัย

กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานวิจัย

การตรวจหาและศึกษาลักษณะทางพันธุศาสตร์
ของเชื้อไข้หวัดนก (H5N1) ในตลาดค้าสัตว์ปีก
มีชีวิตและในตลาดสด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
โดย

อลงกร อมรศิลป์

พฤศจิกายน 2550

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับเงินสนับสนุนทุนวิจัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ปี 2549 คณะผู้วิจัย
ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ห้องปฏิบัติการหน่วยชั้นสูงโรคสัตว์ ที่ให้ความช่วยเหลือด้านเทคนิค
ห้องปฏิบัติการ การเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัส การแยกสกัดสารพันธุกรรม และการหาลำดับเบสของเชื้อไวรัส
ไขหวัดนก

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัย และเจ้าหน้าที่ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุขทุกท่าน ที่ให้ความ
ช่วยเหลือในงานห้องปฏิบัติการ และจัดทำรายงานวิจัย

เลขหมู่

เลขทะเบียน 013982

วัน, เดือน, ปี 14 ม.ค. 52

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาษาไทย

ชื่อโครงการวิจัย การตรวจหาและศึกษาลักษณะทางพันธุศาสตร์ของเชื้อไข้หวัดนก (H5N1)

ในตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและในตลาดสด

ชื่อผู้วิจัย รศ. น.สพ. ดร. อลงกร อมรศิลป์

เดือนและปีที่ทำวิจัยเสร็จ พฤศจิกายน 2550

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการตรวจติดตามเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในตลาดสดและตลาดค้าสัตว์ปีกในพื้นที่ภาคกลางของประเทศไทย ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2549 ถึง สิงหาคม 2550 จำนวน 976 ตัวอย่าง ผลการวิจัยพบเชื้อไวรัสไข้หวัดนกจำนวน 12 ตัวอย่าง จากสัตว์ปีกในตลาดสดและตลาดค้าสัตว์ปีก และผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์พบว่าไวรัสไข้หวัดนกที่แยกได้จากศึกษาครั้งนี้ มีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้เคียงกับเชื้อไวรัสที่แยกได้ในปี 2547-2548 การวิจัยครั้งนี้เป็นรายงานแรกในประเทศไทยที่รายงานการตรวจติดตามเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในตลาดสดและตลาดค้าสัตว์ปีกในประเทศไทย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาษาอังกฤษ

Project title Monitoring and characterization of avian influenza viruses (H5N1) from avian species in live bird and fresh markets

Name of the investigators Assoc. Prof. Dr. Alongkorn Amonsin

Year November 2007

Abstract

A surveillance program for Influenza A viruses (H5N1) was conducted in live bird markets and food markets in central region of Thailand during July 2006-August 2007. Twelve H5N1 viruses were isolated from 967 samples of both live birds and bird meats from the markets. Our report showed that H5N1 viruses circulating in live birds and bird meats are genetically related to H5N1 viruses in 2004-5 in Thailand. This report is the first report of surveillance of H5N1 in live bird markets and food markets in Thailand.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iii
สารบัญ	iv
รายการตารางประกอบ	vi
รายการภาพประกอบ	vii
บทนำ	1
การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
วิธีการวิจัย	7
ระยะที่ 1	
สถานที่เก็บตัวอย่าง	7
การเก็บตัวอย่างสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีก	8
ระยะที่ 2	
การตรวจพิสูจน์หาเชื้อไวรัสไข้หวัดนก โดยวิธี embryonated egg inoculation	8
การตรวจพิสูจน์หาเชื้อไวรัสไข้หวัดนก โดยวิธี multiplex RT-PCR	9
ระยะที่ 3	
การแยกสกัด RNA และ การเตรียม cDNA ของเชื้อไข้หวัดนก	10
การเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมโดยวิธี RT-PCR	11
การถอดรหัสพันธุกรรมของยีน H5 และ N1 (DNA sequencing)	11
การประกอบรหัสพันธุกรรม (Genome assembly)	12
การวิเคราะห์รหัสพันธุกรรมและเปรียบเทียบรหัสพันธุกรรมของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก (Genetic and cluster analysis of HA and NA genes)	13
การเผยแพร่ข้อมูล (data release)	13
ผลการวิจัย	
การเก็บและตรวจพิสูจน์ตัวอย่างเชื้อไข้หวัดนกจากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด	14
เชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด	14
รหัสพันธุกรรม (cDNA sequencing) ของยีน Hemagglutinin (H5) และ Neuraminidase (N1) ของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก	20

ลักษณะทางพันธุศาสตร์ของยีน Hemagglutinin (H5) และ Neuraminidase (N1) ของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก	22
Hemagglutinin gene (HA)	22
ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของยีน HA	22
การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของยีน HA	23
Neuraminidase gene (NA)	27
ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของยีน NA	27
การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของยีน NA	27
การอภิปรายผล	30
ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ	35
เอกสารอ้างอิง	37
ภาคผนวก	42
ภาคผนวก ก: รายละเอียดรหัสพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนกจำนวน 12 ตัวอย่าง ที่เผยแพร่ในฐานข้อมูล GenBank	43

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการตารางประกอบ

		หน้า
ตารางที่ 1	จำนวนผู้ติดเชื้อและผู้เสียชีวิตจากเชื้อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในแต่ละประเทศ	2
ตารางที่ 2	แสดงรายละเอียดตัวอย่างจากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสด ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล	17
ตารางที่ 3	แสดงรายละเอียดตัวอย่างจากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสด ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล จำแนกตามชนิดสัตว์ปีก	18
ตารางที่ 4	แสดงรายละเอียดของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสดจำนวน 12 ตัวอย่าง	19
ตารางที่ 5	แสดงรายละเอียดและขนาดรหัสพันธุกรรมของยีน 2 ยีน (HA และ NA) ของเชื้อไข้หวัดนกจำนวน 12 ตัวอย่าง	21
ตารางที่ 6	แสดงรายละเอียดผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของโปรตีน HA ของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดจำนวน 12 ตัวอย่าง ในส่วนของ HA cleavage site และ receptor binding site	26
ตารางที่ 7	แสดงรายละเอียดผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของยีน NA ของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดจำนวน 12 ตัวอย่าง ในส่วนของ NA stalk region และ Oseltamivir resistance residues	29

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการภาพประกอบ

	หน้า
ภาพที่ 1	16
แสดงสภาพและสถานที่การเก็บตัวอย่างสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีกจากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด	
ภาพที่ 2	25
แสดงโครงสร้างความสัมพันธ์ (phylogenetic tree) จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของยีน HA ของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดจำนวน 12 ตัวอย่างเปรียบเทียบกับเชื้อไข้หวัดนกจากต่างประเทศ	
ภาพที่ 3	28
แสดงโครงสร้างความสัมพันธ์ (phylogenetic tree) จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของยีน NA ของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดจำนวน 12 ตัวอย่างเปรียบเทียบกับเชื้อไข้หวัดนกจากต่างประเทศ	

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

เชื้อไวรัสไข้หวัดนก H5N1 (Avian influenza A viruses (H5N1)) สามารถทำให้เกิดโรคไข้หวัดนก (Avian influenza) ในสัตว์ปีก และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด รวมทั้งคน โดย Office International des Epizooties (OIE) ได้จัดให้โรคนี้อยู่ในกลุ่ม list A ซึ่งเป็นกลุ่มโรคที่มีความรุนแรงแพร่กระจายอย่างรวดเร็วและทำให้เกิดความเสียหายทางด้านเศรษฐกิจและสาธารณสุข (OIE, 2005)

ช่วงต้นปี 2004 พบการระบาดของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก H5N1 ในสัตว์ปีกในแถบทวีปเอเชีย 8 ประเทศ ได้แก่ กัมพูชา จีน อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น ลาว เกาหลีใต้ เวียดนาม รวมทั้งประเทศไทย และได้มีการทำลายสัตว์ปีกไปเป็นจำนวนมากกว่า 100 ล้านตัว จากนั้นเดือนมิถุนายน 2004 พบการระบาดเพิ่มขึ้นอีกครั้งในหลายประเทศแถบทวีปเอเชีย ได้แก่ มาเลเซีย มองโกเลีย รัสเซีย (ไซบีเรีย) (WHO, 2007) รวมทั้งในปี 2005-2006 ได้มีการแพร่ระบาดของโรคไข้หวัดนกในสัตว์ปีกไปยังหลายประเทศในยุโรป เช่น ตุรกี ออสเตรีย เยอรมัน รัสเซีย โปแลนด์ และ ฝรั่งเศส (WHO, 2007)

การระบาดของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก H5N1 ในประเทศไทยได้สร้างความเสียหายทั้งด้านเศรษฐกิจและสาธารณสุข โดยพบว่าตั้งแต่ต้นปี 2004 จนถึงปัจจุบัน ประเทศไทยมีรายงานของผู้ติดเชื้อไวรัสไข้หวัดนก (H5N1) ทั้งหมด 25 ราย และเสียชีวิต 17 ราย (รายงานเมื่อวันที่ 9 ธันวาคม 2550) (WHO, 2007) ซึ่งในช่วงเวลาเดียวกันได้มีรายงานของผู้ติดเชื้อไวรัสทั้งหมด 337 รายและเสียชีวิต 207 รายในประเทศต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1

จากรายงานการระบาดของโรคไข้หวัดนกในคน พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่ติดเชื้อไวรัสไข้หวัดนกจากการสัมผัสกับสัตว์ป่วย หรือเกี่ยวข้องกับฟาร์มและการฆ่าสัตว์ปีกเพื่อบริโภค จึงเห็นได้ว่าการสัมผัสสัตว์ป่วยหรือสัตว์ที่ติดเชื้อไวรัส รวมทั้งการปนเปื้อนของเชื้อในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ จะเป็นปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อไข้หวัดนกในคน ในประเทศไทยจะเห็นได้ว่ามีตลาดการค้าสัตว์ปีกมีชีวิต และการค้าสัตว์ปีกในตลาดสด ซึ่งบางครั้งอาจมีการฆ่าสัตว์ในบริเวณที่มีการขาย ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ อาจเป็นปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อไข้หวัดนกในคน โดยในกรณีที่มีสัตว์ปีกติดเชื้อ หรือสัตว์ที่ตายจากโรคนำมาขายในตลาดให้กับผู้บริโภค

ตารางที่ 1 จำนวนผู้ติดเชื้อและผู้เสียชีวิตจากเชื้อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในแต่ละประเทศ
(Cumulative number of confirmed human cases of Avian Influenza A (H5N1) reported to WHO)

Country	2003		2004		2005		2006		2007		Total	
	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths
Azerbaijan	0	0	0	0	0	0	8	5	0	0	8	5
Cambodia	0	0	0	0	4	4	2	2	1	1	7	7
China	1	1	0	0	8	5	13	8	5	3	27	17
Djibouti	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Egypt	0	0	0	0	0	0	18	10	20	5	38	15
Indonesia	0	0	0	0	20	13	55	45	38	33	113	91
Iraq	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	3	2
Lao	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2
Nigeria	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
Thailand	0	0	17	12	5	2	3	3	0	0	25	17
Turkey	0	0	0	0	0	0	12	4	0	0	12	4
Viet Nam	3	3	29	20	61	19	0	0	7	4	100	46
Total	4	4	46	32	98	43	115	79	74	49	337	207

(WHO, 2007) (รายงานเมื่อวันที่ 9 ธันวาคม 2550)

การศึกษาวិจัยครั้งนี้จะเป็นการเฝ้าระวังและตรวจติดตามหาเชื้อไข้หวัดนกในบริเวณที่มีการค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและในตลาดสด โดยการตรวจพิสูจน์เชื้อไวรัสไข้หวัดนก H5N1 จะดำเนินการโดยวิธีทางไวรัสวิทยา (Embryonated egg inoculation) และวิธีทางชีววิทยาระดับโมเลกุล (Multiplex RT-PCR) นอกจากนี้การศึกษานี้จะรวมถึงการศึกษาลักษณะทางพันธุศาสตร์ของยีน H5 และ N1 ของเชื้อไวรัสไข้หวัดนกที่ตรวจพบ ซึ่งจะทำให้ทราบถึงข้อมูลรหัสพันธุกรรมและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก (H5N1) ซึ่งเป็นการติดตามและเฝ้าระวังการระบาดของโรคและการเปลี่ยนแปลงหรือกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสไข้หวัดนกที่อาจเกิดขึ้นได้ในอนาคต

การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เชื้อไวรัสไข้หวัดนกเป็นสาเหตุของโรคไข้หวัดนก จัดอยู่ในตระกูล *Orthomyxoviridae* ซึ่งสามารถแบ่งย่อยออกเป็น 3 กลุ่ม (type) ได้แก่กลุ่ม A, B และ C โดยเชื้อไวรัสไข้หวัดนกอยู่ในกลุ่มอินฟลูเอนซ่า เอ (Influenza A) เชื้อไวรัสในกลุ่มนี้ถูกแบ่งย่อยออกเป็น subtype ตามลักษณะทางแอนติเจนของโปรตีนส่วนผิวคือ hemagglutinin (HA) 16 subtypes (H1-H16) และ neuraminidase (NA) 9 subtypes (N1-N9) (Fouchier et al., 2005)

1. ลักษณะของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก

เชื้อไวรัสไข้หวัดนกมีโครงสร้างภายนอกเป็นเปลือกหุ้ม (envelope) ซึ่งมีส่วนของ glycoprotein แทรกออกมาและกระจายอยู่โดยรอบ ได้แก่ HA ซึ่งมีรูปร่างเป็นแท่งและ NA ที่มีลักษณะคล้ายดอกเห็ด (De Jong et al., 2000) ภายในเปลือกหุ้มเชื้อไวรัสมีสารพันธุกรรมเป็น RNA สายเดี่ยวชนิดลบ เป็นท่อนจำนวน 8 ท่อน แตกต่างตามน้ำหนักโมเลกุลคือ PB2, PB1, PA, HA, NP, NA, M และ NS ตามลำดับ ซึ่งทำหน้าที่กำหนดการสร้างโปรตีน 10 ชนิด ได้แก่ PB2, PB1, PA, HA, NP, NA, M1, M2, NS1 และ NS2

2. การติดเชื้อไวรัสในสัตว์

เชื้อไวรัสไข้หวัดนกสามารถแบ่งตามความรุนแรงในการก่อโรคเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดที่มีความรุนแรงต่ำ (Low Pathogenic Avian Influenza; LPAI) ซึ่งสัตว์ที่ได้รับเชื้อจะมีอาการของระบบทางเดินหายใจที่ไม่รุนแรงหรือไม่แสดงอาการเลย และชนิดที่มีความรุนแรงสูง (Highly Pathogenic Avian Influenza; HPAI) ก่อให้เกิดอาการที่รุนแรงในสัตว์ปีกโดยจะพบอาการของระบบทางเดินหายใจ อาการทางระบบประสาท บวมน้ำที่บริเวณหัว ท้องเสีย และมีอัตราการตายเกือบ 100% (de Jong and Hien, 2006)

เชื้อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 สามารถก่อโรคตามธรรมชาติได้ในสัตว์ปีกหลายชนิด และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น เสือ เสือดำ แมว เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถพบการติดเชื้อโดยการทดลองในสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น หนูขาว เฟอเรต ลิง สุนัข เป็นต้น บ่งบอกว่าเชื้อไวรัสชนิดนี้สามารถพบได้ในสัตว์หลายชนิดและความสัมพันธ์ของสัตว์ส่วนใหญ่อยู่ในห่วงโซ่อาหารเดียวกัน ส่งผลให้อาจเกิดการติดเชื้อโดยตรงผ่านการกินได้

การติดเชื้อไวรัสในเซลล์โฮสต์นั้นเชื้อไวรัสจะอาศัยโปรตีนบนเปลือกหุ้มไวรัสหลัก 2 ชนิดคือ 1. โปรตีน HA จะจับกับตัวรับบนเซลล์ โปรตีนจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากโฮสต์ที่ตำแหน่งของ cleavage site ออกเป็น 2 ส่วน จากนั้นโปรตีนจะไปจับบนตัวรับ sialo-oligosaccharides บนผิวเซลล์ และเข้าสู่เซลล์เพื่อสร้างและเพิ่มจำนวนเชื้อไวรัส 2. โปรตีน NA เป็นเอนไซม์ neuraminidase ทำหน้าที่แยกส่วน terminal sialic acid residue บนเซลล์โฮสต์ออก เพื่อปล่อยเชื้อไวรัสตัวใหม่ออกจากเซลล์ (Hughes et al., 2001) ป้องกันตัวเชื้อไวรัสจับกันเป็นกลุ่มอยู่ภายในเซลล์ และมีกระบวนการเพิ่มความสามารถของเชื้อไวรัสเพื่อให้เข้าไปในเซลล์เยื่อของระบบทางเดินหายใจได้

3. ลักษณะทางพันธุศาสตร์ของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก H5N1

ยีน HA และ NA มีความเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัสในเซลล์เป้าหมาย ความรุนแรงในการเกิดโรคและการแพร่กระจายของเชื้อไวรัส ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาเฝ้าระวังการกลายพันธุ์ของยีนทั้ง 2 ชนิดนี้ ในตำแหน่งต่างๆ ที่มีความสำคัญต่อคุณลักษณะของเชื้อไวรัส

3.1 การศึกษาลักษณะทางพันธุศาสตร์ของยีน HA

ยีน HA เป็นสารพันธุกรรมก่อนที่ 4 ที่กำหนดการสร้างโปรตีน HA ซึ่งมีหน้าที่สำคัญในการจับกับตัวรับบนผิวของเซลล์และเกี่ยวข้องกับความรุนแรงของการติดเชื้อไวรัส โปรตีนนี้มีตำแหน่งสำคัญ 3 ตำแหน่ง คือ

1. HA cleavage site อยู่ระหว่าง HA1 และ HA2 ของโปรตีน HA โดยเชื้อไวรัสชนิดที่ก่อโรครุนแรงจะมีการเรียงตัวของกรดอะมิโนชนิดเบสจำนวนหลายตัว (multiple basic amino acid) (Claas et al., 1998) ลำดับของกรดอะมิโนลักษณะนี้จะถูกตัดย่อยได้ง่ายด้วยเอนไซม์ subtilisin-like protease (Stieneke-Grober et al., 1992) ซึ่งพบได้ทั่วไปในเซลล์ของร่างกายโฮสต์ ส่งผลให้เชื้อสามารถเข้าสู่อวัยวะต่างๆ และเกิดการติดเชื้อได้ทั่วร่างกาย (Steinhauer, 1999)

2. receptor binding site อยู่บนส่วน globular head ของโปรตีน HA มีหน้าที่ในการจับกับ sialic acid ที่เป็นตัวรับบนเซลล์ ซึ่งพบได้บนเซลล์ของระบบทางเดินหายใจของคนและสัตว์ปีก และพบว่าการแทนที่ของลำดับกรดอะมิโนเพียงตำแหน่งเดียวมีผลกับความจำเพาะของตัวรับในเชื้อไข้หวัดนก H5N1 อย่างมีนัยสำคัญ (Gambaryan et al., 2006)

3. glycosylation sites ประกอบด้วยสายของคาร์โบไฮเดรตที่เชื่อมต่อดัวยพันธะ N-glycosidic linkage (Lamb and Krug, 2001) การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนบริเวณนี้มีผลต่อความจำเพาะต่อการจับกับตัวรับของเชื้อไวรัส (Matrosovich et al., 1999a)

3.2 การศึกษาลักษณะทางพันธุศาสตร์ของยีน NA

โปรตีน NA มีลักษณะคล้ายเห็ดแบ่งได้เป็น 2 ตำแหน่งหลักคือ stalk region ลักษณะการเปลี่ยนแปลงความยาวของกรดอะมิโนบนตำแหน่งนี้สัมพันธ์กับวิวัฒนาการของเชื้อไวรัสในการก่อโรคในสัตว์ปีก (Castrucci and Kawaoka, 1993) และตำแหน่งกรดอะมิโน เช่น 119, 152, 274 และ 294 ของโปรตีน NA ที่เกี่ยวข้องกับการดื้อต่อยาต้านเชื้อไวรัส oseltamivir และ zanamivir (Brown, 2000; Gubareva, 2004; Kiso et al., 2004; Moscona, 2005a)

4. การศึกษาเชื้อไวรัสไข้หวัดนกในตลาด

รายงานการระบาดของโรคไข้หวัดนกในต่างประเทศ เช่นประเทศฮ่องกงและจีนพบประวัติผู้ป่วยส่วนใหญ่มีการสัมผัสหรือทำงานใกล้ชิดกับสัตว์ป่วยหรือเกี่ยวข้องกับฟาร์มหรือตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิต และการฆ่าสัตว์ปีกเพื่อบริโภค (Garber et al., 2007; Liu et al., 2003; Shortridge, 1999) ในประเทศเบลเยียมพบเชื้อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ในนกอินทรีที่ส่งมาจากประเทศไทย โดยซื้อจากร้านค้าสัตว์ปีกรายใหญ่แห่งหนึ่งในกรุงเทพมหานคร (Van Borm et al., 2005) รวมถึงรายงานการพบเชื้อไวรัสไข้หวัดนกในเนื้อเป็ดที่ส่งออกจากประเทศจีนไปประเทศเกาหลีใต้ (Tumpey et al., 2002) และประเทศญี่ปุ่น (Mase et al., 2005) เป็นต้น ส่วนการระบาดของโรคไข้หวัดนกในประเทศไทยพบรายงานว่าซากไก่และนกพิราบที่มีเชื้อไวรัสไข้หวัดนกเป็นสาเหตุให้พบเชื้อไวรัสไข้หวัดนกในเสื่อ เสื่อดาว (Keawcharoen et al., 2004b) และแมวเลี้ยง (Songsermn et al., 2006a) และจากการศึกษาในประเทศไทยพบว่าผู้ป่วยติดเชื้อส่วนใหญ่มีประวัติการเก็บเนื้อไก่ที่ป่วยตายไว้ในบ้าน สัมผัสไก่ที่ตายและไก่ป่วย หรือมีประวัติเชือดและชำแหละไก่ป่วย

5. วิธีการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสไข้หวัดนกทางห้องปฏิบัติการ

ในปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสไข้หวัดนกจำเป็นต้องอาศัยวิธีการต่างๆ ประกอบกัน นอกเหนือจากการซักประวัติ และสังเกตรอยโรคเบื้องต้น การตรวจทางห้องปฏิบัติการเป็นวิธีการที่จำเป็นเพื่อใช้ยืนยันการวินิจฉัยซึ่งมีหลายวิธีด้วยกัน วิธีตรวจหาเชื้อไวรัสซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับโดยองค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (OIE, 2005) ว่ามีความไวสูงและถือเป็นวิธีมาตรฐานคือ การแยกเชื้อไวรัส (virus isolation) โดยวิธีฉีดเข้าไข่ไก่ฟัก (embryonated egg inoculation) อายุประมาณ 9-11 วันที่ปลอดจากเชื้อไวรัสและไม่มีแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสไข้หวัดนก แล้วฟักต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-7 วัน จากนั้นดูดเก็บน้ำไข่ฟัก (allantoic fluid) มาตรวจลักษณะทางแอนติเจนด้วยวิธีทดสอบปฏิกิริยาจับกลุ่มเม็ดเลือดแดง (Hemagglutination test, HA) ที่อาศัยคุณสมบัติของ hemagglutinin (HA) protein ซึ่งจะเกาะติดกับเม็ดเลือดแดง หรือโดยวิธีการตรวจการยับยั้งการจับกลุ่มเม็ดเลือดแดง (Hemagglutination inhibition test, HI) ถ้าพบผลบวกจากขั้นตอนนี้จะนำมาวินิจฉัยแยก

สายพันธุ์ด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา (Molecular technique) คือ เทคนิค RT-PCR เทคนิค real-time PCR ในการตรวจจะตรวจความจำเพาะต่อยีน M, H5 และ N1 เพื่อบ่งบอกว่าเป็นเชื้อไวรัสไข้หวัดนก กลุ่ม A สายพันธุ์ H5N1



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีการวิจัย

คณะผู้วิจัยได้ตั้งสมมุติฐานไว้ว่า ตรวจติดตามหาเชื้อไขหวัดนกในตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด จะเป็นการเฝ้าระวังการระบาดของโรค และทำให้ทราบการเปลี่ยนแปลงของเชื้อไวรัสที่อาจเกิดขึ้นได้ในอนาคต เพื่อที่จะทดสอบสมมุติฐานดังกล่าวคณะผู้วิจัยได้ตั้งวัตถุประสงค์เชิงกิจกรรมดังนี้

1. เก็บตัวอย่างสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีก จากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสด
2. ตรวจพิสูจน์หาเชื้อไวรัสไขหวัดนก H5N1 โดยวิธี embryonated egg inoculation และ multiplex RT-PCR
3. หาลักษณะทางพันธุศาสตร์ของยีน Hemagglutinin (H5) และ Neuraminidase (N1) ของเชื้อไวรัสไขหวัดนก

วิธีดำเนินการวิจัยเพื่อที่จะบรรลุวัตถุประสงค์ดังกล่าวมี 3 ระยะสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ ประกอบด้วย

ระยะที่ 1 เก็บตัวอย่างสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีก จากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสด

ระยะที่ 2 ตรวจพิสูจน์หาเชื้อไวรัสไขหวัดนก H5N1 โดยวิธี embryonated egg inoculation และ multiplex RT-PCR

ระยะที่ 3 หาลักษณะทางพันธุศาสตร์ของยีน Hemagglutinin (H5) และ Neuraminidase (N1) ของเชื้อไวรัสไขหวัดนก

ระยะที่ 1 เก็บตัวอย่างสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีก จากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสด

สถานที่เก็บตัวอย่าง

สถานที่เก็บตัวอย่างได้แก่ ตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสด ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล เช่น นนทบุรี ปทุมธานี ชลบุรี เพชรบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี อยุธยา อ่างทอง เป็นต้น โดยได้ทำการเก็บตัวอย่างแบบสุ่ม เดือนละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 13 เดือน ตั้งแต่เดือน กรกฎาคม 2549 ถึง สิงหาคม 2550

อย่างไรก็ตามในกรณีที่มีการระบาดของโรคไขหวัดนก คณะผู้วิจัยได้เก็บตัวอย่างในตลาดและพื้นที่บริเวณการระบาดด้วยเช่นกัน เช่น จังหวัดพิษณุโลก และพิจิตร

การเก็บตัวอย่างสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีก

การเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจหาเชื้อไขหวัดนกจากสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีก ในกรณีสัตว์ปีกมีชีวิตได้เก็บตัวอย่างจากสัตว์ปีกมีชีวิตในตลาดสดและตลาดค้าสัตว์ปีก ส่วนตัวอย่างจากเนื้อสัตว์ปีกได้เก็บตัวอย่างจากซากสัตว์ปีกที่ผ่านการชำแหละหรือขายเป็นนกเนื้อ เช่น ไก่ เป็ด และนกชนิดต่างๆ ที่ขายในตลาดสด ตัวอย่างทุกตัวอย่างจะนำส่งที่หน่วยชั้นสูตโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อตรวจพิสูจน์เชื้อไวรัสไขหวัดนกต่อไป

ในกรณีสัตว์มีชีวิต ตัวอย่างเชื้อไขหวัดนกสามารถเก็บได้โดยใช้ไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (swab) ป้ายสิ่งคัดหลั่ง โดยให้สัมผัสกับร่องเพดานปาก (choanal slit) หรือ จมูก (nasal) หรือ หลอดลม (tracheal) หรือ ทวารร่วม (cloaca) ของสัตว์ หลังจากนั้นจุ่มไม้ลงในสาร viral transport media (VTM) (Sigma) ปริมาตร 1-2 มิลลิลิตร ในกรณีที่ซากสัตว์หรือเนื้อสัตว์ปีก สามารถเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อ ได้แก่ หลอดลม ปอด ตับ ไต ม้าม ลำไส้เล็กส่วนต้น และสมอง ของสัตว์ที่ตาย จากนั้นลำเลียงใส่ภาชนะปิดสนิท กันแสงแดด เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ส่งไปยังห้องปฏิบัติการ ในกรณีที่ตัวอย่างไม่สามารถตรวจได้ทันที สามารถเก็บตัวอย่างไว้ในตู้เย็นได้ไม่เกิน 48 ชั่วโมง

ระยะที่ 2 ตรวจพิสูจน์หาเชื้อไวรัสไขหวัดนก H5N1 โดยวิธี embryonated egg inoculation และ multiplex RT-PCR

การตรวจพิสูจน์หาเชื้อไวรัสไขหวัดนก โดยวิธี embryonated egg inoculation

นำตัวอย่าง VTM มาปั่นให้ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นแยกเย็น (refrigerated centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 15,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C จากนั้นดูดส่วนใสด้านบนเก็บใส่หลอดขนาด 1-2 มิลลิลิตร เพื่อนำไปฉีดไข่ไก่ฟักต่อไป การฉีดตัวอย่างเข้าไข่ไก่ฟัก จะใช้ไข่ไก่ฟักที่ปลอดเชื้อและไม่มีแอนติบอดีต่อเชื้อไขหวัดนก ที่อายุ 9-11 วัน โดยตรวจการมีชีวิตของตัวอ่อนด้วยการส่องดูเงาการเคลื่อนไหวของตัวอ่อนและการเจริญของหลอดเลือด จากนั้นเจาะรูที่บริเวณช่องว่าง (air cell) และฉีดตัวอย่างปริมาณ 0.15-0.3 มิลลิลิตร ต่อไข่ไก่ฟัก 1 ฟอง (ตัวอย่าง 1 ตัวอย่างจะต้องฉีดไข่ไก่ฟัก อย่างน้อย 3 ฟอง) หลังจากฉีดไข่ไก่ฟัก นำไข่ไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37°C ต่อไปอีก 72 ชั่วโมง การตรวจไข่ไก่ฟักจะตรวจโดยการส่องไข่วันละ 2 ครั้ง ไข่ที่ตัวอ่อนตายจะสังเกตเห็นการหยุดเคลื่อนไหวของตัวอ่อนและหลอดเลือดสลายตัว (การตรวจว่าตัวอ่อนตายหรือไม่ เนื่องจากเชื้อไขหวัดนกเป็นเชื้อไวรัสที่สามารถทำให้ตัวอ่อนตายได้ภายใน 72 ชั่วโมง) หลังจากครบ 72 ชั่วโมง จะเก็บ allantoic fluid และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -70°C เพื่อตรวจพิสูจน์เชื้อต่อไป การตรวจพิสูจน์เชื้อไขหวัดนก สามารถตรวจ

พิสูจน์เชื้อโดยวิธีทางซีรัมวิทยา โดยการตรวจพิสูจน์เชื้อด้วยวิธี hemagglutination and hemagglutination inhibition test (HA และ HI) ตามวิธีที่แนะนำโดย OIE

การตรวจพิสูจน์หาเชื้อไวรัสไข้หวัดนก โดยวิธี multiplex RT-PCR

การตรวจพิสูจน์เชื้อโดยวิธี multiplex RT-PCR ที่ได้พัฒนาขึ้นเพื่อตรวจยืนยันเชื้อไข้หวัดนก H5N1 ในส่วนของ M, H5 และ N1 ยีน (Payungporn et al., 2004) รายละเอียดของวิธี multiplex RT-PCR ประกอบด้วย แยกสกัด RNA ของเชื้อไข้หวัดนก โดยใช้ชุดแยกสกัด QIAamp viral RNA Mini kit (Qiagen, Hilden, Germany) หลังจากแยกสกัด RNA ของเชื้อไวรัส จะเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสแบบ one step RT-PCR โดยใช้ primer ที่เป็น universal primer สำหรับเชื้อไข้หวัดนก และ specific primers สำหรับตรวจยืนยันยีน M, H5 และ N1 ของเชื้อ ไข้หวัดนก การทำ one step RT-PCR ดำเนินโดยเตรียมสารเคมีในปริมาตร 25 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย 1X Improm-II reaction buffer (Promega), 0.5 mM dNTPs (Fermentus), 2.5 mM MgCl₂ (Promega), 10 Unit Rnasin Ribonuclease inhibitor (Promega) และ 1 ul Improm-II Reverse transcriptase จากนั้นเติม 1X Eppendorf Master Mix (Eppendorf, Hamburg, Germany) และ 0.8 uM of multiplex primers และ RNA ในปริมาตร 1-2 ไมโครลิตร หลังจากผสมสารเคมี ได้ทำ RT-PCR โดยใช้เครื่อง Thermal cycler ด้วยการตั้ง PCR condition ดังนี้ ที่อุณหภูมิ 25°C นาน 5 นาที ตามด้วยที่อุณหภูมิ 42°C นาน 60 นาที และที่อุณหภูมิ 70°C นาน 15 นาที จากนั้นเข้าสู่ PCR cycle โดยมี initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C นาน 3 นาที ตามด้วย 40 รอบของ denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C นาน 30 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 50°C นาน 30 วินาที extension ที่อุณหภูมิ 72°C นาน 90 วินาที และตามด้วย final extension ที่อุณหภูมิ 72°C นาน 7 นาที หลังจากทำ RT-PCR แล้ว นำ amplified PCR product ปริมาตร 7 ไมโครลิตร มาผสมกับ loading buffer (0.2% orange G ใน 50% glycerol) แล้วนำมาผ่าน 2% agarose gel electrophoresis (FMC Bioproducts, Rockland, ME) จากนั้นย้อม agarose gel ด้วย ethidium bromide (0.5 mg/ml) หลังจากย้อมนำ agarose gel มาตรวจดูขนาดของ PCR product และบันทึกภาพภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง gel documentation system (Vilber Lourmat, La Vallee, France) ผลบวกของ multiplex RT-PCR จะแสดงได้โดยขนาดของ PCR product ของยีน M, H5, N1 ที่ขนาด 276, 189 และ 131 bp ตามลำดับ

ระยะที่ 3. ลักษณะทางพันธุศาสตร์ของยีน Hemagglutinin (H5) และ Neuraminidase (N1) ของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก

โดยทั่วไปการถอดรหัสพันธุกรรม (DNA sequencing) ในแต่ละครั้ง จะได้ความยาวของสายรหัสพันธุกรรมที่มีความยาว 500-800 bp ซึ่งขึ้นอยู่กับคุณภาพของตัวอย่าง (template) และสมรรถนะของเครื่องถอดรหัส (sequencer) ในการวิจัยครั้งนี้เพื่อให้ได้รหัสพันธุกรรมที่มีความน่าเชื่อถือ ได้ทำการถอดรหัสพันธุกรรมอย่างน้อย 2 ครั้งต่อรหัสพันธุกรรม (2 fold coverage; 1 forward และ 1 reverse)

การแยกสกัด RNA และ การเตรียม cDNA ของเชื้อไข้หวัดนก

ในการศึกษาครั้งนี้ได้แยกสกัด RNA ของเชื้อไข้หวัดนก โดยใช้ชุดแยกสกัด QIAamp viral RNA Mini kit (Qiagen, Hilden, Germany) วิธีการแยกสกัด RNA ของเชื้อไวรัสจาก allantoic fluid ประกอบด้วย การเติมสารละลาย buffer AVL ปริมาตร 560 ไมโครลิตร และตัวอย่าง (allantoic fluid) ปริมาตร 140 ไมโครลิตร ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นทิ้งตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) นาน 10 นาที และเติมสารละลาย ethanol ปริมาตร 560 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำส่วนผสมปริมาตร 630 ไมโครลิตร ใส่ลงใน QIAamp spin column และปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที หลังจากนั้นสารละลายผ่าน column เติมสารละลาย Buffer AW1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ลงใน QIAamp spin column และปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Buffer AW2 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ลงใน QIAamp spin column และปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 14000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที ขั้นตอนสุดท้ายเติมสารละลาย Buffer AVE หรือ molecular grade water ปริมาตร 60 ไมโครลิตร ใส่ลงใน QIAamp spin column และปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เพื่อเก็บสารสกัด RNA เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

หลังจากแยกสกัด RNA แล้วจากนั้นได้เตรียม cDNA (cDNA synthesis) ซึ่งประกอบด้วย การผสม viral RNA และ 0.5 ug Random primer (Promega, Madison, WI) หรือ Universal primer สำหรับเชื้อไข้หวัดนก นำส่วนผสมมาผ่านเครื่อง Thermal cycler (Hybaid limited, Ashford, Middlesex, UK) ที่อุณหภูมิ 70°C นาน 5 นาที และที่อุณหภูมิ 4°C นาน 5 นาที หลังจากนั้นเติม 1X Improm-II reaction buffer (Promega), 0.5 mM dNTPs (Fermentus), 2.5 mM MgCl₂ (Promega), 10 Unit Rnasin Ribonuclease inhibitor (Promega) และ 1 ul Improm-II Reverse transcriptase และนำส่วนผสมมาผ่านเครื่อง Thermal cycler ที่อุณหภูมิ 25°C นาน 5 นาที ตามด้วยที่อุณหภูมิ 42°C นาน 60 นาที และที่อุณหภูมิ 70°C นาน 15 นาที cDNA ที่ได้จะนำไปใช้ในการหาถอดรหัสพันธุกรรม

ในขั้นตอนต่อไป ในการศึกษาคั้งนี้ ได้สร้าง cDNA ไว่ตัวอย่างละ 8-10 library เพื่อให้เพียงพอต่อการหารหัสพันธุกรรมของเชื้อไวรัส

การเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมโดยวิธี RT-PCR

หลังจากแยกสกัด RNA ของเชื้อไวรัส และเตรียม cDNA แล้ว จะเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนก ด้วยวิธี RT-PCR โดยใช้ primers ที่เป็น specific primers สำหรับยีนทั้ง 2 ยีนของเชื้อไข้หวัดนก (HA และ NA) การทำ RT-PCR ดำเนินโดยเตรียมสารเคมีในปริมาตร 25 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย 1X Eppendorf Master Mix (Eppendorf, Hamburg, Germany) และ 0.8 uM of each primers และ cDNA ในปริมาตร 1-2 ไมโครลิตร หลังจากผสมสารเคมีจะทำ RT-PCR โดยใช้เครื่อง Thermal ด้วยการตั้ง PCR condition ดังนี้ initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C นาน 3 นาที ตามด้วย 40 รอบของ denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C นาน 30 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 50-55°C นาน 30 วินาที (ขึ้นกับชนิดของ primer) extension ที่อุณหภูมิ 72°C นาน 90 วินาที และตามด้วย final extension ที่อุณหภูมิ 72°C นาน 7 นาที หลังจากทำ RT-PCR แล้ว นำ amplified PCR product ปริมาตร 25 ไมโครลิตร มาผสมกับ loading buffer (0.2% orange G ใน 50% glycerol) แล้วนำมาผ่าน 2% agarose gel electrophoresis (FMC Bioproducts, Rockland, ME) จากนั้นย้อม agarose gel ด้วย ethidium bromide (0.5 mg/ml) หลังจากย้อม นำ agarose gel มาตรวจดูขนาดของ PCR product และบันทึกภาพภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง gel documentation system (Vilber Lourmat, La Vallee, France) และตัดเจลเพื่อนำไปสกัด PCR product ให้บริสุทธิ์ต่อไป

การถอดรหัสพันธุกรรมของยีน H5 และ N1 (DNA sequencing)

วิธีการถอดรหัสพันธุกรรม หลังจากแยกสกัด RNA ของเชื้อไวรัส และเตรียม cDNA แล้ว จะเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสไข้หวัดนกด้วยวิธี RT-PCR โดยใช้ primers ที่เป็น specific primers สำหรับยีน Hemagglutinin (H5) และ Neuraminidase (N1) ซึ่งเป็น primers ที่ถูกออกแบบให้เหมาะกับเชื้อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5 และ N1 รายละเอียดวิธีการทำ RT-PCR โดยการเตรียมสารเคมีในปริมาตร 25 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย 1x Eppendorf Master Mix (Eppendorf, Hamburg, Germany) และ 0.8 uM of each primers และ cDNA ในปริมาตร 1-2 ไมโครลิตร หลังจากผสมสารเคมีจะทำ RT-PCR โดยใช้เครื่อง thermal cycler ด้วยการตั้ง PCR condition ดังนี้ initial denaturation ที่อุณหภูมิ 95°C นาน 10 นาที ตามด้วย 35 รอบของ denaturation ที่อุณหภูมิ 95°C นาน 45 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 50-55°C นาน 45 วินาที (ขึ้นกับชนิดของ primer) extension ที่อุณหภูมิ 72°C นาน 90 วินาที และตามด้วย final extension ที่อุณหภูมิ 72°C นาน 5 นาที หลังจากนั้นนำ amplified

PCR product ปริมาตร 25 ไมโครลิตร มาผสมกับ loading buffer (0.2% orange G ใน 50% glycerol) แล้วนำมาผ่าน 2% agarose gel electrophoresis (FMC Bioproducts, Rockland, ME) จากนั้นย้อม agarose gel ด้วย ethidium bromide (0.5 mg/ml) หลังจากย้อมนำ agarose gel มาตรวจดูขนาดของ PCR product และบันทึกภาพภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง gel documentation system (Vilber Lourmat, La Vallée, France) และตัดเจลเพื่อนำไปสกัด PCR product ให้บริสุทธิ์ การสกัด PCR product ให้บริสุทธิ์ จะใช้ชุดสกัด Perfectprep Gel Cleanup Kit (Eppendorf, Hamburg, Germany) หลังจากได้ purified PCR product จะนำไปถอดรหัสพันธุกรรมต่อไป

การถอดรหัสพันธุกรรม (DNA sequencing) จะส่งตัวอย่างให้ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางไวรัสตับอักเสบบี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หรือบริษัท MacroGen กรุงโซล ประเทศเกาหลีใต้ วิธีการหารหัสพันธุกรรมของเชื้อไวรัสประกอบด้วย การเตรียมตัวอย่างด้วย Big Dye Terminator V.3.0 Cycle Sequencing Ready Reaction (ABI, Foster City, CA) จากนั้นจะวิเคราะห์รหัสพันธุกรรมด้วยเครื่อง ABI-Prism 310 Genetic Analyzer (Perkin Elmer, Norwalk, CT) หรือ ABI-Prism 377 Genetic Analyzer (Perkin Elmer, Norwalk, CT) รหัสพันธุกรรมที่ได้จะนำมาตรวจ และประกอบรหัสพันธุกรรมต่อไป

การประกอบรหัสพันธุกรรม (Genome assembly)

การประกอบรหัสพันธุกรรม ได้ใช้เครื่องคอมพิวเตอร์ PC และโปรแกรมที่ใช้ในการอ่านและประกอบรหัสพันธุกรรม ซึ่งเป็นโปรแกรมในกลุ่ม DNASTAR (DNASTAR, Madison, WI) ขั้นตอนการประกอบรหัสพันธุกรรมประกอบด้วย

1. อ่านและยืนยันข้อมูลรหัสพันธุกรรม โดยปกติรหัสพันธุกรรมที่ได้จากเครื่อง ABI automated DNA sequencer (Applied Biosystems) จะเป็น ABI file format ซึ่งจำเป็นต้องใช้โปรแกรมอ่านข้อมูลรหัสพันธุกรรมจาก ABI file หรือ Text file ในการวิจัยครั้งนี้ได้ใช้โปรแกรม Chromas V1.45 (Griffith University, Queensland, Australia) และ BioEdit V7.00 (Tom Hall Pharmaceuticals Inc.) ในการอ่านข้อมูลรหัสพันธุกรรมและยืนยันผลการอ่าน (validate) รหัสพันธุกรรมให้ถูกต้อง

2. แปลงรหัสพันธุกรรมให้อยู่ใน file ที่เหมาะสมกับ assembly program ในการวิจัยครั้งนี้ได้ใช้โปรแกรม EditSeq (DNASTAR) ในการแปลง file ให้เหมาะสมกับ assembly program

3. ประกอบรหัสพันธุกรรม (assembly) ทำให้ได้สายรหัสพันธุกรรมที่ยาวขึ้น และครอบคลุมรหัสพันธุกรรมทั้งหมดของยีน Hemagglutinin (H5) และ Neuraminidase (N1) ของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก ในการวิจัยครั้งนี้ได้ใช้โปรแกรม BioEdit V7.00 (Tom Hall Pharmaceuticals Inc.) และ SeqMan (DNASTAR) ในการประกอบรหัสพันธุกรรม (assembly program)

การวิเคราะห์รหัสพันธุกรรมและเปรียบเทียบรหัสพันธุกรรมของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก (Genetic and cluster analysis of HA and NA genes)

หลังจากได้รหัสพันธุกรรมทั้งหมดของยีน Hemagglutinin (H5) และ Neuraminidase (N1) เชื้อไวรัสไข้หวัดนกแล้ว ได้วิเคราะห์รหัสพันธุกรรมและเปรียบเทียบรหัสพันธุกรรมเชื้อไวรัสในต่างประเทศ จากฐานข้อมูลรหัสพันธุกรรม ซึ่งประกอบด้วย

1. เปรียบรหัสพันธุกรรมทั้งหมดของเชื้อไข้หวัดนกในประเทศไทย รวมทั้งรหัสพันธุกรรมทั้งหมดของเชื้อไวรัสไข้หวัดนกจากต่างประเทศ รหัสพันธุกรรมของเชื่อดังกล่าวได้จากการ download รหัสพันธุกรรมผ่านทางฐานข้อมูล GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

2. เปรียบเทียบรหัสพันธุกรรมทั้งหมดของเชื้อไข้หวัดนก (comparison of full-length genomic sequences) ด้วยคอมพิวเตอร์โปรแกรม MegAlign (DNASTAR) ซึ่งใช้ในการเปรียบเทียบรหัสพันธุกรรมของแต่ละยีน

3. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ในระดับ genome (genetic relatedness) โดยวิธี phylogenetic analysis ด้วยคอมพิวเตอร์โปรแกรมที่ใช้ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ PAUP ซึ่งวิธี phylogenetic analysis จะสามารถบอกความสัมพันธ์ของเชื้อไวรัส เป็น percentage of similarity หรือ genetic distance และสามารถนำเสนอความสัมพันธ์ของเชื้อไวรัสในรูปของโครงสร้างความสัมพันธ์ (dendrogram หรือ phylogenetic tree)

การเผยแพร่ข้อมูล (data release)

การเผยแพร่ข้อมูล ทำได้โดยการส่งข้อมูลรหัสพันธุกรรมของยีน Hemagglutinin (H5) และ Neuraminidase (N1) ของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก (complete gene sequence) ไปยังฐานข้อมูล GenBank เพื่อเผยแพร่ในฐานข้อมูล GenBank ที่ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

ผลการวิจัย

การเก็บและตรวจพิสูจน์ตัวอย่างเชื้อไข้หวัดนกจากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด

การศึกษาค้นคว้านี้ได้เก็บตัวอย่างสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีก จากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสด ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล เช่น นนทบุรี ปทุมธานี ชลบุรี เพชรบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี อยุธยา อ่างทอง เป็นต้น โดยได้ทำการเก็บตัวอย่างแบบสุ่มเดือนละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 13 เดือน ตั้งแต่เดือน กรกฎาคม 2549 ถึง สิงหาคม 2550 ภาพแสดงตัวอย่างของสภาพและสถานที่การเก็บตัวอย่างและชนิดของสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีกจากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด ได้แสดงไว้ในภาพที่ 1

การศึกษาค้นคว้านี้ได้ตัวอย่างสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีก รวมทั้งสิ้นจำนวน 976 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นตัวอย่างได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิต (427 ตัวอย่าง) และตลาดสด (549 ตัวอย่าง) โดยเป็นตัวอย่างในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑลจำนวน 930 ตัวอย่าง และเป็นตัวอย่างที่ได้จากสัตว์ปีกมีชีวิตและซากสัตว์ปีก จากพื้นที่ที่มีรายงานการระบาดของโรคไข้หวัดนก (จังหวัดพิษณุโลกและพิจิตร) จำนวน 46 ตัวอย่าง รายละเอียดตัวอย่างจากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสด ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล จำนวน 976 ตัวอย่าง โดยจำแนกตามสถานที่และช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างได้แสดงไว้ในตารางที่ 2 นอกจากนี้ในตารางที่ 3 ยังแสดงรายละเอียดตัวอย่างจากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสด ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล โดยจำแนกตามชนิดของสัตว์ปีกและสถานที่เก็บตัวอย่าง

เชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด

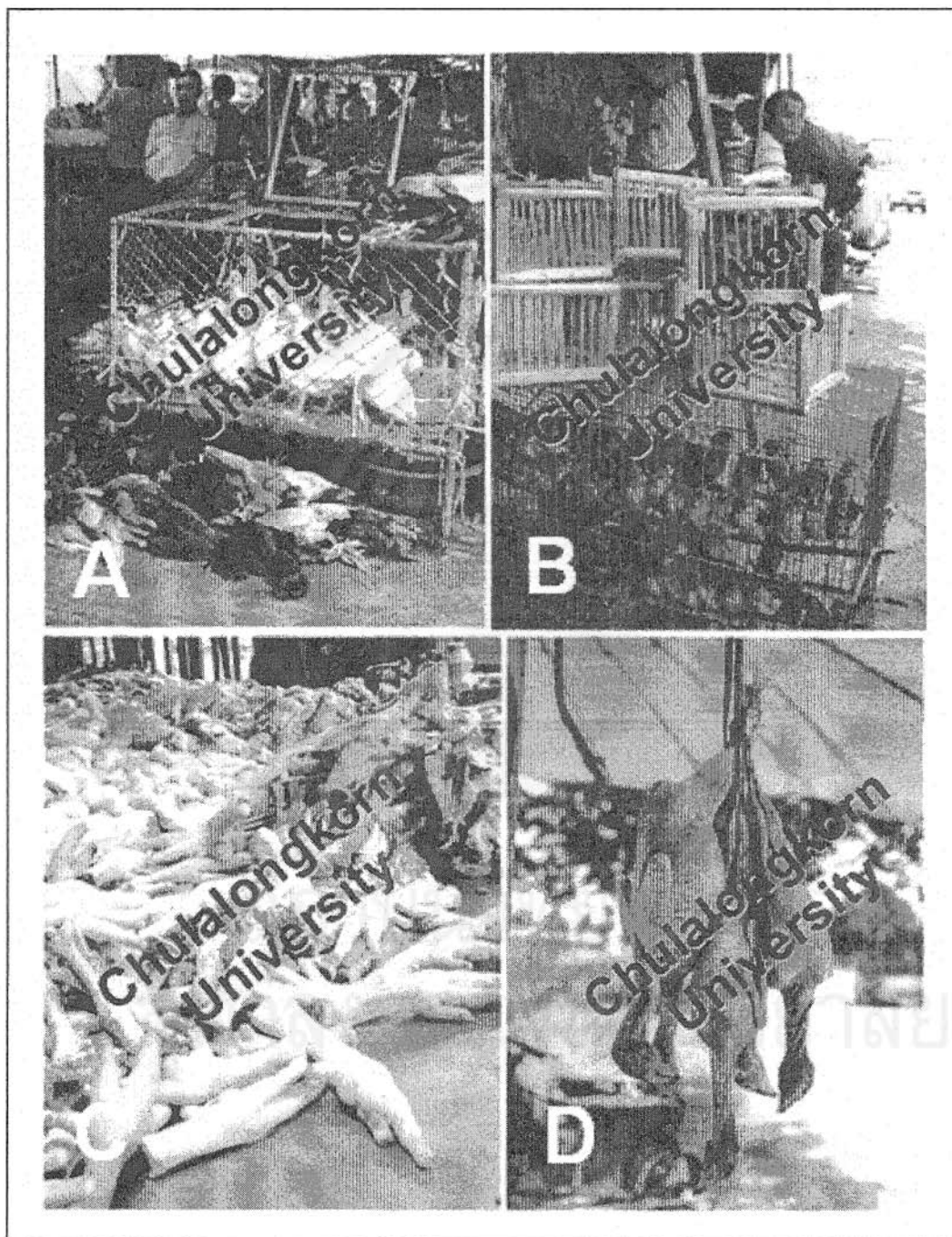
ตัวอย่างจากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดดังกล่าว ได้เพาะแยกเชื้อและตรวจพิสูจน์เชื้อ โดยหน่วยชั้นสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และตัวอย่างเชื้อไข้หวัดนกทุกตัวอย่างได้ตรวจพิสูจน์เชื้อไข้หวัดนก ในห้องปฏิบัติการของคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ด้วยวิธี multiplex RT-PCR ซึ่งได้ตรวจพิสูจน์ยีน 3 ยีน คือ HA, NA, M ยีน ในครั้งเดียว และสามารถตรวจยืนยันได้ว่าตัวอย่างเชื้อไข้หวัดนกเป็น influenza A virus (ให้ผลบวกต่อ M ยีน) subtype H5N1 (ให้ผลบวกต่อ H5 และ N1 ยีน) รายละเอียดตัวอย่างเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้ใน การศึกษาค้นคว้านี้ จำนวน 12 ตัวอย่าง โดยจำแนกตามชนิดของสัตว์ สถานที่แยกเชื้อไวรัส และปีที่แยกเชื้อได้แสดงไว้ในตารางที่ 4

ผลการศึกษารั้งนี้สามารถแยกพิษจุน้เชื้อไข้หวัดนก ได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด จำนวน 12 ตัวอย่าง คิดเป็น 1.22 เปอร์เซ็นต์ (12/976) โดยพบว่าเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้พบในช่วง 3 เดือนของปี 2549 และต้นปี 2550 (เดือนพฤศจิกายน (5 ตัวอย่าง) ธันวาคม (5 ตัวอย่าง) และ มกราคม (2 ตัวอย่าง)) ซึ่งเป็นช่วงที่มีรายงานการระบาดของโรคไข้หวัดนกในประเทศไทยครั้งล่าสุด นอกจากนี้ยังพบว่าตัวอย่างเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้มาจากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด โดยพบเชื้อไข้หวัดนกจากสัตว์ปีกมีชีวิตจำนวน 3 ตัวอย่าง (ไก่ 1 ตัวอย่าง และเป็ด 2 ตัวอย่าง) และพบเชื้อไข้หวัดนกจากซากสัตว์ปีกที่นำมาขายเป็นนกระเนื้อจำนวน 9 ตัวอย่าง (นกระเทา 5 ตัวอย่าง นกไ้ก่หนา 2 ตัวอย่าง และนกอีลู่่ม 2 ตัวอย่าง) จากการศึกษาครั้งนี้เชื้อไข้หวัดนกจากสัตว์ปีกที่พบเป็นตัวอย่างที่เก็บตัวอย่างจากจังหวัดปทุมธานี (7 ตัวอย่าง) สุพรรณบุรี (3 ตัวอย่าง) และกรุงเทพมหานคร (2 ตัวอย่าง) รายละเอียดของตัวอย่างเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้ในการศึกษาครั้งนี้ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 1 แสดงสภาพและสถานที่การเก็บตัวอย่างสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีกจากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด A: ตลาดค้าสัตว์ปีก (เปิดและไก่) B: ตลาดค้าสัตว์ปีก (นกกกระชอก) C: ตลาดสด (เนื้อไก่) D: ตลาดนกเนื้อ (นกไก่นา)



ตารางที่ 2 แสดงรายละเอียดตัวอย่างจากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสด ในเขตกรุงเทพมหานคร และปริมณฑล

เดือน	ชนิดและจำนวนตัวอย่าง		รวม total	จำนวนตัวอย่าง ที่ให้ผลบวก
	สัตว์ปีกมีชีวิต	เนื้อสัตว์ปีก		
Jul-06	7	0	7	
Aug-06	6	21	27	
Oct-06	8	26	34	
Nov-06	20	26	46	5*
Dec-06	18	9	27	5**
Jan-07	22+46****	35	57+46****	2***
Feb-07	13	36	49	
Mar-07	57	66	123	
Apr-07	63	74	137	
May-07	53	85	138	
Jun-07	84	40	124	
Jul-07	10	64	74	
Aug-07	20	67	87	
รวม	427	549	976	12

หมายเหตุ

- * ตัวอย่างที่ให้ผลบวกได้จากไก่มีชีวิต (1 ตัวอย่าง) นกเนื้อ (นกไก่อ่าน 2 ตัวอย่าง นกอีลุ่ม 1 ตัวอย่าง และ นกกระทา 1 ตัวอย่าง)
- ** ตัวอย่างที่ให้ผลบวกได้จากนกเนื้อ (นกอีลุ่ม 1 ตัวอย่าง และนกกระทา 4 ตัวอย่าง)
- *** ตัวอย่างที่ให้ผลบวกได้จากเป็ดมีชีวิต 2 ตัวอย่าง
- **** รวม 46 ตัวอย่างได้จากพื้นที่ที่ทำการระบาดของโรคไข้หวัดนก (พิษณุโลกและพิจิตร)

ตารางที่ 3 แสดงรายละเอียดตัวอย่างจากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสด ในเขตกรุงเทพมหานคร และปริมณฑล จำแนกตามชนิดสัตว์ปีก

ชนิดสัตว์ปีก	ชนิดและจำนวนตัวอย่าง		รวม total	จำนวนตัวอย่าง ที่ให้ผลบวก
	สัตว์ปีกมีชีวิต	เนื้อสัตว์ปีก		
ไก่	204+46	3		1
เป็ด	59	2		2
นกกระทา	-	396		5
นกพิราบ	6	-		
นกกระจอก	112	6		
นกอีลุ้ม	-	27		2
นกกวัก	-	33		
นกอีโก้ง	-	1		
นกเป็ดแดง	-	1		
นกไก่นา	-	80		2
รวม	427	549	976	12

หมายเหตุ

* รวม 46 ตัวอย่างได้จากพื้นที่ที่ทำการระบาดของโรคไขหวัดนก (พิษณุโลกและพิจิตร)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 แสดงรายละเอียดของเชื้อไขหวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสดจำนวน 12 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง	เชื้อไวรัส	สถานที่	ชนิดสัตว์
CU-317	A/Moorhen/Thailand/CU-317/06	สุพรรณบุรี	นกไก่อนา
CU-318	A/Moorhen/Thailand/CU-318/06	สุพรรณบุรี	นกไก่อนา
CU-319	A/Watercock/Thailand/CU-319/06	ปทุมธานี	นกอีลุ้ม
CU-320	A/Quail/Thailand/CU-320/06	ปทุมธานี	นกกระทา
CU-321	A/Chicken/Thailand/CU-321/06	กรุงเทพ	ไก่
CU-330	A/Quail /Thailand/CU-330/06	ปทุมธานี	นกกระทา
CU-331	A/Quail /Thailand/CU-331/06	ปทุมธานี	นกกระทา
CU-332	A/Quail/Thailand/CU-332/06	ปทุมธานี	นกกระทา
CU-333	A/Quail/Thailand/CU-333/06	ปทุมธานี	นกกระทา
CU-334	A/Watercock/Thailand/CU-334/06	ปทุมธานี	นกอีลุ้ม
CU-328	A/Duck/Thailand/CU-328/07	กรุงเทพ	เป็ด
CU-329	A/Duck/Thailand/CU-329/07	กรุงเทพ	เป็ด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รหัสพันธุกรรม (cDNA sequencing) ของยีน Hemagglutinin (H5) และ Neuraminidase (N1) ของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก

การวิจัยครั้งนี้ได้ใช้ primers ที่ออกแบบจำเพาะต่อยีนทั้ง 2 ยีน (HA และ NA) ของเชื้อไข้หวัดนก รายละเอียดของ primers ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ได้แสดงไว้ในรายงานของ Viseshakul และคณะ (2004) (Viseshakul et al., 2004) เมื่อใช้ primers ที่จำเพาะต่อยีนของเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 จะสามารถเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของแต่ละยีนของเชื้อไข้หวัดนกและถอดรหัสพันธุกรรมต่อไป

การวิจัยครั้งนี้ได้หารหัสพันธุกรรมจำนวน 2 ยีน (HA และ NA) ของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดในปี 2549 และ 2550 รวม 12 ตัวอย่าง (รวม 24 sequences) รหัสพันธุกรรมที่ได้จากผลการศึกษาครั้งนี้ได้นำไปเผยแพร่ โดยจะส่งข้อมูลรหัสพันธุกรรมของยีน (nucleotide sequences) ไปยังฐานข้อมูล GenBank ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเชื้อไข้หวัดนกต่อไป ซึ่งฐานข้อมูลดังกล่าวสามารถเข้าไปค้นคว้าได้ที่ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> โดยที่รหัสพันธุกรรมของยีนแต่ละยีนของเชื้อไข้หวัดนกจำนวน 12 ตัวอย่าง จะมีหมายเลขประจำของรหัสพันธุกรรม (GenBank accession number) เพื่อประโยชน์ในการค้นหาข้อมูลดังกล่าวในอนาคต รายละเอียดของรหัสพันธุกรรมในฐานข้อมูลได้แสดงไว้ในตารางที่ 5 อย่างไรก็ตามในรายงานฉบับนี้ ตัวอย่างเชื้อไข้หวัดนกได้เตรียมข้อมูลเพื่อส่งไปยังฐานข้อมูล GenBank แต่ยังไม่ีหมายเลขประจำของรหัสพันธุกรรม จนกว่าจะมีการตีพิมพ์ผลงานวิจัย รายละเอียดรหัสพันธุกรรมและขนาดรหัสพันธุกรรมของยีนของเชื้อไข้หวัดนกจำนวน 24 sequences ในรูปแบบของฐานข้อมูล GenBank ได้แสดงไว้ในภาคผนวก ก (เชื้อไข้หวัดนก จำนวน 12 ตัวอย่าง รวม 24 sequences)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 แสดงรายละเอียดและขนาดรหัสพันธุกรรมของยีน 2 ยีน (HA และ NA) ของเชื้อไขหวัดนก จำนวน 12 ตัวอย่าง

ตัวอย่าง (ID)	ชนิดสัตว์ (Host)	สถานที่ (Location)	จำนวนนิวคลีโอไทด์ของยีน (bp) (Nucleotide sequence (bp))	
			HA	NA
CU-317	นกไก่อินา	สุพรรณบุรี	1667	1351
CU-318	นกไก่อินา	สุพรรณบุรี	1667	1343
CU-319	นกอีลุ่ม	ปทุมธานี	1676	1333
CU-320	นกกระทา	ปทุมธานี	1693	1351
CU-321	ไก่	กรุงเทพ	1673	1339
CU-330	นกกระทา	ปทุมธานี	1715	1340
CU-331	นกกระทา	ปทุมธานี	1710	1332
CU-332	นกกระทา	ปทุมธานี	1714	1320
CU-333	นกกระทา	ปทุมธานี	1696	1323
CU-334	นกอีลุ่ม	ปทุมธานี	1707	1320
CU-328	เป็ด	กรุงเทพ	1719	1311
CU-329	เป็ด	กรุงเทพ	1667	1348

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลักษณะทางพันธุศาสตร์ของยีน Hemagglutinin (H5) และ Neuraminidase (N1) ของเชื้อไวรัสไข้หวัดนก

การวิจัยครั้งนี้ได้ข้อมูลรหัสพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดในประเทศไทย จำนวน 12 ตัวอย่าง จำแนกเป็นเชื้อไข้หวัดนกที่ได้จากสัตว์ปีกมีชีวิต (ไก่และเป็ด) (จำนวน 2 ยีน) จำนวน 3 ตัวอย่าง และเชื้อไข้หวัดนกที่ได้จากสัตว์ปีกชำแหละหรือนกเนื้อ (จำนวน 2 ยีน) จำนวน 9 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 12 ตัวอย่าง (24 เส้นรหัสพันธุกรรม) นอกจากนี้ยังได้เปรียบเทียบรหัสพันธุกรรมของยีนทั้ง 2 ยีน (HA และ NA) ของเชื้อไข้หวัดนกที่ได้ในการศึกษารุ่นนี้ โดยได้วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (genetic relatedness) ของเชื้อไข้หวัดนกด้วยวิธี cluster analysis ซึ่งวิธีดังกล่าวจะสามารถบอกความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัส ในรูปของโครงสร้างความสัมพันธ์ (phylogenetic tree) ซึ่งจะสามารถจัดกลุ่มของเชื้อไข้หวัดนกที่มีลักษณะทางพันธุกรรมใกล้เคียงกันไว้ด้วยกัน นอกจากนี้ยังได้วิเคราะห์เปรียบเทียบรหัสพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนกในประเทศไทยกับเชื้อที่แยกได้จากประเทศต่างๆ เพื่อให้เห็นภาพรวมของความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสไข้หวัดนกที่ระบอบทั่วโลก

นอกจากนี้การวิจัยครั้งนี้ยังได้วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของเชื้อไข้หวัดนก โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotides) และกรดอะมิโน (amino acids) ของยีนทั้ง 2 ยีน (HA และ NA) ของเชื้อไข้หวัดนกจำนวน 12 ตัวอย่าง เพื่อศึกษาจุดที่มีความแตกต่างและมีความเหมือนในแต่ละยีนของเชื้อไข้หวัดนก (polymorphic sites) และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุดที่มีความสำคัญต่อความรุนแรงของเชื้อ (virulence determinants) และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุดที่มีผลต่อยาต้านไวรัสของเชื้อไข้หวัดนก (antiviral drug resistance) รวมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุดที่มีผลต่อการกระตุ้นภูมิของเชื้อไวรัส (antigenic sites) เนื่องจากยีนแต่ละยีนจะมีจุดต่างๆ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของเชื้อไข้หวัดนกที่แตกต่างกัน

Hemagglutinin gene (HA)

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของยีน HA

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของยีน HA ของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จำนวน 12 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นช่วงระยะเวลาเดียวกันกับช่วงระยะเวลาที่มีการระบาดของโรคไข้หวัดนกในระลอกที่ 5 ของประเทศไทย (ปลายปี 2549-ต้นปี 2550) พบว่าเชื้อไข้หวัดนกทั้ง 12 ตัวอย่างจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน (มีลักษณะทางพันธุกรรมของ HA ยีนใกล้เคียงกัน) เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบยีน HA ของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้ในประเทศไทยกับเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากประเทศต่างๆ เช่น จีน ฮองกง เวียดนาม ลาว กัมพูชา อินโดนีเซีย พบว่าเชื้อไข้หวัดนกในประเทศไทยมีความใกล้เคียงและจัดอยู่ในกลุ่ม (cluster)

เดียวกับเชื้อไขหวัดนกจากประเทศเวียดนาม มาเลเซียและกัมพูชา (Vietnam and Thailand lineage) และแยกจากกลุ่มของเชื้อไขหวัดนกจากประเทศอินโดนีเซียในช่วงปี 2546-2550 และเชื้อไขหวัดนกที่แยกได้จากประเทศจีน (ตะวันออกและใต้) ในช่วงปี 2548-2549 และจีนตะวันตก (Qinghai) ในช่วงปี 2548-2549 อย่างไรก็ตามเชื้อไขหวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ทั้งหมดในการวิจัยครั้งนี้เป็นเชื้อไวรัสใน genotype เดียวกันคือ genotype Z และมีเชื้อไวรัสไขหวัดนก A/Goose/Guangdong/1/96 เป็นต้นกำเนิดสายพันธุ์ ผลของการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อไขหวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดในปี 2549-2550 กับเชื้อไขหวัดนกที่แยกได้จากประเทศต่างๆ ได้แสดงไว้ในรูปของโครงสร้างความสัมพันธ์ในภาพที่ 1

การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของยีน HA

ยีน HA ของเชื้อไขหวัดนก สร้างโปรตีน Hemagglutinin ที่มีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับความรุนแรงของเชื้อไวรัสในการเกิดโรคทั้งในสัตว์ปีกและคน การเฝ้าระวังการเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของยีน HA ในจุดต่างๆ ที่มีความสำคัญต่อคุณสมบัติของเชื้อไวรัสและความรุนแรงในการเกิดโรคของเชื้อไวรัส ได้แก่

- connective peptide sequence (HA cleavage site) ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 323-329
- receptor binding site ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 222-224
- receptor binding residues ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 129, 175
- glycosylation sites จำนวน 7 จุดที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 10-12, 11-13, 22-24, 154-156, 165-167, 193-195 และ 286-288

ผลสรุปการวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน HA ของเชื้อไขหวัดนกที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ ในจุดที่มีความสำคัญดังกล่าวของยีน HA ได้แสดงไว้ในตารางที่ 6

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน โดยวิธี alignment ในส่วนของ connective peptide sequence (HA cleavage site) ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 323-329 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 6 ซึ่งพบว่าเชื้อไข้หวัดนกส่วนใหญ่ที่แยกได้จากตลาดในการศึกษาครั้งนี้ในประเทศไทยมี connecting peptide sequence แบบ "RERRRKK" ซึ่งแสดงถึงลักษณะของเชื้อไข้หวัดนกที่มีความรุนแรง (Highly Pathogenic Avian Influenza; HPAI) นอกจากนี้การวิจัยครั้งนี้ยังพบว่าเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากเป็ดในช่วงปี 2550 (CU-329) มีลักษณะของ connecting peptide sequence ที่แตกต่างกันไป คือ "REKRRKK" แต่เชื้อไวรัสยังคงมีความรุนแรงและทำให้เกิดโรคในสัตว์ปีก

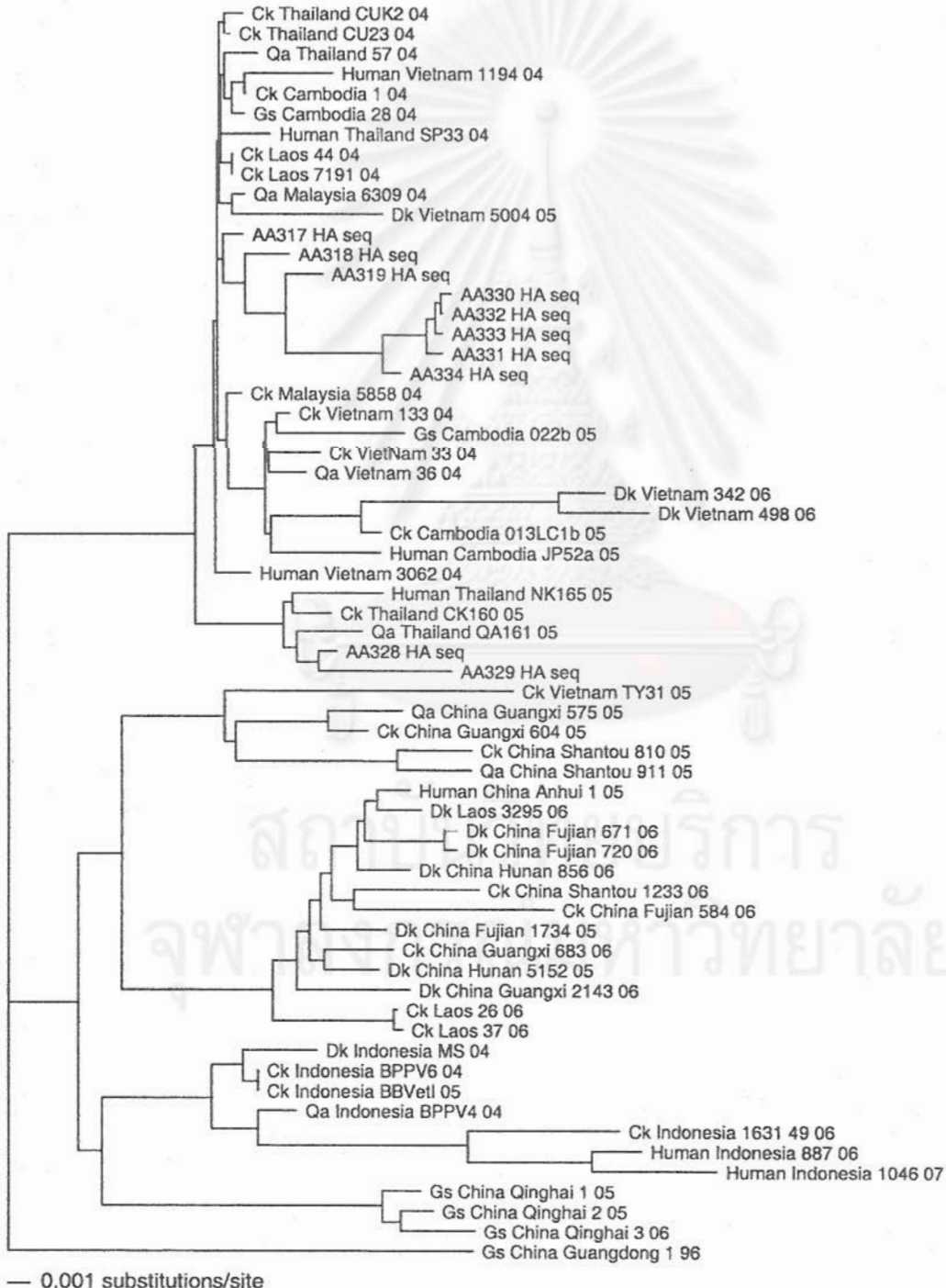
ผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน โดยวิธี alignment ในส่วนของ receptor binding site ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 222-224 และ receptor binding residues ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 129, 175 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์พบว่าเชื้อไข้หวัดนกทั้งหมดมี receptor binding site ที่ตำแหน่งกรดอะมิโน 222-224 เหมือนกัน (Q222-G224) ซึ่งเป็นลำดับกรดอะมิโนที่จำเพาะต่อตัวรับในเซลล์โฮสต์ของสัตว์ปีก (host receptor) เมื่อศึกษา receptor binding residues ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 129, 175 พบว่าเชื้อไข้หวัดนกมีกรดอะมิโน L, Leucine ทั้งตำแหน่งที่ 129 และ 175 อย่างไรก็ตามพบว่าเชื้อไข้หวัดนกจากห่าน Goose/Guangdong/1/96 มีกรดอะมิโน S; serine และ L; Leucine ในตำแหน่งที่ 129 และ 175 ตามลำดับ

ผลการศึกษาในส่วนของ glycosylation sites ในโปรตีน HA1 พบว่าเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้ในประเทศไทยทุกตัวอย่างมี glycosylation sites จำนวน 7 แห่ง โดยมีการเพิ่มของ glycosylation site ที่ตำแหน่ง 154-156 ซึ่งไม่พบในเชื้อไข้หวัดนกส่วนใหญ่ที่แยกได้จากประเทศฮ่องกงและจีน เช่น Goose/Guangdong/1/96

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างความสัมพันธ์ (phylogenetic tree) จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของยีน HA ของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดจำนวน 12 ตัวอย่างเปรียบเทียบกับเชื้อไข้หวัดนกจากต่างประเทศ ซึ่งโครงสร้างความสัมพันธ์ได้วิเคราะห์โดยวิธี Neighbor-joining algorithm with branch swapping และใช้ bootstrap analysis 1000 replication

NJ



ตารางที่ 6 แสดงรายละเอียดผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของโปรตีน HA ของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดจำนวน 12 ตัวอย่าง ในส่วนของ HA cleavage site และ receptor binding site

Virus	HA gene				
	Connecting peptide sequences	Receptor binding site		Receptor binding site	
		323-329 ^a	129 ^b	175 ^b	222 ^c
A/Goose/Guangdong/1/96	RERRRKK	S	L	Q	G
A/Chicken/Thailand/CU-K2/04	RERRRKK	L	L	Q	G
A/Chicken/Thailand/CU-23/04	RERRRKK	L	L	Q	G
A/Moorhen/Thailand/CU-317/06	RERRRKK	L	L	Q	G
A/Moorhen/Thailand/CU-318/06	RERRRKK	L	L	Q	G
A/Watercock/Thailand/CU-319/06	RERRRKK	L	L	Q	G
A/Quail/Thailand/CU-320/06	RERRRKK	L	L	Q	G
A/Chicken/Thailand/CU-321/06	RERRRKK	L	L	Q	G
A/Quail /Thailand/CU-330/06	RERRRKK	L	L	Q	G
A/Quail /Thailand/CU-331/06	RERRRKK	L	L	Q	G
A/Quail/Thailand/CU-332/06	RERRRKK	L	L	Q	G
A/Quail/Thailand/CU-333/06	RERRRKK	L	L	Q	G
A/Watercock/Thailand/CU-334/06	RERRRKK	L	L	Q	G
A/Duck/Thailand/CU-328/07	RERRRKK	L	L	Q	G
A/Duck/Thailand/CU-329/07	REKRRKK	L	L	Q	G

^a เชื้อไข้หวัดนกในการศึกษาครั้งนี้มี connecting peptide sequence แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ RERRRKK, REKRRKK

^b ชนิดของกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 129 และ 175 ของยีน HA: S:Serine / L:Leucine และ L:Leucine ตามลำดับ

^c ชนิดของกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 222 และ 224 ของยีน HA: Q:Glutamine, G:Glycine

Neuraminidase gene (NA)

ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของยีน NA

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของยีน NA ของเชื้อไขหวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดในปี 2549-2550 จำนวน 12 ตัวอย่าง สอดคล้องกับผลการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของยีน HA กล่าวคือ เชื้อไขหวัดนกทั้ง 12 ตัวอย่างจัดอยู่ในกลุ่ม (cluster) ของเชื้อไขหวัดนกกลุ่มสายพันธุ์ไทยและเวียดนาม (Vietnam and Thailand lineage) และพบว่าเมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบยีน NA ของเชื้อไขหวัดนกที่แยกได้ในประเทศไทยกับเชื้อที่แยกได้จากประเทศต่างๆ เช่น จีน ฮองกง เวียดนาม อินโดนีเซีย ลาว กัมพูชา ระหว่างปี 2547-2550 พบว่าเชื้อไขหวัดนกในประเทศอินโดนีเซีย และเชื้อไขหวัดนกที่แยกได้จากประเทศจีน (ตะวันออก) ยุโรป จัดอยู่ในกลุ่มที่แยกจากกลุ่มสายพันธุ์ไทยและเวียดนาม อย่างไรก็ตามเชื้อไขหวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ทั้งหมด รวมทั้งเชื้อไวรัสไขหวัดนกที่แยกได้จากสัตว์ปีกมีชีวิตและซากสัตว์ปีกจากการศึกษาครั้งนี้ ยังคงถูกจัดให้อยู่ใน genotype เดียวกันคือ genotype Z ผลของการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของยีน NA ของเชื้อไขหวัดนกในประเทศไทยซึ่งแสดงไว้ในรูปของโครงสร้างความสัมพันธ์ ได้แสดงไว้ในภาพที่ 3

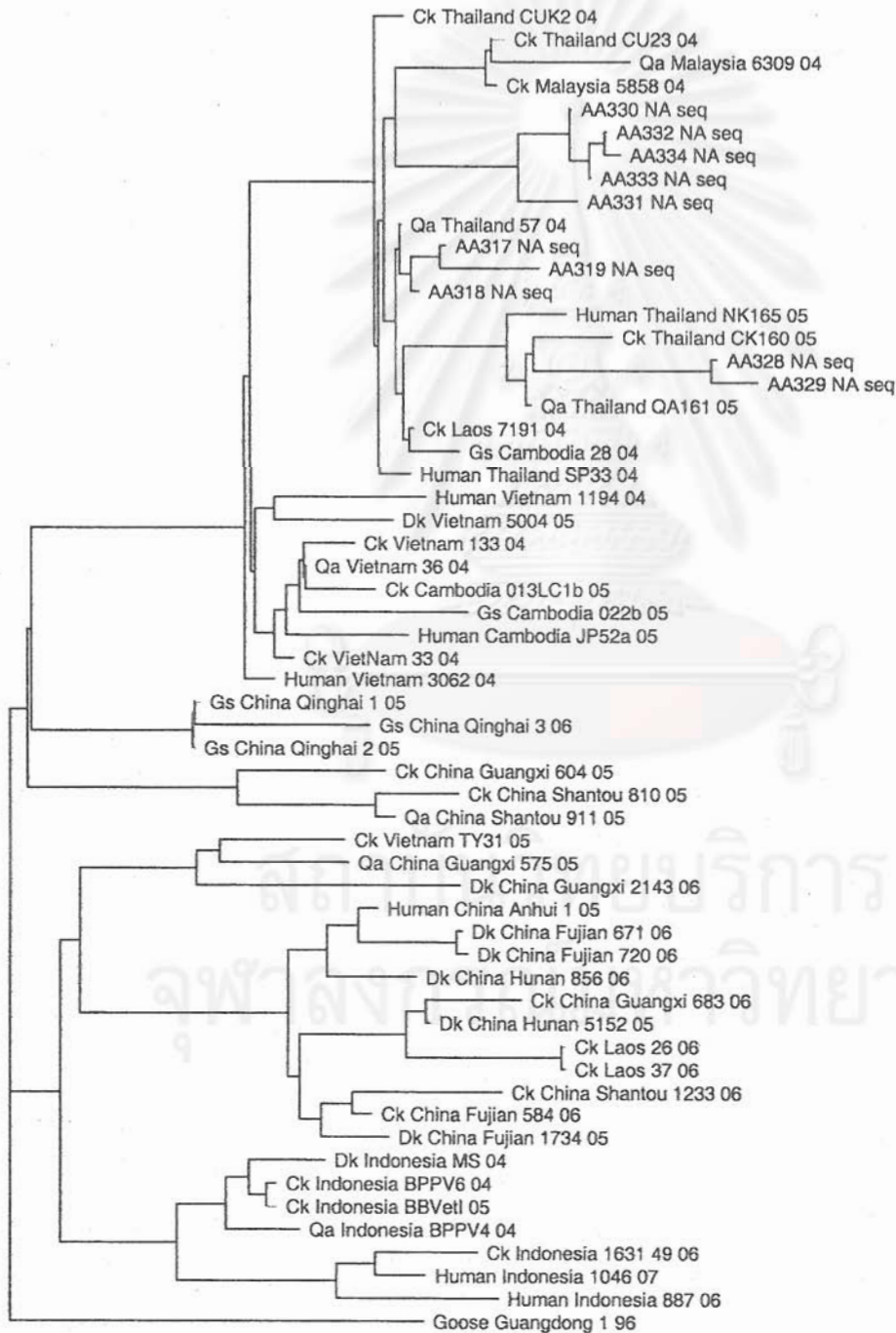
การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของยีน NA

ตารางสรุปการวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน NA ของเชื้อไขหวัดนก ในจุดที่มีความสำคัญต่อคุณสมบัติของเชื้อไวรัสได้แสดงไว้ในตารางที่ 7 ซึ่งผลการศึกษาลักษณะของโปรตีน NA ของเชื้อไขหวัดนกพบว่าที่บริเวณ stalk region ของเชื้อไขหวัดนกที่แยกได้จากตลาดทั้ง 12 ตัวอย่างมีการลดจำนวนของกรดอะมิโนจำนวน 20 ตัว (20 amino acid deletion) เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของยีน NA ของเชื้อไวรัสไขหวัดนกจากห่านในประเทศจีน (Goose/Guangdong/1/96) ในปี 2539 พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงบริเวณ stalk region ในรูปแบบของวิวัฒนาการจากการที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงหรือหายไปของกรดอะมิโนจำนวน 20 ตัว และพบว่าเชื้อไขหวัดนกในประเทศไทยทั้งหมดมีการลดจำนวนของกรดอะมิโน (amino acid deletion) จำนวน 20 ตัว ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนดังกล่าว

นอกจากนี้ในตำแหน่งของโปรตีน NA บางจุด อาจมีผลต่อคุณสมบัติของเชื้อไวรัสในการต้านหรือต่อต้านยาต้านไวรัสบางชนิด (antiviral drug) การวิเคราะห์จุดที่มีความสำคัญในโปรตีน NA ที่มีผลต่อการต่อต้านยาต้านเชื้อไวรัส Oseltamivir ของเชื้อไขหวัดนก จะวิเคราะห์เปรียบเทียบตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 119, 275, 293, 295 (N2 numbering system จะเป็นตำแหน่งที่ 119, 274, 292, 294 (Moscona, 2005b)) ซึ่งผลการวิจัยพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนในตำแหน่งต่างๆ ที่มีผลต่อการต่อต้านยาต้านไวรัสของเชื้อไขหวัดนก รายละเอียดผลการวิเคราะห์กรดอะมิโนที่มีผลต่อการต่อต้านยาต้านไวรัสของเชื้อไขหวัดนกได้แสดงไว้ในตารางที่ 7 เช่นกัน

ภาพที่ 3 แสดงโครงสร้างความสัมพันธ์ (phylogenetic tree) จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของยีน NA ของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดจำนวน 12 ตัวอย่างเปรียบเทียบกับเชื้อไข้หวัดนกจากต่างประเทศ ซึ่งโครงสร้างความสัมพันธ์ได้วิเคราะห์โดยวิธี Neighbor-joining algorithm with branch swapping และใช้ bootstrap analysis 1000 replication

NJ



ตารางที่ 7 แสดงรายละเอียดผลการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของยีน NA ของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดจำนวน 12 ตัวอย่าง ในส่วนของ NA stalk region และ Oseltamivir resistant residues

Virus	NA gene				
	NA stalk region 49-68 ^a	Oseltamivir resistant residues			
		119 ^b	275 ^c	293 ^d	295 ^e
A/Goose/Guangdong/1/96	No deletion	E	H	R	N
A/Chicken/Thailand/CU-K2/04	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N
A/Chicken/Thailand/CU-23/04	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N
A/Moorhen/Thailand/CU-317/06	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N
A/Moorhen/Thailand/CU-318/06	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N
A/Watercock/Thailand/CU-319/06	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N
A/Quail/Thailand/CU-320/06	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N
A/Chicken/Thailand/CU-321/06	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N
A/Quail/Thailand/CU-330/06	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N
A/Quail/Thailand/CU-331/06	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N
A/Quail/Thailand/CU-332/06	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N
A/Quail/Thailand/CU-333/06	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N
A/Watercock/Thailand/CU-334/06	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N
A/Duck/Thailand/CU-328/07	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N
A/Duck/Thailand/CU-329/07	20 aa deletion (49-68)	E	H	R	N

^a กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 49-68 ของยีน NA

^b กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 119: เชื้อไวรัสจะดื้อยาเมื่อมีการเปลี่ยนแปลง E119V

^c กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 275: เชื้อไวรัสจะดื้อยาเมื่อมีการเปลี่ยนแปลง H275Y (หรือ H274Y ใน N2 system)

^d กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 292: เชื้อไวรัสจะดื้อยาเมื่อมีการเปลี่ยนแปลง R293K (หรือ R292K ใน N2 system)

^e กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 295: เชื้อไวรัสจะดื้อยาเมื่อมีการเปลี่ยนแปลง N295S (หรือ N294S ใน N2 system)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การอภิปรายผล

โรคไข้หวัดนก (Avian Influenza) เกิดจากเชื้อไข้หวัดนก หรือ Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) สายพันธุ์ H5N1 ในประเทศไทยโรคไข้หวัดนกนับว่าเป็นโรคอุบัติใหม่ (emerging disease) โดยมีรายงานของโรคไข้หวัดนกเป็นครั้งแรกตั้งแต่ต้นปี 2547 จนปัจจุบันในประเทศไทยยังมีการระบาดของโรคไข้หวัดนกเป็นระยะๆ โรคไข้หวัดนกนอกจากจะส่งผลทำให้สัตว์ปีกและคนเสียชีวิตแล้ว ยังพบว่าเชื้อไวรัสไข้หวัดนกยังสามารถเกิดโรคในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมบางชนิด เช่น เสือ (Amonsin et al., 2006b; Keawcharoen et al., 2004a; Thanawongnuwech et al., 2005) แมว (Songserm et al., 2006a; Songserm et al., 2006b) และสุนัข (Songserm et al., 2006b) เป็นต้น

การศึกษาค้นคว้านี้ได้ตรวจพิสูจน์เชื้อไข้หวัดนกจากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด และได้วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้ ซึ่งจะทำให้เข้าใจระบาดวิทยาของเชื้อไข้หวัดนก รวมทั้งได้วิเคราะห์เปรียบเทียบนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนในจุดที่มีความสำคัญของแต่ละยีนของเชื้อไข้หวัดนก ซึ่งเป็นการเฝ้าระวังการเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของเชื้อไข้หวัดนกในประเทศไทย

ผลการศึกษาครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีก จากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตจำนวน 976 ตัวอย่าง โดยได้ทำการเก็บตัวอย่างแบบสุ่มเป็นเวลา 1 ปี จากตลาดสดในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล และจากพื้นที่ที่มีรายงานการระบาดของโรคไข้หวัดนก (จังหวัดพิษณุโลกและพิจิตร) รวม 11 จังหวัด ผลการตรวจพิสูจน์เชื้อไวรัสไข้หวัดนกในการศึกษาค้นคว้านี้ พบเชื้อไวรัสไข้หวัดนกจำนวน 12 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นเชื้อไวรัสที่แยกได้จากตัวอย่างสัตว์ปีกหรือซากสัตว์จากจังหวัดกรุงเทพฯ สุพรรณบุรี และปทุมธานี โดยพบว่าเชื้อไวรัสไข้หวัดนกจำนวน 12 ตัวอย่างเป็นเชื้อที่แยกได้จากสัตว์ปีกที่มีชีวิต (ไก่ และเป็ด จำนวน 3 ตัวอย่าง) และจากซากสัตว์ปีกหรือนกเนื้อ (นกกระทา นกไก่ นกอีล้ำ จำนวน 9 ตัวอย่าง) ซึ่งเป็นตัวอย่างเชื้อไวรัสไข้หวัดนกที่เป็นตัวแทนของเชื้อไวรัสในช่วงระยะที่ 5 หรือระยะล่าสุดของการระบาดของโรคไข้หวัดนกในประเทศไทย การศึกษาค้นคว้านี้ พบข้อสังเกตว่าสามารถเพาะแยกเชื้อไข้หวัดนกทั้ง 12 ตัวอย่างได้ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2549 ถึงเดือนมกราคม 2550 ซึ่งเป็นช่วงที่มีรายงานการระบาดของโรคไข้หวัดนกและสอดคล้องกับรายงานการระบาดของโรคไข้หวัดนกในประเทศไทยที่มักจะพบว่ามีอุบัติการณ์ของโรคสูงในช่วงฤดูหนาว (Tiensin et al., 2005) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ที่มีความรุนแรงสูง (HPAI) ซึ่งสามารถตรวจพบได้ทั้งในสัตว์ปีกมีชีวิตและซากสัตว์ปีก ในตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานในต่างประเทศหลายรายงาน ที่รายงานการพบเชื้อไวรัสไข้หวัดนกในตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด (Garber et al., 2007; Liu et al., 2003; Shortridge, 1999)

เชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 จำนวน 12 ตัวอย่างที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดในการศึกษาครั้งนี้ ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม genotype Z ซึ่งเป็น genotype ที่เป็นสาเหตุของการระบาดของโรคไข้หวัดนกในประเทศไทย และอีกหลาย ๆ ประเทศทั้งในภูมิภาคเอเชีย ยุโรปและแอฟริกา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่สรุปว่าเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้ในประเทศไทย เวียดนาม และอินโดนีเซีย (Li et al., 2004) รวมทั้งเชื้อไข้หวัดนกที่ระบาดในประเทศจีน ยุโรป และแอฟริกา (Salzberg et al., 2007; Zhou et al., 2006) เป็น genotype Z แต่ถูกจัดอยู่คนละกลุ่มย่อย (clade) โดยผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนกจำนวน 12 ตัวอย่างในยีน 2 ยีน (HA และ NA) แสดงลักษณะเด่นของเชื้อไข้หวัดนกใน genotype Z กล่าวคือ มี multiple basic amino acids ที่ HA cleavage site และมี 20 amino acid deletion ใน NA stalk region

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อไข้หวัดนกด้วยวิธี phylogenetic analysis สามารถสรุปได้ว่าเชื้อไข้หวัดนกทั้ง 12 ตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้ ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกับเชื้อไข้หวัดนกที่เคยระบาดในประเทศไทย ซึ่งเป็นกลุ่มสายพันธุ์ไทยและเวียดนาม (Vietnam-Thailand lineage) ในขณะที่เชื้อไข้หวัดนกจากประเทศอินโดนีเซีย ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มสายพันธุ์อินโดนีเซีย (Indonesia lineage) เชื้อไข้หวัดนกจากประเทศจีนตะวันตก (Qinghai) ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มสายพันธุ์ Western China, Europe and Africa lineage และเชื้อไข้หวัดนกจากประเทศจีนตอนใต้และตะวันออก ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มสายพันธุ์ Southern China lineage โดยสรุปผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อไข้หวัดนก โดยทั่วไปสอดคล้องกันกล่าวคือเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดในประเทศไทยส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันกับเชื้อไข้หวัดนกจากประเทศไทยและเวียดนาม และแตกต่าง (ไม่จัดกลุ่ม) จากเชื้อไข้หวัดนกจากประเทศอินโดนีเซีย และเชื้อที่แยกได้จากประเทศจีน ยุโรป และแอฟริกา นอกจากนี้ผลการศึกษานับสนับสนุนข้อสรุปที่ว่าเชื้อไข้หวัดนกที่ทำให้เกิดการระบาดของโรคในประเทศไทยและในหลายประเทศในเอเชียมีต้นแบบหรือ ancestor จากเชื้อไข้หวัดนกกลุ่มสายพันธุ์ "Goose/Guangdong/96-lineage" (Chen et al., 2006)

นอกจากนี้การศึกษานี้ยังเปรียบเทียบรหัสพันธุกรรม เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงหรือการกลายพันธุ์ของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดในประเทศไทย ในการศึกษาครั้งนี้ได้วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ในจุดที่มีความสำคัญของยีนจำนวน 2 ยีน (HA และ NA) ของเชื้อไข้หวัดนกทั้ง 12 ตัวอย่าง และเปรียบเทียบกับเชื้อไข้หวัดนกที่เป็นต้นกำเนิดสายพันธุ์

ที่ระบาดในเอเชีย "Goose/Guangdong/1/96" และเชื้อไขหวัดนกที่เป็นตัวแทนของเชื้อไวรัสในประเทศไทย "Chicken/Thailand/CU-K2/04" และ "Chicken/Thailand/CU-23/04"

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของยีน hemagglutinin gene (HA) ของเชื้อไขหวัดนกที่แยกได้จำนวน 12 ตัวอย่าง ที่บริเวณ HA cleavage site (ตำแหน่งที่ 323-329) พบว่าเชื้อไขหวัดนกมีลักษณะที่สำคัญ คือมีการดะมิโนชนิดเบสหลายตัว (multiple insertion of basic amino acids) ซึ่งถือว่าเป็นลักษณะสำคัญที่ใช้ในการนิยาม ชนิดของเชื้อไขหวัดนกว่าเป็นชนิดที่มีความรุนแรง (highly pathogenic avian influenza (HPAI) (Claas et al., 1998) โดยทั่วไป HA cleavage site เกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการติดเชื้อของเชื้อไขหวัดนก โดยพบว่าเชื้อไขหวัดนกที่มีการดะมิโนที่เป็นเบสเรียงตัวอยู่มากในบริเวณ HA cleavage site ของ HA โปรตีน จะทำให้เอนไซม์ protease ของโฮสต์ ตัดย่อยโปรตีน HA0 ให้เป็นโปรตีน HA1 และ HA2 ได้ดีขึ้นซึ่งจะมีผลต่อการเกาะติดและเชื่อมต่อของเชื้อไวรัสกับเซลล์โฮสต์ ดังนั้นการตัดย่อยโปรตีน HA ของเชื้อไวรัสจะมีผลต่อความสามารถในการติดเชื้อของเชื้อไวรัสโดยตรง (viral infectivity) (Steinhauer and Wharton, 1998)

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อไขหวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด มีลักษณะของ HA cleavage site 2 แบบคือ "RERRRKK" และ "REKRRKK" ซึ่งจากรายงานการศึกษาเชื้อไขหวัดนกในประเทศไทยพบว่า เชื้อไวรัสในประเทศไทยสามารถมี multiple insertion of basic amino acids ที่แตกต่างกันหลายแบบ เช่น "RERKRKK", "REKRRKK" และ "RERRRKKR" (Amonsin et al., 2006a; Keawcharoen et al., 2005) แต่ยังคงความเป็น highly pathogenic avian influenza (HPAI) และทำให้เกิดโรค (circulating virus) ทั้งในสัตว์ปีกหลายชนิด

เชื้อไขหวัดนกในการศึกษาครั้งนี้มีลักษณะของ avian specific-receptor binding properties คือ มีการดะมิโนที่ตำแหน่ง 222-224 เป็น Q (Glutamine) และ G (Glycine) แต่สามารถเพิ่มจำนวนและทำให้เกิดโรคได้ทั้งในสัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น คน เสือ สุนัข และแมว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานในฮ่องกงที่สรุปได้ว่า เชื้อไขหวัดนก (H5N1) สามารถทำให้เกิดโรคโดยการติดเชื้อในไก่และคน โดยไม่ต้องการพาหะตัวกลาง (intermediary host/vector) (Matrosovich et al., 1999b; Shinya et al., 2006; Webster et al., 1997) การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของเชื้อไขหวัดนกที่ตำแหน่ง 222-224 นี้ จะเป็นการดูความสามารถของเชื้อไวรัสในการเกาะจับกับตัวรับของโฮสต์ ซึ่งโดยปกติเชื้อไขหวัดนกสายพันธุ์ H5N1 จะมีการดะมิโนที่ตำแหน่ง 222-224 เป็น Q (Glutamine) และ G (Glycine) หากที่การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ตำแหน่งดังกล่าว อาจมีผลต่อความรุนแรงในการติด

เชื้อ โดยเฉพาะในคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม อย่างไรก็ตามการศึกษาค้างนี้ยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ receptor binding site ของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดในประเทศไทย

การศึกษาค้างนี้ยังได้วิเคราะห์กรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องกับบริเวณ receptor binding ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีรายงานของการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่มีผลต่อ receptor binding pocket เนื่องจากบริเวณดังกล่าวเป็นจุดที่มี positive selection pressure สูง (Smith et al., 2006) การศึกษาค้างนี้ยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 129 (L; Leucine) และ 175 (L; Leucine) ซึ่งเกี่ยวข้องกับความรุนแรงในการติดเชื้อของเชื้อไข้หวัดนก

เชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้ทุกตัวอย่างมี 20 amino acid deletion ที่บริเวณ stalk region (ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 49-68) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการพบ 20 amino acid deletion ในเชื้อไข้หวัดนกที่ทำให้เกิดการระบาดในประเทศไทย เวียดนาม อินโดนีเซีย และหลายประเทศในเอเชียและยุโรป ในช่วงปี พ.ศ. 2546-2550 (Amonsin et al., 2006a; Chen et al., 2006; Li et al., 2004; Salzberg et al., 2007; Viseshakul et al., 2004) ในขณะที่เชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากห่าน "Goose/Guangdong /1/96" ซึ่งถือว่าเป็นสายพันธุ์ต้นแบบ (ancestor) ไม่มี 20 amino acid deletion การเปลี่ยนแปลงที่จำนวนและชนิดของกรดอะมิโนของ NA stalk region เช่น การลดจำนวนกรดอะมิโน (deletion) ของเชื้อไข้หวัดนก เกี่ยวข้องกับการปรับเปลี่ยนการทำงานของเอ็นไซม์ของ NA (correct the enzymatic activity of NA) ซึ่งเป็นหนึ่งในขบวนการปรับตัวหรือวิวัฒนาการของเชื้อไข้หวัดนกจากการเปลี่ยนการติดเชื้อในนกน้ำนกป่า (wild aquatic birds) มายังสัตว์ปีกในบ้าน (domestic poultry) (Matrosovich et al., 1999b)

การศึกษาค้างนี้พบว่าเชื้อไข้หวัดนกไม่มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องกับการต่อต้านยาต้านไวรัส Oseltamivir กรดอะมิโนที่สำคัญที่มีผลต่อการต่อต้านยาต้านไวรัส Oseltamivir (Oseltamivir resistance) ของเชื้อไข้หวัดนกคือ กรดอะมิโนที่ตำแหน่งที่ 119, 275, 293 และ 295 ของโปรตีน NA การต่อต้านยาต้านไวรัส Oseltamivir เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 119 (E; Glutamic acid to V; Valine), 293 (R; Arginine to K; Lysine) และ 295 (N; Asparagine to S; Serine) (Kiso et al., 2004) และในตำแหน่งที่ 275 (H; Histidine to Y; Tyrosine) (Gubareva et al., 2000)

โดยสรุปการศึกษาครั้งนี้ได้ตรวจพิสูจน์และแยกเชื้อใช้หวัดนกได้จำนวน 12 ตัวอย่างจากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ในช่วงปีเดือนกรกฎาคม 2549 ถึงเดือนสิงหาคม 2550 และได้ถอดรหัสพันธุกรรมของยีน HA และ NA ของเชื้อใช้หวัดนกดังกล่าวและได้นำไปเผยแพร่ในฐานข้อมูลรหัสพันธุกรรม GenBank นอกจากนี้การศึกษานี้ยังทราบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อใช้หวัดนกที่แยกได้ รวมทั้งทราบการเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของเชื้อใช้หวัดนกในจุดที่มีความสำคัญในยีน HA และ NA ของเชื้อไวรัส จุดเด่นสำคัญของการวิจัยครั้งนี้คือ ได้ตรวจพิสูจน์และแยกเชื้อใช้หวัดนกได้จำนวน 12 ตัวอย่างจากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสด ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล และทราบข้อมูลรหัสพันธุกรรมของยีน HA และ NA ของเชื้อใช้หวัดนกจำนวน 12 ตัวอย่าง และทราบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของเชื้อใช้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกและตลาดสดในประเทศไทย



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อสรุปและเสนอแนะ

1. ผลการวิจัยครั้งนี้ได้ตรวจพิสูจน์เชื้อไข้หวัดนก จากตัวอย่างสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีกจำนวน 976 ตัวอย่างจากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสด ในเขตจังหวัดกรุงเทพมหานครและปริมณฑล
 - ตรวจพบเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 จำนวน 12 ตัวอย่างจากสัตว์ปีกมีชีวิต (เปิด 2 ตัวอย่าง และไก่ 1 ตัวอย่าง) และจากซากสัตว์ปีกหรือเนื้อ (นกกระทา 5 ตัวอย่าง นกไก่อ่าน 2 ตัวอย่าง และ นกอีหลุม 2 ตัวอย่าง)
 - เชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 จำนวน 12 ตัวอย่าง จำแนกเป็นตัวอย่างที่มาจากตลาดในจังหวัดปทุมธานี 7 ตัวอย่างจังหวัดกรุงเทพมหานคร 3 ตัวอย่าง และจังหวัดสุพรรณบุรี 2 ตัวอย่าง
 - เชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 จำนวน 12 ตัวอย่าง แยกได้ในช่วงระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2549 ถึง มกราคม 2550 ซึ่งเป็นช่วงเวลาเดียวกันกับรายงานการระบาดของโรคไข้หวัดนกในประเทศไทยครั้งล่าสุด (ระลอกที่ 5)
2. การวิจัยครั้งนี้ได้รหัสพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากสัตว์ปีกมีชีวิตและเนื้อสัตว์ปีกจำนวน 12 ตัวอย่าง (2 ยีน HA และ NA) รวมเป็นจำนวนสายพันธุกรรมทั้งสิ้น 24 สาย (รายละเอียดรหัสพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนก แสดงไว้ในภาคผนวกที่ ก)
3. ข้อมูลรหัสพันธุกรรมของยีน HA และ NA ของเชื้อไข้หวัดนกที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ จะนำไปเผยแพร่ในฐานข้อมูล GenBank ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อนักวิทยาศาสตร์ ในการศึกษาวิจัยเชิงลึกเกี่ยวกับเชื้อไข้หวัดนกต่อไป ขณะนี้อยู่ระหว่างการดำเนินการส่งข้อมูลเพื่อเผยแพร่ในฐานข้อมูลต่อไป
4. ผลของการวิเคราะห์ความสัมพันธ์และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของเชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสดในประเทศไทย พบว่า
 - เชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้ ยังคงเป็นเชื้อไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 กลุ่ม genotype Z (Influenza A virus (H5N1) genotype Z)
 - เชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้ ยังคงมีลักษณะของยีนของเชื้อไข้หวัดนกที่สามารถก่อโรครุนแรง เช่น การมี multiple basic amino acid ที่ HA cleavage site และการมี 20 amino acid deletion ใน NA ยีน
 - เชื้อไข้หวัดนกที่แยกได้ ทั้งที่แยกได้จากสัตว์ปีกมีชีวิตและซากสัตว์ปีกและเนื้อชนิดต่างๆ มีลักษณะทางพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกันและถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน โดยถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกันกับเชื้อที่แยกได้จากสัตว์ปีกและคนในประเทศไทยและเวียดนาม (Vietnam-Thailand lineage) และมีความแตกต่างโดยไม่ได้้อยู่ในกลุ่มเดียวกับเชื้อไข้หวัดนกจาก

ประเทศอินโดนีเซีย (Indonesia lineage) และประเทศจีน ยุโรป และแอฟริกา (Western China, Europe and Africa lineage)

5. ผลของการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของกรดอะมิโนในจุดสำคัญที่มีผลต่อคุณสมบัติของเชื้อไข้หวัดนกในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า
 - ยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงหรือการกลายพันธุ์ในจุดที่มีความสำคัญต่อคุณสมบัติและความรุนแรงของเชื้อไข้หวัดนกที่ได้จากตลาดค้าสัตว์ปีกมีชีวิตและตลาดสดในประเทศไทย เช่น การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนในยีน HA ที่บริเวณ HA cleavage site, receptor binding site, antigenic site ในยีน NA ที่บริเวณ NA stalk region, antiviral drug resistant residues
6. ประโยชน์ของการวิจัยครั้งนี้ ทำให้ได้ทราบข้อมูลการตรวจติดตามหาเชื้อไข้หวัดนก H5N1 ในสัตว์ปีกในตลาดสดจะเป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังการระบาดของโรค และการปนเปื้อนของเชื้อในสัตว์ปีก และเนื้อสัตว์ปีก และได้ข้อมูลรหัสพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนกจำนวน 12 ตัวอย่าง (ยีน HA และ NA) และทราบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อไข้หวัดนกในประเทศไทย รวมทั้งเฝ้าระวังการเปลี่ยนแปลงและการกลายพันธุ์ของเชื้อไข้หวัดนกในประเทศไทย ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการวางแผนควบคุมและป้องกันโรคไข้หวัดนกในประเทศไทย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

- Amonsin, A., Chutinimitkul, S., Pariyothorn, N., Songserm, T., Damrongwantanapokin, S., Puranaveja, S., Jam-On, R., Sae-Heng, N., Payungporn, S., Theamboonlers, A., Chaisingh, A., Tantilertcharoen, R., Suradhat, S., Thanawongnuwech, R., Poovorawan, Y., 2006a, Genetic characterization of influenza A viruses (H5N1) isolated from 3rd wave of Thailand AI outbreaks. *Virus Res.*
- Amonsin, A., Payungporn, S., Theamboonlers, A., Thanawongnuwech, R., Suradhat, S., Pariyothorn, N., Tantilertcharoen, R., Damrongwantanapokin, S., Buranathai, C., Chaisingh, A., Songserm, T., Poovorawan, Y., 2006b, Genetic characterization of H5N1 influenza A viruses isolated from zoo tigers in Thailand. *Virology* 344, 480-491.
- Brown, E.G., 2000, Influenza virus genetics. *Biomed. Pharmacother* 54, 196-209.
- Castrucci, M.R., Kawaoka, Y., 1993, Biologic importance of neuraminidase stalk length in influenza A virus. *J. Virol* 67, 759-764.
- Chen, H., Smith, G.J., Li, K.S., Wang, J., Fan, X.H., Rayner, J.M., Vijaykrishna, D., Zhang, J.X., Zhang, L.J., Guo, C.T., Cheung, C.L., Xu, K.M., Duan, L., Huang, K., Qin, K., Leung, Y.H., Wu, W.L., Lu, H.R., Chen, Y., Xia, N.S., Naipospos, T.S., Yuen, K.Y., Hassan, S.S., Bahri, S., Nguyen, T.D., Webster, R.G., Peiris, J.S., Guan, Y., 2006, Establishment of multiple sublineages of H5N1 influenza virus in Asia: Implications for pandemic control. *Proc Natl Acad Sci U S A.*
- Claas, E.C., Osterhaus, A.D., van Beek, R., De Jong, J.C., Rimmelzwaan, G.F., Senne, D.A., Krauss, S., Shortridge, K.F., Webster, R.G., 1998, Human influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus. *Lancet* 351, 472-477.
- De Jong, J.C., Rimmelzwaan, G.F., Fouchier, R.A., Osterhaus, A.D., 2000, Influenza virus: a master of metamorphosis. *J. Infect* 40, 218-228.
- de Jong, M.D., Hien, T.T., 2006, Avian influenza A (H5N1). *J. Clin. Virol* 35, 2-13.
- Fouchier, R.A., Munster, V., Wallensten, A., Bestebroer, T.M., Herfst, S., Smith, D., Rimmelzwaan, G.F., Olsen, B., Osterhaus, A.D., 2005, Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J. Virol* 79, 2814-2822.
- Gambaryan, A., Tuzikov, A., Pazynina, G., Bovin, N., Balish, A., Klimov, A., 2006, Evolution of the receptor binding phenotype of influenza A (H5) viruses. *Virology* 344, 432-438.
- Garber, L., Voelker, L., Hill, G., Rodriguez, J., 2007, Description of live poultry markets in the United States and factors associated with repeated presence of H5/H7 low-pathogenicity avian influenza virus. *Avian. Dis* 51, 417-420.

- Gubareva, L.V., 2004, Molecular mechanisms of influenza virus resistance to neuraminidase inhibitors. *Virus Res* 103, 199-203.
- Gubareva, L.V., Kaiser, L., Hayden, F.G., 2000, Influenza virus neuraminidase inhibitors. *Lancet* 355, 827-835.
- Hughes, M.T., McGregor, M., Suzuki, T., Suzuki, Y., Kawaoka, Y., 2001, Adaptation of influenza A viruses to cells expressing low levels of sialic acid leads to loss of neuraminidase activity. *J. Virol* 75, 3766-3770.
- Keawcharoen, J., Amonsin, A., Oraveerakul, K., Wattanodorn, S., Papravit, T., Karnda, S., Lekakul, K., Pattanarangsarn, R., Noppornpanth, S., Fouchier, R.A., Osterhaus, A.D., Payungporn, S., Theamboonlers, A., Poovorawan, Y., 2005, Characterization of the hemagglutinin and neuraminidase genes of recent influenza virus isolates from different avian species in Thailand. *Acta Virol* 49, 277-280.
- Keawcharoen, J., Oraveerakul, K., Kuiken, T., Fouchier, R.A., Amonsin, A., Payungporn, S., Noppornpanth, S., Wattanodorn, S., Theamboonlers, A., Tantilertcharoen, R., Pattanarangsarn, R., Arya, N., Ratanakorn, P., Osterhaus, D.M., Poovorawan, Y., 2004a, Avian influenza H5N1 in tigers and leopards. *Emerg Infect Dis* 10, 2189-2191.
- Keawcharoen, J., Oraveerakul, K., Kuiken, T., Fouchier, R.A., Amonsin, A., Payungporn, S., Noppornpanth, S., Wattanodorn, S., Theamboonlers, A., Tantilertcharoen, R., Pattanarangsarn, R., Arya, N., Ratanakorn, P., Osterhaus, D.M., Poovorawan, Y., 2004b, Avian influenza H5N1 in tigers and leopards. *Emerg. Infect. Dis* 10, 2189-2191.
- Kiso, M., Mitamura, K., Sakai-Tagawa, Y., Shiraishi, K., Kawakami, C., Kimura, K., Hayden, F.G., Sugaya, N., Kawaoka, Y., 2004, Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study. *Lancet* 364, 759-765.
- Li, K.S., Guan, Y., Wang, J., Smith, G.J., Xu, K.M., Duan, L., Rahardjo, A.P., Puthavathana, P., Buranathai, C., Nguyen, T.D., Estoepongastie, A.T., Chaisingh, A., Auewarakul, P., Long, H.T., Hanh, N.T., Webby, R.J., Poon, L.L., Chen, H., Shortridge, K.F., Yuen, K.Y., Webster, R.G., Peiris, J.S., 2004, Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature* 430, 209-213.
- Liu, M., He, S., Walker, D., Zhou, N., Perez, D.R., Mo, B., Li, F., Huang, X., Webster, R.G., Webby, R.J., 2003, The influenza virus gene pool in a poultry market in South central china. *Virology* 305, 267-275.

- Mase, M., Eto, M., Tanimura, N., Imai, K., Tsukamoto, K., Horimoto, T., Kawaoka, Y., Yamaguchi, S., 2005, Isolation of a genotypically unique H5N1 influenza virus from duck meat imported into Japan from China. *Virology* 339, 101-109.
- Matrosovich, M., Zhou, N., Kawaoka, Y., Webster, R., 1999a, The surface glycoproteins of H5 influenza viruses isolated from humans, chickens, and wild aquatic birds have distinguishable properties. *J. Virol* 73, 1146-1155.
- Matrosovich, M., Zhou, N., Kawaoka, Y., Webster, R., 1999b, The surface glycoproteins of H5 influenza viruses isolated from humans, chickens, and wild aquatic birds have distinguishable properties. *J. Virol* 73, 1146-1155.
- Moscona, A., 2005a, Oseltamivir resistance--disabling our influenza defenses. *N. Engl. J. Med* 353, 2633-2636.
- Moscona, A., 2005b, Oseltamivir resistance--disabling our influenza defenses. *N Engl J Med* 353, 2633-2636.
- OIE, 2005.
- Payungporn, S., Phakdeewirot, P., Chutinimitkul, S., Theamboonlers, A., Keawcharoen, J., Oraveerakul, K., Amonsin, A., Poovorawan, Y., 2004, Single-step multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for influenza A virus subtype H5N1 detection. *Viral Immunol* 17, 588-593.
- Salzberg, S.L., Kingsford, C., Cattoli, G., Spiro, D.J., Janies, D.A., Mehrez Aly, M., Brown, I.H., Couacy-Hymann, E., De Mia, G.M., Dung, D.H., Guercio, A., Joannis, T., Maken Ali, A.S., Osmani, A., Padalino, I., Saad, M.D., Savić, V., Sengamalay, N.A., Yingst, S., Zaborsky, J., Zorman-Rojs, O., Ghedin, E., Capua, I., 2007, Genome Analysis Linking Recent European and African Infl uenza (H5N1) Viruses. *Emerging Infectious Diseases* 13, 713-718.
- Shinya, K., Ebina, M., Yamada, S., Ono, M., Kasai, N., Kawaoka, Y., 2006, Avian flu: influenza virus receptors in the human airway. *Nature* 440, 435-436.
- Shortridge, K.F., 1999, Poultry and the influenza H5N1 outbreak in Hong Kong, 1997: abridged chronology and virus isolation. *Vaccine* 17 Suppl 1, S26-29.
- Smith, G.J., Naipospos, T.S., Nguyen, T.D., de Jong, M.D., Vijaykrishna, D., Usman, T.B., Hassan, S.S., Nguyen, T.V., Dao, T.V., Bui, N.A., Leung, Y.H., Cheung, C.L., Rayner, J.M., Zhang, J.X., Zhang, L.J., Poon, L.L., Li, K.S., Nguyen, V.C., Hien, T.T., Farrar, J., Webster, R.G., Chen, H., Peiris, J.S., Guan, Y., 2006, Evolution and adaptation of H5N1 influenza virus in avian and human hosts in Indonesia and Vietnam. *Virology* 350, 258-268.

- Songserm, T., Amonsin, A., Jam-on, R., Sae-Heng, N., Meemak, N., Pariyothorn, N., Payungporn, S., Theamboonlers, A., Poovorawan, Y., 2006a, Avian influenza H5N1 in naturally infected domestic cat. *Emerg Infect Dis* 12, 681-683.
- Songserm, T., Amonsin, A., Jam-on, R., Sae-Heng, N., Pariyothorn, N., Payungporn, S., Theamboonlers, A., Chutinimitkul, S., Thanawongnuwech, R., Poovorawan, Y., 2006b, Fatal avian influenza A H5N1 in a dog. *Emerg Infect Dis* 12, 1744-1747.
- Songserm, T., Amonsin, A., Jam-on, R., Sae-Heng, N., Meemak, N., Pariyothorn, N., Payungporn, S., Theamboonlers, A., Poovorawan, Y., 2006a, Avian influenza H5N1 in naturally infected domestic cat. *Emerg. Infect. Dis* 12, 681-683.
- Songserm, T., Amonsin, A., Jam-on, R., Sae-Heng, N., Meemak, N., Pariyothorn, N., Payungporn, S., Theamboonlers, A., Poovorawan, Y., 2006b, Avian influenza H5N1 in naturally infected domestic cat. *Emerg Infect Dis* 12, 681-683.
- Steinhauer, D.A., 1999, Role of hemagglutinin cleavage for the pathogenicity of influenza virus. *Virology* 258, 1-20.
- Steinhauer, D.A., Wharton, S.A., 1998, Structure and function of the hemagglutinin, In: Nicholson, K.G., Webby, R.J., Hay, A.J. (Eds.) *Textbook of Influenza*. Blackwell Science, pp. 54-64.
- Stieneke-Grober, A., Vey, M., Angliker, H., Shaw, E., Thomas, G., Roberts, C., Klenk, H.D., Garten, W., 1992, Influenza virus hemagglutinin with multibasic cleavage site is activated by furin, a subtilisin-like endoprotease. *Embo J* 11, 2407-2414.
- Thanawongnuwech, R., Amonsin, A., Tantilertcharoen, R., Damrongwatanapokin, S., Theamboonlers, A., Payungporn, S., Nanthapornphiphat, K., Ratanamungklanon, S., Tunak, E., Songserm, T., Vivatthanavanich, V., Lekdumrongsak, T., Kesdangsakonwut, S., Tunhikorn, S., Poovorawan, Y., 2005, Probable tiger-to-tiger transmission of avian influenza H5N1. *Emerg Infect Dis* 11, 699-701.
- Tiensin, T., Chaitaweesub, P., Songserm, T., Chaisingh, A., Hoonsuwan, W., Buranathai, C., Parakamawongsa, T., Premashthira, S., Amonsin, A., Gilbert, M., Nielsen, M., Stegeman, A., 2005, Highly pathogenic avian influenza H5N1, Thailand, 2004. *Emerg Infect Dis* 11, 1664-1672.
- Tumpey, T.M., Suarez, D.L., Perkins, L.E., Senne, D.A., Lee, J.G., Lee, Y.J., Mo, I.P., Sung, H.W., Swayne, D.E., 2002, Characterization of a highly pathogenic H5N1 avian influenza A virus isolated from duck meat. *J. Virol* 76, 6344-6355.
- Van Borm, S., Thomas, I., Hanquet, G., Lambrecht, B., Boschmans, M., Dupont, G., Decaestecker, M., Snacken, R., van den Berg, T., 2005, Highly pathogenic H5N1 influenza virus in smuggled Thai eagles, Belgium. *Emerg. Infect. Dis* 11, 702-705.

- Viseshakul, N., Thanawongnuwech, R., Amonsin, A., Suradhat, S., Payungporn, S., Keawchareon, J., Oraveerakul, K., Wongyanin, P., Plitkul, S., Theamboonlers, A., Poovorawan, Y., 2004, The genome sequence analysis of H5N1 avian influenza A virus isolated from the outbreak among poultry populations in Thailand. *Virology* 328, 169-176.
- Webster, R.G., Shortridge, K.F., Kawaoka, Y., 1997, Influenza: interspecies transmission and emergence of new pandemics. *FEMS Immunol Med Microbiol* 18, 275-279.
- WHO, 2007.
- Zhou, J.Y., Shen, H.G., Chen, H.X., Tong, G.Z., Liao, M., Yang, H.C., Liu, J.X., 2006, Characterization of a highly pathogenic H5N1 influenza virus derived from bar-headed geese in China. *J Gen Virol* 87, 1823-1833.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

รายละเอียดรหัสพันธุกรรมของเชื้อไขหวัดนกจำนวน 12 ตัวอย่าง
(จำนวน 24 สายพันธุกรรม)

รหัสพันธุกรรมอยู่ในรูปแบบที่พร้อมจะส่งไปยังฐานข้อมูล GenBank



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CU-317 (HA)

DEFINITION Influenza A virus (A/moorhen/Thailand/CU-317/06 (H5N1))
hemagglutinin (HA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616825

VERSION EU616825.1 GI:187475392

KEYWORDS .

SOURCE Influenza A virus (A/moorhen/Thailand/CU-317/06 (H5N1))
ORGANISM Influenza A virus (A/moorhen/Thailand/CU-317/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1667)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1667
/organism="Influenza A virus
(A/moorhen/Thailand/CU-317/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/moorhen/Thailand/CU-317/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="moorhen"
/db_xref="taxon:519102"
/country="Thailand"

gene 1..>1667
/gene="HA"

CDS 1..>1667
/gene="HA"
/codon_start=1
/product="hemagglutinin"
/protein_id="ACD12221.1"
/db_xref="GI:187475392"
/translation="MEKIVLLFAIVSLVKSQDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTH
AQDILEKTHNGKLCDDLGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDFINVPWSYIVEKANPV
NDLCYPGDFNDYEELKHLLSRINHFEKIQIIPKSSWSHSHEASLGVSSACPYQGKSSFF
RNVVWLIKKNSTYPTIKRSYNNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGT
STLNQRLVPRIATRSKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVKKG
DSTIMKSELEYGNCNTKCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGCECPKYVKSRLVLATGLR
NSPQRERRRRKRGLFGAIAAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQGSYAADKESTQKAID
GVTNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNLERRIENLNKKMEDGFLDVWPTYNAELLVLMEN
ERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKELGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQY
SEEAGLKREEISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAIMVAGLSLW"

ORIGIN

```

1 atggagaaaa tagtgcttct ttttgcaata gtcagtcctg ttaaaagtga tcagatttgc
61 attggttacc atgcaaaaca ctgcagacag caggttgaca caataatgga aaagaacggt
121 actggttacac atgcccacaac catactggaa aagacacaca acgggaagct ctgcatccta
181 gatggagtga agcctcctaat tttgagagat tgtagtgtag ctggatggct cctcggaaac
241 ccaatgtgtg acgaattcat taatgtgccg gaatggtctt acatagtgga gaaggccaat
301 ccagtcaatg acctctgttta cccaggggat ttcaatgact atgaagaatt gaaaccaccta
361 ttgagcagaaa taaccatttt ttgagaaaatt cagatcatcc ccaaaagtcc gacatcaaca
421 catgaagcct cattaggggt gagctcagca tgtccatacc agggaaagtc ctctttttc
481 agaatgtgg tatggcttat caaaaagaac agtacatacc caacaataaa gaggagctac
541 aataatacca accaagaaga tcttttgcta ctgtggggga ttcaccatcc taatgatgag
601 gcagagcaga caaagctcta tcaaaaacca accacctata ttcogttg gacatcaaca
661 ctaaaccaga gattggtacc aagaatagct actagatcca aagtaaacgg gcaaagtgga
721 aggatggagt tcttctggac aattttaaaa ccgaatgatg caatcaactt cgagagtaat
781 ggaatttca ttgctcagca atatgcatac aaaattgtca agaaggggga ctcaacaatt
841 atgaaaagtg aattggaata tggtaactgc aacaccaagt gtcaactcc aatggggcgc
901 ataaactcta gtatgccatt ccacaatata caccctctca ccatcgggga atgccccaaa
961 tatgtgaaat caaacagatt agtccttgcg actgggctca gaaatagccc tcaagagag
1021 agaagaagaa aaaagagagg attatttggg gctatagcag gttttataga gggaggatgg
1081 cagggaatgg tatggtgttg gtatgggtac caccatagca atgagcagg gagtgggtac
1141 gctgcagaca aagaatccac tcaaaaaggca atagatggag tcaccaataa ggtcaactcg
1201 atcattgaca aaatgaacac tcagtttgag gccgttggaa gggaaattta caacttagaa
1261 aggagaatag agaatttaaa caagaagatg gaagacgggt tcctagatgt ctggacttat
1321 aatgctgaac tctctgtctt catggaaaat gagagaactc tagactttca gactcaaat
1381 gtcaagaacc tttacgacaa ggtccgacta cagcttaggg ataatgcaaa ggagctgggt
1441 aacggttgtt tcgagttcta tcataaatgt gataatgaat gtatggaaag tgtaagaaac
1501 ggaacgtatg actaccgca gtattcagaa gaagcaggac taaaaagaga ggaataaagt
1561 ggagtataat tggaaatcaa aggaatttac caaactctg caattttatc tacagtggcg
1621 agttccctag cactggcaat catggtagct ggtctatcct tatggat

```

CU-317 (NA)

DEFINITION Influenza A virus (A/moorhen/Thailand/CU-317/06 (H5N1))
neuraminidase (NA) gene, complete cds.

ACCESSION EU616826

VERSION EU616826.1 GI:187475390

KEYWORDS

SOURCE Influenza A virus (A/moorhen/Thailand/CU-317/06 (H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/moorhen/Thailand/CU-317/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1351)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1351
/organism="Influenza A virus
(A/moorhen/Thailand/CU-317/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/moorhen/Thailand/CU-317/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="moorhen"
/db_xref="taxon:519102"
/country="Thailand"

gene 1..1350
/gene="NA"

CDS 1..1350
/gene="NA"
/codon_start=1
/product="neuraminidase"
/protein_id="ACD12220.1"
/db_xref="GI:187475391"
/translation="MNPNKKIITIGSICMVTGMVSLMLQIGNLISIWVSHSIHTGNQH
KAEPISNTNFLTEKAVASVKLAGNSSLCPINGWAVYSKDNSIRIGSKGDVVFVIREPFI
SCSHLECRTFFLTQGALLNDKHSNGTVKDRSPHRTLMSCPVGEAPSPYNSRFESVAWS
ASACHDGTSWLTIGISGPDGSAVAVLKYNGIITDTIKSWRNNILRTQESECAVNGSC
FTVMTDGPNSNGQASHKIFKIEKGVVKSVELDAPNYHYEECSYPDAGEITCVCRDNW
HGSNRPWVWFSFNQLEYQIGYICSGVFGDNPRPNDGTGSCGPVSSNGAYGVKGFSEFKYG
NGVWIGRTKSTNSRSGFEMIWDPNGWTEETDSSFSVKQDIVAITDWSGYSGSFVQHPEL
TGLDCIRPCFVWELIRGRPKESTIWTSGSSISFCGVNSDVTGWSWPDGAELPFTIDK"

ORIGIN

```

1 atgaatccaa ataagaagat aataaccatc ggatcaatct gtatggtaac tgggaatggtt
61 agcttaatgt tacaaattgg gaacttgatc tcaatatggg tcagtcattc aattcacaca
121 gggaaatcaac acaaagctga accaatcagc aataactaatt ttcttactga gaaagctgtg
181 gcttcagtaa aattagcggg caattcatct ctttgcccca ttaatggatg ggctgtatac
241 agtaaggaca acagtataag gatcggttcc aaggggggatg tgtttgttat aagagagcca
301 ttcattcat gctcccactt ggaatgcaga actttctttt tgactcaggg agccttgctg
361 aatgacaagc actccaatgg gactgtcaaa gacagaagcc ctcacagaac attaatgagt
421 tgtcctgtgg gtgaggctcc ctcccacat aactcaaggt ttgagctgtg tgcctgggtca
481 gcaagtgtt gccatgatgg caccagtggg ttgacaattg gaatttctgg cccagacagt
541 ggggctgtgg ctgtattgaa atacaatggc ataataacag acactatcaa gagttggagg
601 aataacatac tgagaactca agagtctgaa tgtgcatgtg taaatggctc ttgctttact
661 gtaatgactg acggaccaag taatggtcag gcatcacata agatcttcaa aatagaaaaa
721 ggaaaagtgg ttaaatcagt cgaattggat gctcctaatt atcactatga ggaatgctcc
781 tgttatcctg atgccggcga aatcacatgt gtgtgcaggg ataattggca tggctcaaat
841 cgcccggtgg tatctttcaa tcaaaatttg gagtatcaaa taggatatat atgcagtgga
901 gttttcggag acaatccacg cccaatgat ggaacaggta gttgtgggtc ggtgtcctct
961 aacggggcat atggggtaaa agggttttca tttaaatagc gcaatgggtg ctggatcggg
1021 agaacaaaaa gactaatcc caggagcggc tttgaaatga tttgggatcc aaatgggtgg
1081 actgaaacgg acagttagct ttcagtgtgaa caagatatcg tagcaataac tgattgggtca
1141 ggaatagcgg ggagtttgg ccagatcca gaactgacag gactagattg cataagacct
1201 tgtttctggg ttgagttgat cagagggcgg cccaaagaga gcacaatttg gactagtggtg
1261 agcagcatat ctttttggg tgtaaatagt gacactgtgg gttggtcctg gccagacggg
1321 gctgagttgc cattcaccat tgacaagtag t

```

CU-318 (HA)

DEFINITION Influenza A virus (A/moorhen/Thailand/CU-318/06 (H5N1))
hemagglutinin (HA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616827

VERSION EU616827.1 GI:187475388

KEYWORDS

SOURCE Influenza A virus (A/moorhen/Thailand/CU-318/06 (H5N1))
ORGANISM Influenza A virus (A/moorhen/Thailand/CU-318/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1667)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1667
/organism="Influenza A virus
(A/moorhen/Thailand/CU-318/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/moorhen/Thailand/CU-318/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="moorhen"
/db_xref="taxon:519103"
/country="Thailand"

gene <1..>1667
/gene="HA"

CDS 1..>1667
/gene="HA"
/codon_start=1
/product="hemagglutinin"
/protein_id="ACD12219.1"
/db_xref="GI:187475389"
/translation="MEKIVLLFAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTH
AQDILEKTHNGKLCDLGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINVPEWSYIVEKANPV
NDLCYPGDFNDYEELKLLSRINHFEKIQII PKSSWS SHEASLGVSSACFPYQKGSFF
RNVVWLIKKNSTYPTIKRSYNNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGT
STLNQRLVPRIATRISKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVKKG
DSTIMKSELEYGNCNTKCTQTPMGAINSSMPFHNHPLTIGCEPKYVKSRLVLTGLR
NSPQRERRRRKRGLFGAIFAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSGYAADKESTQKAI
D GVTNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNLERRIENLNKKMEDGFLDVWYNAELLVLMEN
ERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKELGNGCFEFYHKDCNECMESVRNGTYDYPQY
SEEAGLKREEISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAIMVAGLSLW"

ORIGIN

```

1 atggagaaaa tagtgcttct ttttgcaata gtcagctcttg ttaaaagtga tcagatttgc
61 attggttacc atgcaaacaa ctgcacagag caggttgaca caataatgga aaagaacggt
121 actgtttacc atgcccaga catactggaa aagacacaca acgggaagct ctgcgatcta
181 gatggagtga agcctctaata tttgagagat tgtagtgtag ctggatggct cctcggaaac
241 ccaatgtgtg acgaattcat taatgtgccc gaatggtctt acatagtgga gaaggccaat
301 ccagtcagt acctctgtta cccaggggat tccaatgact atgaagaatt gaaacacctt
361 ttgagcagaa taaaccattt tgagaaaatt cagatcatcc ccaaaagttc ttggtccagt
421 catgaagcct cattaggggt gagctcagca tgtccatacc agggaaagtc ctcctttttc
481 agaaatgtgg tatggcttat caaaaagaac agtacatacc caacaataaa gaggagctac
541 aataatacca accaagaaga tcttttggtta ctgtggggga ttcaccatcc taatgatgcg
601 gcagagcaga caaagctcta tcaaaaacca accacctata ttccggttgg gacatcaaca
661 ctaaacacaga gattgttacc aagaatagct actagatcca aagtaaacgg gcaaagtgga
721 aggatggagt tcttctggac aattttaaaa ccgaatgatg caatcaactt cgagagtaat
781 ggaaatttca ttgctccaga atatgcatac aaaattgtca agaaagggga ctcaacaatt
841 atgaaaagtg aattggaata tggtaactgc aacaccaagt gtcaactcc aatgggggcg
901 ataaactcta gtatgccatt ccacaatata caccctctca ccatcgggga atgccccaaa
961 tatgtgaaat caaacagatt agtccttgcg actgggctca gaaatagccc tcaaagagag
1021 agaagaagaa aaaagagagg attatttggg gctatagcag gttttataga gggaggtgg
1081 cagggaaatg tagatggttg gtatgggtac caccatagca atgagcaggg gagtgggtac
1141 gctgcagaca aagaatccac tcaaaaaggca atagatggag tcaccaataa ggtcaactcg
1201 atcattgaca aatgaacac tcagtttgag gccgttggaa gggaaattaa caacttagaa
1261 aggaagaatag agaattttaa caagaagatg gaagacgggt tcttagatgt ctgacttat
1321 aatgctgaac ttctggttct catggaaaat gagagaactc tagactttca tgactcaaat
1381 gtcaagaacc tttacgacaa ggtccgacta cagcttaggg ataatgcaaa ggagctgggt
1441 aacggtttgt tcgagttcta tcataaatgt gataatgaat gtatggaaag tgtaagaaac
1501 ggaacgtatg actaccgca gtattcagaa gaagcaggac taaaagaga ggaataggt
1561 ggagtaaaat tggaaatcaat aggaatttac caaactactg caatttatcc tacagtggcg
1621 agttccctag cactggcaat catggtagct ggtctatcct tatgga

```


CU-318 (NA)

DEFINITION Influenza A virus (A/moorhen/Thailand/CU-318/06 (H5N1))
neuraminidase (NA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616828

VERSION EU616828.1 GI:187475386

KEYWORDS .

SOURCE Influenza A virus (A/moorhen/Thailand/CU-318/06 (H5N1))
ORGANISM Influenza A virus (A/moorhen/Thailand/CU-318/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1343)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1343
/organism="Influenza A virus
(A/moorhen/Thailand/CU-318/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/moorhen/Thailand/CU-318/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="moorhen"
/db_xref="taxon:519103"
/country="Thailand"

gene 1..>1343
/gene="NA"

CDS 1..>1343
/gene="NA"
/codon_start=1
/product="neuraminidase"
/protein_id="ACD12218.1"
/db_xref="GI:187475387"
/translation="MNPKNKIIITIGSICMVTGMVSLMLQIGNLISIWVSHSIHTGNQH
KAEPI SNTNFLTEKAVASVKLAGNSSLCPINGWAVYSKDNSIRIGSKGDFVIREPFI
SCSHLECRTFFLTQGALLNDKHSNGTVKDRSPHRTLMSCPVGEAPSYPNSRFESVAWS
ASACHDGT SWLTIGISGPD SGAVLVKNGIITDTIKSWRNNILRTQESACACVNGSC
FTVMTDGPNSNGQASHKIPKMEKGVVKSVELDAPNYHYEECSYDPAGEITCVCRDNW
HGSNRPWVSFNQNLLEYQIGYICSGVFGDNPRPNDGTGSCGPVSSNGAYGVKGF SFKYG
NGVWIGRTKSTNSRSGFEMIWDPNGWTE TDSSFSVKQDIVAITDWSGYSGSFVQHP
L TGLDCIRPCFWVELIRGRPKESTIWTSGSSI SFCGVNSDTVGWSWPDGAELPFTI"

ORIGIN

1 atgaatccaa ataagaagat aataaccatc ggatcaatct gtatggtaac tggaatgggt
61 agcttaatgt tacaattgg gaacttgatc tcaatatggg tcagtcattc aattcacaca
121 gggaaatcaac acaaagctga accaatcagc aataactaatt ttottactga gaaagctgtg
181 gcttcagtaa aattagecgg caattcatct ctttgcccca ttaatggatg ggetgtatac
241 agtaaggaca acagtataag gatcgggtcc aagggggatg tgtttgttat aagagagcca
301 ttcattctcat gctcccactt ggaatgcaga actttctttt tgactcaggg agccttgctg
361 aatgacaagc actccaatgg gactgtcaaa gacagaagcc ctcacagaac attaatgagt
421 tgcctgtggt gtgaggctcc ctcccataat aactcaaggt ttgagtctgt tgcttggtca
481 gcaagtgcct gccatgatgg caccagttgg ttgacaattg gaatttctgg cccagacagt
541 gggcgtgtgg ctgtattgaa atacaatggc ataataacag acactatcaa gagttggagg
601 aataacatac tgagaactca agagtctgaa tgtgcatgtg taaatggctc ttgctttact
661 gtaatgactg acggaccaag taatggctcag gcatcacata agatcttcaa aatggaaaaa
721 gggaaagtgg ttaaatcagt cgaattggat gctcctaatt atcactatga ggaatgctcc
781 tgttatctcg atgccggcga aatcacatgt gtgtgcaggg ataattggca tggctcaaat
841 cggcgtggg tatctttcaa tcaaaatttg gagtatcaa taggatatac atgcagtgga
901 gtttccggag acaatccacg cccaatgat ggaacaggta gttgtggtcc ggtgcctct
961 aacggggcat atggggtaaa agggtttca ttaataacg gcaatgggtg ctggatcggg
1021 agaacaaaaa gcactaattc caggagcggc tttgaaatga tttgggatcc aatgggtgg
1081 actgaaacgg acagtagctt ttcagtgaac caagatatcg tagcaataac tgattggta
1141 ggaatagcg agagttttgt ccagcatcca gaactgacag gactagattg cataagacct
1201 tgtttctggg ttgagttgat cagagggcgg cccaagaga gcacaattg gactagtggt
1261 agcagcatat cttttgtgg tgtaaatagt gacactgtgg gttggtctt gccagacggt
1321 gctgagttgc cattccat tga

CU-319 (HA)

DEFINITION Influenza A virus (A/watercock/Thailand/CU-319/06 (H5N1))
hemagglutinin (HA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616829

VERSION EU616829.1 GI:187475384

KEYWORDS .

SOURCE Influenza A virus (A/watercock/Thailand/CU-319/06 (H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/watercock/Thailand/CU-319/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1676)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES

source Location/Qualifiers
1..1676
/organism="Influenza A virus
(A/watercock/Thailand/CU-319/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/watercock/Thailand/CU-319/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="watercock"
/db_xref="taxon:519109"
/country="Thailand"

gene 1..>1676
/gene="HA"

CDS 1..>1676
/gene="HA"
/codon_start=1
/product="hemagglutinin"
/protein_id="ACD12217.1"
/db_xref="GI:187475385"
/translation="MEKIVLLFAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTH
AQDILEKTHNGKLCDDLGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDFINVPWYSYIVEKANPV
NDLCYPGFDFNDYEELKHLLSRINHFEKIQIIPKSSWSSEASLGVSSACPYLGKSSFF
RNVVWLFKKNSTYPTIKRSYNNNTQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGT
STLNQRLVPRIATRISKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVKKG
DSTIMKSELEYGNCNTKCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGCEPKYVKSNNRVLATGLR
NSPQRERRRKRGLFGAIAAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQGSYAADKESTQKAID
GVTNEVNSIIDKMNTQFEAVGREFNLERRIENLNKMKMEDGFLDVWTYNAELLVLMEN
ERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKELGNGCFEPYHKCDNECMESVRNGTYDYPQY
SEEARLKREISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAIMVAGLSLWMCS"

ORIGIN

1 atggagaaaa tagtgcttct ttttgcaata gtcagtcttg ttaaaagtga tcagatttgc
61 attggttacc atgcaaacaa ctgcacagag caggttgaca caataatgga aaagaacggt
121 actgttacac atgcccaaga cactactggaa aagacacaca acgggaagct ctgcgattta
181 gatggagtga agcctcta tttgagagat tgtagtgtag ctggtatgct cctcggaac
241 ccaatgtgtg acgaattcat taatgtgccg gaatggtctt acatagtgga gaaggccaat
301 ccagtcaatg acctctgtta cccaggggat ttcaatgact atgaagaatt gaacaccta
361 ttgagcagaa taaaccatt tgagaaaatt cagatcatcc caaaaagttc ttggtccagt
421 catgaagcct cttaggggt gactcagca tgtccatacc tgggaaagtc ctcccttttc
481 agaaatgtgg tatggctttt caaaaagaac agtacatacc caacaataa gaggagctac
541 aataatacca accaagaaga tcttttggtta ctgtggggga ttaccatcc taatgatgcg
601 gcagagcaga caaagctcta tcaaaaccca accacctaca tttctgttgg gacatcaaca
661 ctaaacccaga gattggtacc aagaatagct actagatcca aagttaaacgg gcaaatgga
721 aggatggagt tcttctggac aatttataaa ccgaatgatg caatcaact cgagagtaat
781 ggaatttca ttgctccaga atatgcatac aaaatgtgca agaaagggga ctcaacaatt
841 atgaaaagtg aattggaata tggaactgc aacaccaagt gtcaaacctc aatgggggcg
901 ataaactcta gtatgccatt ccacaatata caccctctca ccatcgggga atgcccacaa
961 tatgtgaaat caaacagatt agtccttga actgggctca gaaatagccc tcaaagagag
1021 agaagaagaa aaaagagagg attatttggg gctatagcag gttttataga gggaggatgg
1081 caggaatgg tagatggtg gtatgggtac caccatagca atgagcaggg gactgggtac
1141 gctgcagaca aagaatccac tcaaaaggca atagatggag tcaccaatga ggtcaactcg
1201 atcattgaca aaatgaacac tcagtttgag gccgttggaa gggaaattaa caacttagaa
1261 aggagaatag agaatttata caagaagatg gaagacgggt tcctagatgt ctggacttat
1321 aatgctgaac ttctggtct catggaaaat gagagaactc tagactttca tgactcaaat
1381 gtcagaagacc tttacgacaa ggtccgacta cagcttaggg ataatgcaa ggagctgggt
1441 aacggttggt tcgagttcta tcataaatgt gataatgaat gtatggaaag tgtgagaaac
1501 ggaacgtatg actaccgcga gtattcagaa gaagcaagac taaaagaga ggaataagt
1561 ggagtaaaat tggaaatcaat aggaatttac caaatactgt caatttatc tacagtggcg
1621 agttccctag cactggcaat catggtagct ggtctatcct tatggatgtg ctccaa

CU-319 (NA)

DEFINITION Influenza A virus (A/watercock/Thailand/CU-319/06 (H5N1))
neuraminidase (NA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616830

VERSION EU616830.1 GI:187475382

KEYWORDS

SOURCE Influenza A virus (A/watercock/Thailand/CU-319/06 (H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/watercock/Thailand/CU-319/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1333)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1333
/organism="Influenza A virus
(A/watercock/Thailand/CU-319/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/watercock/Thailand/CU-319/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="watercock"
/db_xref="taxon:519109"
/country="Thailand"

gene 1..>1333
/gene="NA"

CDS 1..>1333
/gene="NA"
/codon_start=1
/product="neuraminidase"
/protein_id="ACD12216.1"
/db_xref="GI:187475382"
/translation="MNPKNKIIITIGSICMVTGMVSLMLQIGNLISIWVSHSIHTGNQH
KAEPISNANFLTEKAVASVKLTGNSSLCPPINGWAVYSKDNSIRIGSKGDVFFVIREPFI
SCSHLECRFTFLTQGALLNDKHSNGSVKDRSPHRTLMSCPVGEPSPYNSRFESVAWS
ASACHDGTSWLTIGISGPDGAVAVLKYNGIITDTIKSWRNNILRTQESEACVNGSC
FTVMTDGPNSGQASHKIFKIEKGKVVKSVELDAPNYHYEECSYPDAGEITCVCARDNW
HGSNRPWVSNQNLLEYQIGYICSGVFGDNPRPNDGTGSCGPVSSNGAYGVKGFSEFKYG
NGVWIGRTKSTNSRSFGFEMIWDPNWGTETDSSFSVKQDIVAITDWSGYSGSFVQHPPEL
TGLDCIRPCFVVELIRGRPKESTIWTSGSSISFCGVNSDVTGWSWPDGAELP"

ORIGIN

```

1 atgaatccaa ataagaagat aataaccatc ggatcaatct gtatggtaac tggaaatgggt
61 agcttaaatgt tacaaaattgg gaacttgatc tcaatatggg tcagtcattc aattcacaca
121 gggaaatcaac acaaagctga accaatcagc aatgctaatt ttcttactga gaaagctgtg
181 gcttcagtaa aattaacggg caattcatct ctttgcccca ttaatggatg ggctgtatac
241 agtaaggaca acagtataag gatcggttcc aagggggatg tgtttgttat aagagagcca
301 ttcattctcat gctcccactt ggaatgcaga actttctttt tgactcaggg agccttgctg
361 aatgacaagc actccaatgg gagtgcataa gacagaagcc ctcacagaac ataatgagt
421 tgccctgtgg gtgaggctcc ttcccctgat aactcaaggt ttgagtctgt tgcttggtea
481 gcaagtgctt gccatgatgg caccagttgg ttgacaattg gaatttctgg cccagacagt
541 ggggctgtgg ctgtattgaa atacaatggc ataataacag acactatcaa gagtggagg
601 aataacatac tgagaactca agagtctgaa tgtgcatgtg taaatggctc ttgctttact
661 gtaatgactg acggaccaag taatggtcag gcatcacata agatcttcaa aatagaaaaa
721 ggaaaagtgg ttaaatcagt cgaattggat gctcctaatt atcactatga ggaatgctcc
781 tgttatcctg atgccggcga aatcacatgt gtgtgcaggg ataattggca tggctcaaat
841 cggccgtggg tatctttcaa tcaaaatttg gagtatcaaa taggatatat atgcagtgga
901 gttttcggag acaatccacg ccccaatgat ggaacaggta gttgtggctc ggtgtcctct
961 aacggggcat atggggtaaa agggttttca tttaaatagc gcaatgggtg ctggatcggg
1021 agaacaaaaa gcaactaatc caggagcggc tttgaaatga tttgggatcc aaatgggtgg
1081 actgaaacgg acagttagctt ttcagtgaac caagatatcg tagcaataac tgattggtea
1141 ggatatagcg ggagttttgt ccagcatcca gaactgacag gactagattg cataagacct
1201 tgtttctggg ttgagttgat cagagggcgg cccaaagaga gcacaatttg gactagtggg
1261 agcagcatat ctttttggg tgtaaatagt gacactgtgg gttgtgcttg gccagacggg
1321 gctgagttgc cat

```


CU-320 (HA)

DEFINITION Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-320/06 (H5N1)) hemagglutinin (HA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616831

VERSION EU616831.1 GI:187475380

KEYWORDS

SOURCE Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-320/06 (H5N1))

ORGANISM *Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-320/06 (H5N1))*
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae; Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1693)

AUTHORS Choatrakol, C., Lapkuntod, J., Tantilertcharoen, R., Thanawongnuwech, R., Suradhat, S., Suwannakan, K., Theamboonlers, A., Poovorawan, Y. and Amonsin, A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1693
/organism="Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-320/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/quail/Thailand/CU-320/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="quail"
/db_xref="taxon:519104"
/country="Thailand"

gene <1..>1693
/gene="HA"

CDS <1..>1693
/gene="HA"
/codon_start=2
/product="hemagglutinin"
/protein_id="ACD12215.1"
/db_xref="GI:187475381"
/translation="LLFAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDIL EKTHNGKLCDDLGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINVPEWSYIVEKANPVNDLCY PGDFNDYEELKHLLSRINHFEKIQII PKSSWSHSHEASLGVSSACPYQKSSFFRNVVW LIKKNSTYPTIKRSYNNNTQEDLLVWLGIIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGTSTLNQ RLVPRIATRISKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPEYAYKIVKKGSTIM KSELEYGNCNTKQCPTPMGAINSSMPFHNHPLTIGECPKYVKS NRLVLATGLRNSPQR ERRRKKRGLFGAIFAGFIKGGWQGMVNGWYGYHHSNEQSGSYAANKESQKAI DGVNTK VNSIIDKMNTHF EAVGREFNLE RRIENLNK KMEDGFLDVWVYNAELLVLMENERTLD FHD SNVKNL YDKVRLQLRDN AKELGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQYSEEAR LKREBISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAIMVAGLSLWMCNGLQCRICIK"

ORIGIN

```

1 gcttcttttt gcaatagtc gcttctgtaa aagtgatcag atttgcatg gttaccatgc
61 aaacaactcg acagagcagg ttgacacaa aatggaaaag aacgttactg ttacacatgc
121 ccaagacata ctggaaaaga cacacaacgg gaagctctgc gatctagatg gagtgaagcc
181 tctaattttg agagactgta gtgtagctgg atggctcctc ggaaacccaa tgtgtgacga
241 attcattaat gtgcccgaat ggtcttcat atgtggagaag gccaatccag tcaatgacct
301 ctgttaccga ggggatttca atgactatga agaattgaaa cacctattga gcagaataaa
361 ccattttgag aaaattcaga tcatacccaa aagttcttgg tccagtcag aagcctcatt
421 aggggtgagc tcagcatgtc cataccaggg aaagtcctcc ttttcagaa atgtggatg
481 gcttatcaaa aagaacagta cataccaac aataaagagg agtacaata ataccaacca
541 agaagatctt ttggtactgt ggggatttca ccatccta at gatgcccag acagacaaa
601 gctctatcaa aaccaacca cctacatttc cgttgggaca tcaacactaa accagagatt
661 ggtaccaaga atagctacta gatccaaagt aaacgggcaa agtggaaagg tggagtctct
721 ctggacaatt ttaaaacga atgatgcaat caacttcgag agtaatggaa atttcattgc
781 tccagaatat gcatacaaaa ttgtcaagaa aggggactca acaattatga aaagtgaatt
841 ggaatatggt aactgcaaca ccaagtgta aactccaatg ggggcgataa actctagtat
901 gccattccac aatatacacc ctctcactat cggggaaatgc cccaaatag tgaatcaaa
961 cagattagtc cttgcaactg ggtcagaaa tagccctcaa agagagagaa gaagaaaaaa
1021 aagaggatta ttggagcta tagcagttt tataaagggg ggatggcagg gaatcgtaaa
1081 tggttgggat gggtagcacc atagcaatga gcaggggagtt gggtagcctg caaacaaaga
1141 atccactcaa aaggcaatag atggagtcac caataaggtc aactcgataa ttgacaaaat
1201 gaacactcat tttgaggccg ttggaaggga atttaacaac ttgaaaggga gaatagagaa
1261 tttaaacaag aagatggaag acgggttcct agatgtctgg acttataatg ctgaacttct
1321 ggttctcatg gaaaatgaga gaactctaga ctttcatgac tcaaatgtca agaacttta
1381 cgacaaggtc cgactacagc ttagggataa tgcaaaggag ctgggtaatg gttgtttcga
1441 tttctatcat aagtgtgata atgaatgat ggaaagtgtg agaaacggaa cgtatgacta
1501 gccagcagta tcagaagaag caagactaaa aagagaggaa ataagtggag taaaattgga
1561 atcaatagga atttacaaa tattgtcaat ttattctaca gtggcgagtt ccctagcact
1621 ggcaatcatg gtagctggtc taccctatg gatgtgctcc aatgggtcgt tacaatgcag
1681 aatttgcatt aaa

```

CU-320 (NA)

DEFINITION Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-320/06(H5N1)) neuraminidase (NA) gene, complete cds.

ACCESSION EU616832

VERSION EU616832.1 GI:187475378

KEYWORDS .

SOURCE Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-320/06(H5N1))

ORGANISM *Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-320/06(H5N1))*
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae; Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1351)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R., Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A., Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1351
/organism="Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-320/06(H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/quail/Thailand/CU-320/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="quail"
/db_xref="taxon:519104"
/country="Thailand"

gene 1..1350
/gene="NA"

CDS 1..1350
/gene="NA"
/codon_start=1
/product="neuraminidase"
/protein_id="ACD12214.1"
/db_xref="GI:187475378"
/translation="MNPNKKIITIGSICMVTGMVSLMLQIGNLISIWVSHSIHTGNQH
KAEPISNTNFLT EKAVASVKLAGNSSLCPINGWAVYSKDNSIRIGSKGDVVFIREPFI
SCSHLECRFTFFLTQ GALLNDKHSNGTVKDRSPHRTLMSCPVGEAPSPYNSRFESVAWS
ASACHDGT SWLPIGISGPD SGAVAVLKYNGIITDTIKSWRNNILRTOESECACVNGSC
FTVMTDGP SNGQASHKIFKIEKGVKVSVELDAPNYHYECCSCYPDAGEITCVCRDNW
HGSNRPWV SFNQ NLEYQIGYICSGVFGDNPRPNDGTGSCGPVSSNGAYGVKGF SFKYG
NGVWIGRTKSTNSRSGFEMIWDPNGWTETDSSFSVKQDIVAITDWSGYSGSFVQHP EL
TGLDCIRPCFWVELIRGRPKESTIWTSGSSI SFCGVNSD TVGWSWPDGAELFFITDK"

ORIGIN

```

1 atgaatccaa ataagaagat aataaccatc ggatcaatct gtatggtaac tggaaatggtt
61 agcttaatgt tacaagtgg gaacttgatc tcaatatggg tcagtcattc aattcacaca
121 gggaaatcaac acaaggctga accaatcagc aataactaatt ttcttactga gaaagctgtg
181 gcttcagtaa aattagcggg caattcatct ctttgcccca ttaatggatg ggtgtgatac
241 agtaaggaca acagtataag gatcggttcc aagggggatg tgtttgttat aagagagcca
301 ttcattctat gctcccactt ggaatgcaga actttctttt tgactcaggg agccttctctg
361 aatgacaagc actccaatgg gactgtcaaa gacagaagcc ctcacagaac attaatgagt
421 tgtcctgtgg gtgaggctcc ctccccatat aactcaaggt ttgagtctgt tgcttggtca
481 gcaagtgtct gccatgatgg caccagttgg ttgacaattg gaatttctgg ccagacagt
541 ggggctgtgg ctgtattgaa atacaatggc ataataacag aactatcaa gaggttggagg
601 aataacatac tgagaactca agagtctgaa tgtgcatgtg taaatggctc ttgctttact
661 gtaatgactg acggaccaag taatgggtcag gcatcacata agatcttcaa aatagaaaaa
721 gaaaaagtgg ttaaatcagt cgaattggat gctcctaatt atcactatga ggaatgtccc
781 tgttatcctg atgcccggca aatcacatgt gtgtgcaggg ataattggca tggctcaaat
841 cggccgtggg tatctttcaa tcaaaatttg gagtatcaaa taggatatac atgcagtgga
901 gttttcggag acaatccacg cccaatgat ggaacaggta gttgtggtcc ggtgtcctct
961 aacggggcat atggggtaaa agggttttca ttaataacg gcaatgggtg ctggatcggg
1021 agaacaaaaa gcactaattc caggagcggc tttgaaatga ttgggatccc aaatgggtgg
1081 actgaaacgg acagtactt ttcagtgaaa caagatatcg tagcaataac tgatttggtca
1141 ggatatagcg ggagtttgt ccagcatcca gaactgacag gactagattg cataagacct
1201 tgtttctggg ttgagttgat cagagggcgg cccaagaga gcacaattg gactagtggtg
1261 agcagcatat cttttgtggg tgtaaatagt gacactgtgg gttgggtctg gccagacggg
1321 gctgagttgc cattcaccat tgacaagtag t

```


CU-321 (HA)

DEFINITION Influenza A virus (A/chicken/Thailand/CU-321/06 (H5N1))
hemagglutinin (HA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616833

VERSION EU616833.1 GI:187475376

KEYWORDS .

SOURCE Influenza A virus (A/chicken/Thailand/CU-321/06 (H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/chicken/Thailand/CU-321/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1673)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1673
/organism="Influenza A virus
(A/chicken/Thailand/CU-321/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/chicken/Thailand/CU-321/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="chicken"
/db_xref="taxon:519099"
/country="Thailand"

gene 1..>1673
/gene="HA"

CDS 1..>1673
/gene="HA"
/codon_start=1
/product="hemagglutinin"
/protein_id="ACD12213.1"
/db_xref="GI:187475377"
/translation="MEKIVLLFAIVSLVKSQDQICIGYHANNSTEQVDTIMERNVTVT
AQDILEKTHNGKLCDDLGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDFINVPWSYIVKANPV
NDLCYPGNFNDYEEELKHLLSRINHFEKIQIIPKSSWSHSHEASLGVSSACPYLGKSSFF
RNVVWLVKKNSTYPTIKRSYNNNTQEDLLVWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYSVGT
STLNQRLVPRIATRISKVNGQSGRMEFWTILKPNDAINFESNGNFIAPEYAYKIVKKG
DSTIMKSELEYGNCNTKCQTPMGAINSSMPFHNHPLTIGCEPKYVKSRLVLATGLR
NSPQRERRRKRGLFGAIAAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQGSYAADKESTQKAI
DGVTKVNSI IDKMNTQFEAVGREFNLEERRIENLNKKMEDGFLDVWTFYNAELLVLMEN
ERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKELGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQY
SEEARLKREEISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAIMVAGLSLWMCSS"

ORIGIN

```

1 atggagaaaa tagtgctct ttttgcaata gtcagtcctg ttaaaagtga tcagatttgc
61 attggttacc atgcaaacia ctcgacagag caggttgaca caataatgga aaggaacgtt
121 actggttacac atgcccaca cactactgga aagacacaca acgggaagct ctgcatccta
181 gatggagtga agcctctaat tttgagagac tgtagtgtag ctggatggct cctcggaaac
241 ccaatgtgtg agaattcat taatgtccc gaatgctctt acatagtgga gaagccaat
301 ccagtcaatg acctctgtta cccagggat ttcaatgact atgaagaatt gaaacaccta
361 ttgagcagaa taaccattt tgagaaaatt cagatcatcc ctaaaagtc ttggtccagt
421 catgaagcct cattaggggt gagctcagca tgtccatacc tgggaaagtc ctctttttc
481 agaatgtgtg tatggctgtg caaaaagaac agtacatacc caacaattaa gaggagctac
541 aataatacca accaagaaga tcttttggtta ctgtggggga ttcaccatcc taatgatgcy
601 gcagagcaga caaagctcta tcaaaaccca accacctata tttccgttgg gacatcaaca
661 ctaaacacga gattggtacc aagaatagct actagatcca aagtaaacgg gcaaagtgga
721 aggatggagt tctctggagc aattttaaaa ccgaatgatg caatcaact cgagagtaat
781 ggaaatttca ttgctccaga atatgcatac aaaattgtca agaaagggga ctcaacaatt
841 atgaaaatg aattggaata tggtaactgc aacaccaagt gtcaaacctc aatggggcgc
901 ataaactcta gtatgccatt ccacaatata caccctctca ctatcgggga atgccccaaa
961 tatgtgaaat caaacagatt agtccttggc actgggctca gaaatagccc tcaagagag
1021 agaagaagaa aaaagagagg attatttggg gctatagcag gttttataga gggaggatgg
1081 caggaatggt tagatggtg gtatgggtac caccatagca atgagcaggg gagtgggtac
1141 gctgcagaca aagaatccac tcaaaaaggca atagatggag tcaaccaataa ggtcaactcg
1201 atcattgaca aaatgaacac tcagtgtgag gccgtggaa gggaaattta caacttagaa
1261 aggagaatag agaattttaa caagaatgag gaagacgggt tcctagatgt ctggacttat
1321 aatgctgaac ttctggttct catggaaaat gagagaactc tagactttca tgactcaaat
1381 gtcaagaacc tttacgacaa ggtccgacta cagcttaggg ataatgcaaa ggagctgggt
1441 aacggtttgt tcgagttcta tcataaatgt gataatgaat gatggaagc gtaagaaac
1501 ggaacgtatg actaccgca gtattcagaa gaagcaagac taaaagaga ggaataagt
1561 ggagtaaaat tggaaatcaat aggaatttac caaatactgt caatttattc tacagtggcg
1621 agttccctag cactggcaat catggtagct ggtctatcct tatggatgtg ctc

```


CU-321 (NA)

DEFINITION Influenza A virus (A/chicken/Thailand/CU-321/06 (H5N1))
neuraminidase (NA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616834

VERSION EU616834.1 GI:187475374

KEYWORDS

SOURCE Influenza A virus (A/chicken/Thailand/CU-321/06 (H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/chicken/Thailand/CU-321/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1339)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1339
/organism="Influenza A virus
(A/chicken/Thailand/CU-321/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/chicken/Thailand/CU-321/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="chicken"
/db_xref="taxon:519099"
/country="Thailand"

gene <1..>1339
/gene="NA"

CDS <1..>1339
/gene="NA"
/codon_start=3
/product="neuraminidase"
/protein_id="ACD12212.1"
/db_xref="GI:187475375"
/translation="PNKKIITIGSICMVTGMVSLMLQIGNLISIVVSHSIHTGNQHK
EPISANANFLTEKAVASVKTGNSSLCPINGWAVYSKDNSIRIGSKGDVFIREFPISC
SHLECRFTFFLTQGALLNDKHSNGSVKDRSPHRTLMSCPVGEAPSPYNSRFESVAWSAS
ACHDGTSWLTIGISGPDNGAVAVLKYNGIITDTIKSWRNNILRTQSEACACVNGSCFT
VMTDGPNSGQASHKIFKIEKGVVKSVELDAPNYHYEECSYDPDAGEITCVCRDNWHG
SNRPWVSFNQNLLEYQIGYICSGVFGDNPRPNDGTGSCGPVSSNGAYGVKGF'SFKYNG
VWIGRTKSTNSRSGFEMIWDPNGWETDSSFSVKQDIVAITDWSGYSGSFVQHPELTG
LDCIRPCFVVELIRGRPKESTIWTSGSSISFCGVNSDITVGSWPDGAELPFTI"

ORIGIN

```

1 atccaaataa gaagataata accatcggat caatctgtat ggtaactgga atgggttagct
61 taatgttaca aattgggaac ttgatctcaa tatgggtcag tcattcaatt cacacagggg
121 atcaacacaa agctgaacca atcagcaatg ctaatthttct tactgagaaa gctgtggcct
181 cagtaaaatt aacgggcaat tcactctctt gccccattaa tggatgggct gtatacagta
241 aggacaacag tataaggatc ggtccaagg gggatgtggt tgtataaga gagccattca
301 tctcatgctc ccaactggaa tgcagaactt tctttttgac tcagggagcc ttgctgaatg
361 acaagcactc caatgggagt gtcaaagaca gaagccctca cagaacatta atgagtggcc
421 ctgtgggtga ggctccttcc ccatataact caaggtttga gtctgttgct tggtcagcaa
481 gtgcttgcca tgatggcacc agttgggtga caattggaat ttctggccca gacaatgggg
541 ctgtggctgt attgaaatac aatggcataa taacagacac tatcaagagt tggaggaata
601 acatactgag aactcaagag tctgaatgtg catgtgtaaa tggctcttgc tttactgtaa
661 tgactgacgg accaagtaat ggtcaggeat cacataagat cttcaaaaata gaaaaaggaa
721 aagtggttaa atcagtcgaa ttggatgctc ctaattatca ctatgaggaa tgctcctggt
781 atcctgatgc cggcgaaatc acatgtgtgt gcagggataa ttggcatggc tcaaatcggc
841 cgtgggtatc tttcaatcaa aatttggagt atcaaatagg atatatatgc agtggagtgt
901 tcggagacaa tccacgcccc aatgatggaa caggtagtgt tggctcgggt tcctctaacc
961 gggcatatgg ggtaaaaggg ttttcattta aatacggcaa tgggtgtctgg atcgggagaa
1021 caaaaagcac taattccagg agcggctttg aaatgatttg ggatccaaat ggggtggactg
1081 aaacggacag tagcttttca gtgaacaag atatcgtagc aataactgat tggtcaggat
1141 atagcgggga ttttgtccag catccagaac tgacaggact agattgcata agaccttgtt
1201 tctgggttga gttgatcaga gggcggccca aagagagcac aatttggact agtgggagca
1261 gcatatcttt ttgtggtgta aatagtgaca ctgtgggttg gtcttgccca gacgggtgctg
1321 agttgccatt caccattga

```

CU-330 (HA)

DEFINITION Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-330/06 (H5N1)) hemagglutinin (HA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616851

VERSION EU616851.1 GI:187475502

KEYWORDS .

SOURCE Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-330/06 (H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-330/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae; Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1715)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R., Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A., Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1715
/organism="Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-330/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/quail/Thailand/CU-330/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="quail"
/db_xref="taxon:519105"
/country="Thailand"

gene 1..>1715
/gene="HA"

CDS 1..>1715
/gene="HA"
/codon_start=1
/product="hemagglutinin"
/protein_id="ACD12284.1"
/db_xref="GI:187475503"
/translation="MEKIVLLFAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMERNVTVT
AQDILEKTHNGKLCDDLGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDEFINVPWFSYIVEKANPV
NDLCYPGNFNDYEELEKHLLSRINHFEKIQIIPKSSWSHSHEASLGVSSACPYLGKSSFF
RNVVVLVKKNSTYPTIKRSYNNINQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGT
STLNQRLVLPRIATRISKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVKKG
DSTIMKSELEYGNCNTKCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGCEPKYVKSRLVLTGLR
NSPQRERRRKRGLFGAIFAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSGSYAADKESTQKAI
DGVNKNVNSIIDKMNTQFEAVGREFNNLERRIENLNKMKMEDGFLDVTWYNAELLVLMEN
ERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKELGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQY
SEEARLKREEISGVKLESIGIYQILSYSTVASSLALAIMVAGLSLWMCNSGSLQCRI
CIKLES"

ORIGIN

```

1 atggagaaaa tagtgcttct ttttgcaata gtcagtcttg ttaaaagtga tcagatttgc
61 attggttacc atgcaaaaca ctcgacagag caggttgaca caataatgga aaggaacggt
121 actggttacac atgcccaca catactggaa aagacacaca acgggaagct ctgcgatcta
181 gatggagtga agcctcta atttgagagac tgtagtgtag ctggatggct cctcggaac
241 ccaatgtgtg acgaattcat taatgtccg gaatggtctt acatagtgga gaaggccaat
301 ccagtcaatg acctctgta ccagggaat tcaatgact atgaagaat gaacaccta
361 ttgagcagaa taaccattt tgagaaaatt cagatcatcc ctaaaagttc ttggtccagt
421 catgaagcct attgagggt gagctcagca tgtccatacc tgggaaagtc ctccttttc
481 agaaatgtgg tatggctgtg caaaaagaac agtacatacc caacaattaa gaggagctac
541 aataatacca accaagaaga tcttttgta ctgtgggga ttcaccatcc taatgatgcg
601 gcagagcaga caaagctcta tcaaaacca accacctata tttctgttgg gacatcaaca
661 ctaaaccaga gattggtacc aagaatagct actagatcca aagtaaacgg gcaaagtgga
721 aggatggagt tcttctggac aatttataaa ccgaatgat caatcaact cgagagtaat
781 ggaatttca ttgctccaga atatgcatac aaaatgtca agaaagggga ctcaacaatt
841 atgaaaagtg aattggaata tgtaactgc aacaccaagt gtcaaaactc aatgggggcg
901 ataaactcta gtatgccaat ccacaatata caccctctca ctatgggga atgcccaca
961 tatgtgaaat caaacagatt agtccttga actgggctca gaaatagccc tcaagagag
1021 agaagaagaa aaaaagagg attatttga gctatagcag gttttataga ggggggatgg
1081 caggaatgg tagatggtg gtatgggtac caccatagca atgagcaggg ggttgggtat
1141 gctgcagaca aagaatccac tcaaaaggca atagatggag tcaccaataa ggtcaactcg
1201 ataattgaca aaatgaacac tcagtttgag gccgttgaa gggaaatata caacttagaa
1261 aggagaatag agaattttaa caagaagatg gaagcgggt tcctagatgt ctggacttat
1321 aatgctgaac ttctggttct catggaaaat gagagaactc tagacttca tgactcaat
1381 gctcaagaacc tttacgaca gtcaggacta cagcttaggg ataatgcaa ggagctgggt
1441 aatggttgtt tcgagttcta tcataagtgt gataatgaat gtatggaaag tgtgagaaac
1501 ggaacgtatg actaccgca gtattcagaa gaagcaagac taaaagaga ggaataagt
1561 ggagtaaaat tggaaatcaat aggaatttac caaatattgt caatttattc tacagtggcg
1621 agttccctag cactggcaat catggtagct ggtctatcct tatggatgtg ctccaattgg
1681 tcgttacaat gcagaatttg cattaattg gagtc

```


CU-330 (NA)

DEFINITION Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-330/06 (H5N1)) neuraminidase (NA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616852

VERSION EU616852.1 GI:187475500

KEYWORDS .

SOURCE Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-330/06 (H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-330/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1340)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1340
/organism="Influenza A virus
(A/quail/Thailand/CU-330/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/quail/Thailand/CU-330/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="quail"
/db_xref="taxon:519105"
/country="Thailand"

gene 1..>1340
/gene="NA"

CDS 1..>1340
/gene="NA"
/codon_start=1
/product="neuraminidase"
/protein_id="ACD12283.1"
/db_xref="GI:187475501"
/translation="MNPNKKIITIGSICMVTGMVSLMLQIGNLISIVSHSIHTGNQH
KAEPISTNFTLEKAVASVVKLAGNSSLCPINGWAVYSKDNSIRIGSKGDVVFIREPFI
SCSHLECRTFFLTQGALLNDKHSNGSVKDRSPHRTLMSCPVGEAPS PYNRSRFESVAWS
ASACHDGTSWLTIGISGPDNGAVAVLKYNGIITDTIKSWRNNILRTQESACVNGSC
FTVMTDGPSTNGQASHKIFKMEKGKVVKSVELDAPNYHYECCSYPDAGEITCVCRDNW
HGSNRPWVSFNQNLLEYQIGYICSGVFGDNPRPNDGTGSCGPVSSNGAYGVKGFSPFKYG
NGVWIGRTKSTNSRSGFEMIWDPNGWTETDSSFSVKQDIVAITDWSGYSGSPVQHPPEL
TGLDCIRPCFWVELIRGQPKESTIWTSGSSISFCGVNSDITVGSWSPDGAELPFT"

ORIGIN

```

1 atgaatccaa ataagaagat aataaccatc ggatcaatct gtatggtaac tggaatggtt
61 agcttaatgt tacaattgg gaacttgatc tcaatatggg tcagtcattc aattcacaca
121 ggggaatcaac acaaagctga accaatcagc aatactaatt ttcttactga gaaagctgtg
181 gcttcagtgga aattagcggg caattcatct ctttgcccca ttaatggctg ggctgtatac
241 agtaaggaca acagtataag gatcgggttc aaggggggatg tgtttgttat aagagagcca
301 ttcatctcat gctcccactt ggaatgcaga actttctttt tgactcaggg agccttgctg
361 aatgacaagc actccaatgg gagtgtcaaa gacaggagcc ctcacagaac attaatgagt
421 tgtcctgtgg gtgaggctcc ctcccataat aactcaaggt ttgagtctgt tgcttggtca
481 gcaagtgtct gccatgatgg cactagttgg ttgacaattg gaatttctgg ccagacaat
541 ggggctgtgg ctgtgttgaa atacaatggc ataataacag acactatcaa gagtgggagg
601 aataacatac tgagaactca agagtctgaa tgtgcatgtg taaatggctc ttgctttact
661 gtaatgactg acggaccaag taatggtcag gcatcacata agatcttcaa aatggaaaaa
721 gggaaagtgg ttaaatcagt cgagttggat gctcctaatt atcactatga ggaatgctcc
781 tgttatcctg atgctggcga aatcacatgt gtgtgcaggg ataattggca tggctcaaat
841 cggccatggg tatctttcaa tcaaaaattg gagtatcaaa taggatatat atgcagtgga
901 gtttccggag acaatccacg cccaatgat ggaacaggta gttgtggtcc ggtgcctct
961 aacggagcat atggggtaaa agggttttca tttaaatacg gcaatgggtg ctggatcggg
1021 agaacaaaaa gcactaatc caggagcggc tttgaaatga tttgggatcc aaatgggtgg
1081 actgaaacgg acagtagctt ttcagtgaaa caagatateg tagcaataac tgattggtca
1141 ggatatagcg agagttttgt ccagatcca gaattgacag gactagattg cataagacct
1201 tgtttctggg ttgagttgat cagagggcag cccaaagaga gcacaattg gactagtggtg
1261 agcagcatat cttttgtgg tgtaaatagt gacactgtgg gttggtctg gccagacggt
1321 gctgagttgc cattcaccat

```


CU-331 (HA)

DEFINITION Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-331/06 (H5N1)) hemagglutinin (HA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616859

VERSION EU616859.1 GI:187475484

KEYWORDS -

SOURCE Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-331/06 (H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-331/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae; Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1710)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R., Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A., Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1710
/organism="Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-331/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/quail/Thailand/CU-331/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="quail"
/db_xref="taxon:519106"
/country="Thailand"

gene 1..>1710
/gene="HA"

CDS 1..>1710
/gene="HA"
/codon_start=1
/product="hemagglutinin"
/protein_id="ACD12274.1"
/db_xref="GI:187475485"
/translation="MEKIVLLFAIVSLVSKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMERNVTVTHAQDILEKTHNGKLCDLGDGKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDFINVPWESYIIVEKANPVNDLCYPGNFNDYEELKHLRSRINHFEKIQIIPKSSWSHSHEASLGVSSACPYLKSSFFRNVVWLKKNSTYPTIKRSYNNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGTSTLNQRLVPRVIATRSKVNQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPEYAYKIVKKG DSTIMKSELEYGNCNCKCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGCEPKYVKSNNRLVLTGLRNSPQRERRRRKRGLFGAIAAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSGYAADKESTQKAIDGVTNKVNSIIDKMNQFEAVGREFFNNLERRIENLNKKMEDGFLDVWTFYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKELGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQYSEEARKREIEISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAIMVAGLSLWMCNNGSLQCRICIKL"

ORIGIN

```

1 atggagaaaa tagtgcttct ttttgcata gtcagtcttg ttaaaagtga tcagatttgc
61 attggttacc atgcaaacaa ctgcacagag caggttgaca caataatgga aaggaacggt
121 actgttacac atgccaaga cactactggaa aagacacaca acggaagct ctgcgatcta
181 gatggagtga agcctctaact tttgagagac tgtagtgtag ctggatggct cctcggaaac
241 ccaatgtgtg acgaattcat taatgtgccg gaatggctct acatagtgga gaaggccaat
301 ccagtcaatg acctctgtta cccaggggaat ttcaatgact atgaagaatg gaaacacctg
361 ttgagcagaa taaaccattt tgagaaaatt cagatcatcc ctaaaagttc ttggtccagt
421 catgaagcct cattaggggt gagctcagca tgtccatacc tgggaaaagtc ctcttttttc
481 agaaaatgtg tatggcttgt caaaaagaac agtacatacc caacaattaa gaggagctac
541 aataatacca accaagaaga tcttttggtg actgtggggga ttcacctacc taatgatcgc
601 gcagagcaga caaagctcta tcaaaaccca accacctata tttctgttgg gacatcaaca
661 ctaaaaccaga gatttggacc aagaatagct actagatcca aagtaaacgg gcaaagtgga
721 aggatggagt tcttctggac aatttataaa ccgaatgatg caatcaactt cgagagtaat
781 ggaaatttca ttgctccaga atatgcatac aaaattgtca agaaagggga ctcaacaatt
841 atgaaaagtg aatttgaata ttgtaactgc aacaccaagt gtcaactcc aatgggggcg
901 ataaactcta gtagccatt ccacaatata caccctctca ctatcgggga atgccccaaa
961 tatgtgaaat caaacagatt agtcttgca actgggctca gaaatagccc tcaagagag
1021 agaagaagaa aaaaagaggg attatttgga gctatagcag gttttataga gggggatgg
1081 caggaatgg tagatggttg gtatgggtac caccatagca atgagcaggg gagtgggtat
1141 gctgcagaca aagaatccac tcaaaaggca atagatggag tcaccaataa ggtcaactcg
1201 atcattgaca aaatgaacac tcagtttgag gccgttgga gggaaattta caacttagaa
1261 agagaatgag agaatttaaa caagaagatg gaagacgggt tcctagatgt ggggacttat
1321 aatgctgaac ttctggttct catggaaaat gagagaactc tagactttca tgactcaaat
1381 gtcaagaacc tttacgacaa ggtccgacta cagcttaggg ataatgcaaa ggagctgggt
1441 aatggttgtt tcgagttcta tcataaatgt gataatgaat gtatggaaag tgtgagaaac
1501 ggaacgtgat actacggcga ctattcagaa gaagcaagac taaaaagaga ggaataaagt
1561 ggagtaaaat tggaaatcaat aggaatttac caaatattgt caatttatc tacagtggcg
1621 agttccctag cactggcaat catggtagct ggtctatcct tatggatgtg ctccaatggg
1681 tcgttacaat gcgaatttg cattaaattg

```

CU-331 (NA)

DEFINITION Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-331/06 (H5N1)) neuraminidase (NA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616860

VERSION EU616860.1 GI:187475482

KEYWORDS

SOURCE Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-331/06 (H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-331/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae; Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1322)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R., Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A., Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES

source Location/Qualifiers

1..1322
/organism="Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-331/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/quail/Thailand/CU-331/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="quail"
/db_xref="taxon:519106"
/country="Thailand"

gene 1..>1322
/gene="NA"

CDS 1..>1322
/gene="NA"
/codon_start=1
/product="neuraminidase"
/protein_id="ACD12273.1"
/db_xref="GI:187475483"
/translation="MNPNKKIITIGSICMVTGMVSLMLQIGNLISIVSHSIHTGSQH
KAEPISNTNFLTEKAVASVKLAGNSSLCPINGWAVYSKDNSIRIGSKGDVVFVIREPFI
SCSHLECRFTFLTQGALLNDKHSNGSVKDRSPHRTLMSCPVGEAPSPYNSRFESVAWS
ASACHDGTSWLFTIGISGPDNGAVAVLKYNGIITDTIKSWRNNILRTOESEACVNGSC
FTVMTDGPNSNGQASHKIFKMEKGKVVKSVELDAPNYHYEECSYPPDAGEITCVCRDNW
HGSNRPWVSFNQNLQYQIGYICSGVFGDNPRPNDGTGSCGPVSSNGAYGVKGFSPFKYG
NGVWIGRTKSTNSRSGFEMIWDPNGTETDSSFSVKQDIVAITDWSGYSGSFVQHPPEL
TGLDCIRPCFWVELIRGQPKESTIWTSGSSISFCGVNSDVTGWSWPDGA"

ORIGIN

1 atgaatccaa ataagaagat aataaccatc ggatcaatct gtatggtaac tggaatgggt
61 agcttaaatgt tacaatttgg gaacttgatc tcaatatggg tcagtcattc aattcacaca
121 gggagtcaac acaaagctga accaatcagc aataactaatt ttcttactga gaaagctgtg
181 gcttcagtga aattagcggg caattcatct ctttgcccca ttaatggctg ggctgtatac
241 agtaaggaca acagtataag gatcgggttc aagggggatg tgtttgttat aagagagcca
301 ttcattctcat gctcccactt ggaatgcaga actttctttt tgactcaggg agccttgctg
361 aatgacaagc actccaatgg gagtgtcaaa gacaggagcc ctcacagaac ataatgagt
421 tgtcctgtgg gtgaggctcc ctcccataat aactcaaggt ttgagtctgt tgcttggta
481 gcaagtgctt gccatgatgg cactagttgg ttgacaattg gaatttctgg cccagacaat
541 ggggctgtgg ctgtattgaa atacaatggc ataataacag acactatcaa gagtggagg
601 aataacatac tgagaactca agagtctgaa tgtgcatgtg taaatggctc ttgctttact
661 gtaatgactg acggaccaag taatggctcag gcatcacata agatcttcaa aatggaaaaa
721 ggaaaagtag ttaaatcagt cgaattggat gctcccaatt atcactatga ggaatgctcc
781 tgttatcctg atgcccggca aatcacatgt gtgtgcaggg ataattggca tggctcaaat
841 cggccatggg tatctttcaa tcaaaatttg gagtatcaaa taggatatat atgcagtgga
901 gtttctggag acaatccacg ccccaatgat ggaacaggtg gttgtggctc ggtgtcctc
961 aacggagcat atggggtaaa aggggtttca tttaaatacg gcaatggtgt ctggatcggg
1021 agaacaaaaa gcaataatc caggagcggc tttgaaatga tttgggatcc aaatggggtg
1081 actgaaacgg acagttagctt ttcagtgaaa caagatatcg tagcaataac tgattggta
1141 ggatatagcg ggagttttgt ccagcatcca gaattgacag gactagattg cataagacct
1201 tgtttctggg ttgagttgat cagagggcag cccaaagaga gcacaatttg gactagtggg
1261 agcagcatat ctttttggg tgtaaatagt gacactgtgg gttgttctg gccagacggt
1321 gc

CU-332 (HA)

DEFINITION Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-332/06 (H5N1)) hemagglutinin (HA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616867

VERSION EU616867.1 GI:187475468

KEYWORDS

SOURCE Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-332/06 (H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-332/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae; Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1714)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R., Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A., Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1714
/organism="Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-332/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/quail/Thailand/CU-332/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="quail"
/db_xref="taxon:519107"
/country="Thailand"

gene 1..>1714
/gene="HA"

CDS 1..>1714
/gene="HA"
/codon_start=1
/product="hemagglutinin"
/protein_id="ACD12265.1"
/db_xref="GI:187475469"
/translation="MEKIVLLFAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMERNVTVTH
AQDILEKTHNGKLCDLGDKVPLILRDCSVAGWLLGNPMCEFINVPEWSYIVEKANPV
NDLCYPGNFNDYELKHLRSRINHFEKIQIIPKSSWSSEASLGVSSACPYLGKSSFF
RNVVWLVKKNSTYPTIKRSYNNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGT
STLNQRLVPRIATRSKVNQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVKKG
DSTIMKSELEYGNCNTKCCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGCEPKVYKSNRLVLATGLR
NSPQRERRRKRGLFGAIGAGFIEGGWQGMVDGWYGHHSNEQGGGYAADKESTQKAI
DGVTKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNLERRIENLNKMKMEDGFLDVTYNAELLVLMEN
ERTLDFHDSNVKLNLYDKVRLQLRDNAKELGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQY
SEEARLKREEISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAIMVAGLSLWMCNSGSLQCRI
CIKLE"

ORIGIN

```

1 atggagaaaa tagtgcttct ttttgcaata gtcagtcctg ttaaaagtga tcagatttgc
61 attggttacc atgcaaacaa ctgcacagag cagggtgaca caataatgga aaggaacggt
121 actgttacac atgccaaga catactggaa aagacacaga acgggaagct ctgcgatcta
181 gatggagtga agcctctaatt tttgagagac tgtagtgtga ctggatggct cctcggaac
241 ccaatgtgtg acgaattcat caatgtgceg gaatggtctt acatagtgga gaaggccaat
301 ccagtcaatg acctctgtta cccagggaat ttcaatgact atgaagaatt gaacaccta
361 ttgagcagaa taaaccattt tgagaaaatt cagatcatcc ctaaaagttc ttggtccagt
421 catgaagcct cattaggggt gagctcagca tgtccatacc tgggaaaagtc ctgcttttc
481 agaatgtgg tatggcttgt caaaaagaac agtacatacc caacaattaa gaggagctac
541 aataatacca accaagaaga tcttttgta ctgtggggga ttcaccatcc taatgatgag
601 gcagagcaga caaagctcta tcaaaaccca accacctata tttctgttg gacatcaaca
661 ctaaaccaga gattggtacc aagaatagct actagatcca aagtaaacgg gcaaagtgga
721 aggatggagt tcttctggac aattttaaaa ccgaatgatg caatcaactt cgagagtaat
781 ggaatttca ttgctccaga atatgcatac aaaattgtca agaaagggga ctcaacaatt
841 atgaaaagtg aattggaata tggttaactgc aacaccaagt gtcaaaactcc aatgggggag
901 ataaactcta gtaactccat ccacaatata cacccttca ctatcgggga atgcccacaa
961 tatgtgaaat gaaacagatt agtccttgca actgggctca gaaatagccc tcaaagagag
1021 agaagaagaa aaaaagagg attatttga gctatagcag gttttataga ggggggatgg
1081 cagggaatgg tagatggtgt gtaggggtac caccatagca atgagcaggg gtagtgggtat
1141 gctgcagacc aagaatccac tcaaaaggca atagatggag tcaccaataa ggtcaactcg
1201 ataattgaca aaatgaacac tcagtttgag gccgttgga gggaaattta caacttagaa
1261 aggagaatag agaatttaaa caagaagatg gaagacgggt tcctagatgt ctggacttat
1321 aatgctgaa tctctggtct catggaaaat gagagaactc tagactttca tgactcaaat
1381 gtcagaagacc ttatcgacaa ggtccgacta cagcttaggg ataatgcaa ggagctgggt
1441 aatggttggt tcgagttcta tcataagtgt gataatgaat gtatggaaa tgtgagaac
1501 ggaacgtatg actaccgcga gtattcagaa gaagcaagac taaaagaga ggaataaagt
1561 ggagtaaaat tggatcaat aggaatttac caaatattgt caatttattc tacagtggcg
1621 agttccctag cactggcaat catggtagct ggtctatcct tatggatgtg ctccaatggg
1681 tcgttaacat gcagaatttg cattaaattg gagt

```


CU-332 (NA)

DEFINITION Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-332/06 (H5N1)) neuraminidase (NA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616868

VERSION EU616868.1 GI:187475466

KEYWORDS .

SOURCE Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-332/06 (H5N1))

ORGANISM *Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-332/06 (H5N1))*
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae; Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1320)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R., Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A., Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1320
/organism="Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-332/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/quail/Thailand/CU-332/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="quail"
/db_xref="taxon:519107"
/country="Thailand"

gene 1..>1320
/gene="NA"

CDS 1..>1320
/gene="NA"
/codon_start=1
/product="neuraminidase"
/protein_id="ACD12264.1"
/db_xref="GI:187475467"
/translation="MNPNKIITIGSICMVTGMVSLMLQIGNLISIVVSHSIHTGSQHKAEPI SNTNFLT EKAVASVKLAGNSS LCPINGWAVYSKDNSIRIGSKGDV FVIREPFI SC SHLE CRTFFLTQ GALLNDKHSNGSVKDRSPHRTL MSCPVGEAPSPYNSRFESVAWSASACHDGT SWLTIGISGPDNGAVAVLKYNGIITDTIKSWRNILRTQESECA CVNGSC FTWMTDGP SNGQASHKIFKMEKGVVKSVELDAPNYHYEECSYPDAGEITCVCRDNW HGSNRPWV SFNQLE YQIGYICSGVFGDNPRPNDGTGSCGPVSSNGAYGVKGF SFKYNGW WIGRTKSTNSRSGFEMIWDPNGW TETDSSFSVKQDIVAITDWSGYSGSFVQHP ELTGLDCIRPCFVWELIRGQPKESTIWTSGSSISFCGVSDTVGWSWPDG"

ORIGIN

```

1 atgaatccaa ataagaagat aataaccatc ggatcaatct gtatggtaac tggaaatggt
61 agcttaatgt taca aattgg gaacttgatc tcaatatggg tcagtcattc aattcacaca
121 gggagtc aac aca aagctga accaatcagc aataactaatt ttcttactga gaaagctgtg
181 gcttcagtg a aattagcggg caattcatct ctttgcccca ttaatggctg ggctgtatac
241 agtaaggaca acagtataag gatcggttcc aagggggatg tgtttgttat aagagagcca
301 ttcattcat gctcccactt ggaatgcaga actttctttt tgactcaggg agccttgctg
361 aatgacaagc actccaatgg gagtgtcaaa gacaggagcc ctacagaac attaatgagt
421 tgtcctgtgg gtgaggtccc ctcccataat aactcaaggt ttgagtcctg tgcttggtca
481 gcaagtgctt gccatgatgg cactagttgg ttgacaattg gaatttctgg ccagacaat
541 ggggctgtgg ctgtgttgaa atacaatggc ataataacag aactatcaa gaggttggagg
601 aataacatac tgagaactca agagtctgaa tgtgcatgtg taaatggctc ttgctttact
661 gtaatgactg acggaccaag taatggctcag gcatcacata agatcttcaa aatggaaaaa
721 gggaaagtgg ttaa atcagt cgagttggat gctcctaatt atcactatga ggaatgctcc
781 tgttatcctg atgctggcga aatcacatgt gtgtgcaggg ataattggca tggctcaaat
841 cggccatggg tatctttcaa tcaaaatttg gagtatcaaa taggatataat atgcagtgga
901 gttttcggag acaatccacg cccaatgat ggaacaggtg gttgtggtcc ggtgtcctct
961 aacggagcat atggggtaaa agggttttca tttaaatcag gcaatgggtg ctggatcggg
1021 agaacaaaaa gcaactaatc caggagcggc tttgaaatga tttgggatcc aaatgggtgg
1081 actgaaacgg acagtagctt ttcagtga aa caagatatcg tagcaataac tgattggtca
1141 ggatatagcg ggagttttgt ccagcatcca gaattgacag gactagattg cataagacct
1201 tgtttctggg ttgagttgat ccagggcag ccaaaagaga gcacaatttg gactagtggg
1261 agcagcatat ctttttggg tgtagatagt gacactgtgg gttggtcttg gccagacggt

```

CU-333 (HA)

DEFINITION Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-333/06(H5N1)) hemagglutinin (HA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616875

VERSION EU616875.1 GI:187475449

KEYWORDS

SOURCE Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-333/06(H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-333/06(H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1696)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES

source Location/Qualifiers

1..1696

/organism="Influenza A virus
(A/quail/Thailand/CU-333/06(H5N1))"

/mol_type="viral cRNA"

/strain="A/quail/Thailand/CU-333/06"

/serotype="H5N1"

/specific_host="quail"

/db_xref="taxon:519108"

/country="Thailand"

gene <1..>1696

/gene="HA"

CDS <1..>1696

/gene="HA"

/codon_start=2

/product="hemagglutinin"

/protein_id="ACD12254.1"

/db_xref="GI:187475450"

/translation="IVLLFAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQVDTIMERNVTVTHAQD
ILEKTHNGKLCDDLDGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCEDEFINVPWSYIIVEKANPVNDL
CYPGNFRYEEELKHLKLSRINHFEKIQII PKSSWSSEASLGVSSACPYLGKSSFFRNV
VVLVKKNSTYPTIKRSYNNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGTSTL
NQRLVPRIRATRSKVNQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVKKGDST
IMKSELEYGNCNTKQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGCEPKYVKSNNRLVLTATGLRNSP
QRERRRKRGLFGAIAAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSGYAADKESTQKIDGVT
NKVNSIIDKMNTOFEAVGREFPNNLERRIENLNKKMEDGFLDVWVYNAELVLMENERT
LDFHDSNVKKNLYDKVRLQLRDNAKELGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQYSEE
ARLKREEISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSIALAIMVAGLSLWMCNSGSLQCRICI"

ORIGIN

```

1 aatagtgtct ctttttgcaa tagtcagtct tgttaaaagt gatcagattt gcattgggta
61 ccatgcaaac aactcgacag agcaggttga cacaataatg gaaaggaacg ttactgttac
121 acatgcccaa gacatactgg aaaagacaca caacgggaag ctctgcatc tagatggagt
181 gaagcctcta attttgagag actgtagtgt agctggatgg ctctcggaa acccaatgtg
241 tgacgaattc attaatgtgc cggaaatggc ttacatagtg gagaaggcca atccagtcaa
301 tgacctctgt taaccagggg atttcaatga ctatgaagaa ttgaaacacc tattgagcag
361 aataaaccat tttgagaaaa ttcagatcat ccctaaaagt tcttggtcca gtcatgaagc
421 ctcataggg gtgagctcag catgtccata cctgggaaag tctcctttt tcagaaatgt
481 gctatggctt gtcacaaaaga acagtacata cccaacaatt aagaggagctt acaataatac
541 caaccaagaa gatcttttgg tactgtgggg gattcaccat cctaatgatg cggcagagca
601 gacaaagctc tatcaaaacc caaccaccta tatttctgtt gggacatcaa cactaaacca
661 gagattggta ccaagaatag ctactagatc caaagtaaac gggcaaatgt gaaggatgga
721 gttcctctgg acaatfttaa aaccgaatga tgcaatcaac ttcgagagta atggaaattt
781 cattgtccca gaatatgcat acaaaattgt caagaaaggg gactcaacaa ttatgaaaag
841 tgaattggaa tatggtaact gcaacaccaa gtgtcaaac ccaatggggg cgataaactc
901 tagtatccca ttccacaata tacacctct cactatcggg gaatgcccc aatatgtgaa
961 atcaaacaga ttagtccttg caactgggct cagaatagc cctcaagag agagaagaag
1021 aaaaaaaaga ggattatttg gagctatagc aggttttata gaggggggat ggcaggggat
1081 ggtagatggt tggatggggt accaccatag caatgagcag gggagtggtt atgctgcaga
1141 caaagaatcc actcaaaagg caatagatgg agtcaccaat aaggtcaact cgatcattga
1201 caaaatgaac actcagtttg aggccttgg aagggaaatt aacaacttag aaaggaat
1261 agagaattta aacaagaaga tggaaagcgg gttcctagat gtctggactt ataatgctga
1321 acttctggtt ctcatggaaa atgagagaac tctagacttt catgactcaa atgtcaagaa
1381 cctttacgac aaggtccgac tacagcttag ggataatgca aaggagctgg gtaatggtt
1441 ttcgagttc tatcataagt gtgataatga atgtatggaa agtgtgagaa acggaactga
1501 tgactaccg cagtattcag aagaagcaag actaaaaaga gaggaaataa gtggagtaaa
1561 atgggaatca ataggaattt accaaatatt gtcaatttat tctacagtgg cgagttccct
1621 agcactggca atcatggtag ctggtctatc cttatggatg tgctccaatg ggtcgttaca
1681 atgcagaatt tgcattt

```

CU-333 (NA)

DEFINITION Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-333/06(H5N1)) neuraminidase (NA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616876

VERSION EU616876.1 GI:187475447

KEYWORDS .

SOURCE Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-333/06(H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-333/06(H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae; Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1323)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R., Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A., Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1323
/organism="Influenza A virus (A/quail/Thailand/CU-333/06(H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/quail/Thailand/CU-333/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="quail"
/db_xref="taxon:519108"
/country="Thailand"

gene 1..>1323
/gene="NA"

CDS 1..>1323
/gene="NA"
/codon_start=1
/product="neuraminidase"
/protein_id="ACD12253.1"
/db_xref="GI:187475448"
/translation="MNPNKIIITIGSICMVTGMVSLMLQIGNLISIWVSHSIHTGNQH
KAEPISNTNLFTEKAVASVKLAGNSSLCPINGWAVYSKDNSIRIGSKGDVVFVIREPFI
SCSHLECRTPFLTQGALLNDKHSNGSVKDRSPHRTLMSCPVGAEAPSPYNSRFESVAWS
ASACHDGTSWLTIGISGPDNGAVAVLKYNGIITDTIKSWRNILRTQSEACACVNGSC
FTVMTDGPSPNGQASHKIFKMEKGVVKSVELDAPNYHYECSYPDAGEITCVCRDNW
HGSNRPVWSFNQNLLEYQIGYICSGVFGDNPNDGTGSCGVPVSSNGAYGVKGFSEFKYG
NGVWIGRTKSTNSRSGFEMIWDPNGWTETDSSFSVKQDIVAITDWSGYSGFVQHPQL
TGLDCIRPCFWVELIRGQPKESTIWTSGSSISFCGVDSDTVGSWSPDGA"

ORIGIN

```

1 atgaatccaa ataagaagat aataaccatc ggatcaatct gtatggtaac tggaaatggt
61 agcttaatgt tacaatttgg gaacttgatc tcaatatggg tcagtcattc aattcacaca
121 gggaaatcaac acaaagctga accaatcagc aataactaatt ttcttactga gaaagctgtg
181 gcttcagtga aattagcggg caattcatct ctttgcccca ttaatggctg ggctgtatac
241 agtaaggaca acagtataag gatcggttcc aagggggatg tgtttgttat aagagagcca
301 ttcattctcat gctcccactt ggaatgcaga actttctttt tgactcaggg agccttgctg
361 aatgacaagc actccaatgg gagtgtcaaa gacaggagcc ctcacagAAC attaatgagt
421 tgtcctgtgg gtgaggctcc ctcccataat aactcaaggT ttgagtctgt tgcttggtea
481 gcaagtgctt gccatgatgg cactagtTgg ttgacaattg gaatttctgg cccagacaat
541 ggggctgtgg ctgtgttgaa atacaatggc ataataacag acactatcaa gagttggagg
601 aataacatac tgagaactca agagtctgaa tgtgcatgtg taaatggctc ttgctttact
661 gtaatgactg acggaccaag taatgggtcag gcatcacata agatcttcaa aatggaaaaa
721 gggaaagtgg ttaaatcagt cgagttggat gctcctaatt atcactatga ggaatgctcc
781 tgttatcctg atgctggcga aatcacatgt gtgtgcaggg ataattggca tggctcaaat
841 cggccatggg tatctttcaa tcaaaatttg gagtatcaa taggatatat atgcagtgga
901 gttttcggag acaatccacg ccccaatgat ggaacaggta gttgtggctc ggtgtcctct
961 aacggagcat atggggtaaa aggggtttca tttaaatacg gcaatgggtg ctggatcggg
1021 agaacaaaaa gcactaattc caggagcggc tttgaaatga tttgggatcc aatgggtgg
1081 actgaaacgg acagtAgctt ttcagtgaaa caagatatcg tagcaataac tgattggtea
1141 ggatatagcg ggagttttgt ccagcatcca gaattgacag gactagattg cataagacct
1201 tgtttctggg ttgagttgat cagagggcag cccaagaga gcacaatttg gactagtggg
1261 agcagcatat ctttttTgtg tgtagatagt gacactgtgg gttggctctg gccagacggt
1321 gct

```


CU-334 (HA)

DEFINITION Influenza A virus (A/watercock/Thailand/CU-334/06 (H5N1))
hemagglutinin (HA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616883

VERSION EU616883.1 GI:187475430

KEYWORDS

SOURCE Influenza A virus (A/watercock/Thailand/CU-334/06 (H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/watercock/Thailand/CU-334/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1707)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1707
/organism="Influenza A virus
(A/watercock/Thailand/CU-334/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/watercock/Thailand/CU-334/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="watercock"
/db_xref="taxon:519110"
/country="Thailand"

gene <1..>1707
/gene="HA"

CDS <1..>1707
/gene="HA"
/codon_start=1
/product="hemagglutinin"
/protein_id="ACD12243.1"
/db_xref="GI:187475431"
/translation="VLLFAIVSLVKSQDQICIGYHANNSTEQVDTIMEKNVTVTHAQDI
LEKTHNGKLCDDLDGVKPLILRDCSVAGWLLGNPMCEFINVPEWSYIVEKANPVDNL
YPGNFNDYEELKHLLSRINHFEKIQIIPKSSWSSESALGVSSACPYLKGSSFFRNVV
WLVKKNSTYPTIKRSYNNNQEDLLVWGLIHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGTSTLN
QRLVPRIATRISKVNGQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVKKGSDTI
MKSELEYGNCNTKQTPMGAINSSMPFHNHPLTIGCEPKYVKSRLVLTGLRNSPQ
RERRRRKKRGLFGATAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSSGYAADKESTQKAIDGVTN
KVNSIIDKMNTPFEAVGREFNLEERRIENLNKKMEDGFLDVWTYNAELLVLMENERTL
DFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNAKELGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQYSEEA
RLKREIEISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAIMVAGLSLWMCNSGSLQCRICIKL
ESD"

ORIGIN

```

1 gtgcttcttt ttgcaatagt cagtcttggt aaaagtgatc agatttgcac tggttaccat
61 gcaacaact cgacagagca ggttgacaca ataatggaaa agaacgttac tgttacacat
121 gcccaagaca tactggaaaa gacacacaac ggaagctct cgcgatctaga tggagtgaa
181 cctctaatt tgagagattg tagttagctt ggatggctcc ttggaaaccc aatgtgtgac
241 gaattcatta atgtgcccga atggtcttac atagtggaga aggccaatcc agtcaatgac
301 ctctgttacc caggaattt caatgactat gaagaattga aacacctatt gaggagaata
361 aaccattttg agaaaattca gatcatcccc aaaagttctt ggtccagtca tgaagcctca
421 ttagggggta gctcagcatg tccatactcg ggaaagtcc cctttttcag aaatgtggta
481 tggcttgtca aaaagaacag tacatacca acaattaaga ggagctaca taataccaac
541 caagaagatc ttttggact gtgggggatt caccatccta atgatgcggc agagcagaca
601 aagctctatc aaaacccaac cacctatatt tctgttggga catcaacact aaaccagaga
661 ttggtacca gaatagctac tagatccaaa gtaaacgggc aaagtggag gatggagtc
721 ttctggacaa ttttaaaccc gaatgatgca atcaactcg agagtaatgg aaatttcatt
781 gctccagaat atgcatacaa aatgtgcaag aaaggggact caacaattat gaaaagtga
841 ttggaatatg gtaactgcaa caccaagtgt caaactcaa tggggcgcat aaactctagt
901 atgccattcc acaatataca cctctcact atcggggat gccccaata tgtgaaatca
961 aacagattag tctctgcaac tgggctcaga aatagccctc aaagagagag aagaagaaaa
1021 aagagaggat tatttggagc tatagcaggt tttatagagg ggggatggca gggaatggta
1081 gatggttggt atgggtacca ccatagcaat gaggcgggga gtgggtatgc tgcagacaaa
1141 gaatccactc aaaaggcaat agatggagtc accaataaag tcaactcgt cattgacaaa
1201 atgcaactc agtttgagc cgttggagg gaatttaaca acttagaaag gagaatgag
1261 aatttaaaaca agaagatgga agacgggttc ctatagctct ggacttataa tgctgaactt
1321 ctggttctca tggaaaatga gagaactcta gactttcatg actcaaatgt caagaacctt
1381 tacgacaagg tccgactaca gcttagggat aatgcaaagg agctgggtaa tggttgtttc
1441 gatgtctatc ataatgtgta taatgaatgt atggaaaagt tgagaaaagg aacgtatgac
1501 taccgcagc attcagaaga agcaagacta aaaagagagg aaataagtgg agtaaaattg
1561 gaatcaatag gaatttacca aatattgtca atttattcta cagtggcgag ttcctagca
1621 ctggcaatca tggtagctgg tctatccta tggatgtgct ccaatgggtc gttacaatgc
1681 agaatttgca ttaaattgga gtcagat

```

CU-334 (NA)

DEFINITION Influenza A virus (A/watercock/Thailand/CU-334/06 (H5N1))
neuraminidase (NA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616884

VERSION EU616884.1 GI:187475428

KEYWORDS

SOURCE Influenza A virus (A/watercock/Thailand/CU-334/06 (H5N1))
ORGANISM Influenza A virus (A/watercock/Thailand/CU-334/06 (H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1320)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1320
/organism="Influenza A virus
(A/watercock/Thailand/CU-334/06 (H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/watercock/Thailand/CU-334/06"
/serotype="H5N1"
/specific_host="watercock"
/db_xref="taxon:519110"
/country="Thailand"

gene 1..>1320
/gene="NA"

CDS 1..>1320
/gene="NA"
/codon_start=1
/product="neuraminidase"
/protein_id="ACD12242.1"
/db_xref="GI:187475429"
/translation="MNPNNKIIIGSICMVTGMVSLMLQIGNLISIWVSHSIHTGSQH
KAEPISNTNFLTPEKAVASVVLKAGNSSLCPINGWAVYSKDNSIRIGSKGDVVFVIREPFI
SCSHLECRFTFLTQGALLNDKHSNGSVKDRSPHRTLMSCPVGEPSPYNSRFESVAWS
ASACHDGTSWLTIGISGPDNGAVAVLKYNGIITDTIKSWRNNILRTQSEECACVNGSC
FTVMTDGPSPNGQASHKIFKMEKGVVKSVELDAPNYHYEECSYPDAGEITCVCRDNW
HGSNRPVWSFNQNLQYQIGYICSGVFGDNPRPNDGTGSCGPVSSNGAYGVKGFSEFKYG
NGVWIGRTKSTNSRSGFEMIWDPNGTETDSSFSVKQDIVAITDWSGYSGSFVQHPQL
TGLDCIRPCFWVELIRGQPKESTIWTSGSSISFCGVDSDTVGWSWPDG"

ORIGIN

```

1 atgaatccaa ataagaagat aataatcctc ggatcaatct gtatggtaac tggaaatggtt
61 agcttaaatgt tacaatttgg gaacttgatc tcaatatggg tcagtcaattc aattcacaca
121 gggagtcacac acaaagctga accaatcagc aataactaatt ttcttactga gaaagctgtg
181 gcttcagtgaa aatttagcggg caattcatct ctttgcccca ttaatggctg ggtgtatac
241 agtaaggaca acagtataag gatcgggtcc aagggggatg tgtttgttat aagagagcca
301 ttcattctcat gctcccactt ggaatgcaga actttctttt tgactcaggg agccttgctg
361 aatgacaagc actccaatgg gagtgtcaaa gacaggagcc ctcacagAAC attaatgagt
421 tgtcctgtgg gtgaggctcc ctcccataat aactcaaggt ttgagtctgt tgcctgggtca
481 gcaagtgtct gccatgatgg cactagtctg ttgacaattg gaatttctgg cccagacaat
541 ggggctgtgg ctgtgttgaa atacaatggc ataataacag acactatcaa gagtggagg
601 aataacatac tgagaactca agagtctgaa tgtgcatgtg taaatggctc ttgctttact
661 gtaatgactg acggaccaag taatgggtcag gcatcacata agatcttcaa aatggaaaaa
721 gggaaagtgg ttaaatcagt cgagttggat gctcctaatt atcaactatga ggaatgctcc
781 tgttatcctg atgctggcga aatcacatgt gtgtgcaggg ataattggca tggctcaaat
841 cggccatggg tatctttcaa tcaaaatttg gagtatcaaa taggatatat atgcagtgga
901 gtttctggag acaatccacg ccccaatgat ggaacaggtg gttgtggctc ggtgtcctc
961 aacggagcat atggggtaaa aggggtttca tttaaatacg gcaatgggtg ctggatcggg
1021 agaacaaaaa gcactaatc caggagcggc tttgaaatga tttgggatcc aaatgggtgg
1081 actgaaacgg acagtgtctt ttcagtgaac caagatatcg tagcaataac tgatgggtc
1141 ggatatagcg ggagttttgt ccagcatcca gaattgacag gactagattg cataagacct
1201 tgtttctggg ttgagttgat cagagggcag cccaaagaga gcacaatttg gactagtggg
1261 agcagcatat ctttttgtgg ttagatagat gacactgtgg gttggtcttg gccagacggg

```


CU-328 (HA)

DEFINITION Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-328/07(H5N1)) hemagglutinin (HA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616835

VERSION EU616835.1 GI:187475404

KEYWORDS

SOURCE Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-328/07(H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-328/07(H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1719)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

FEATURES

source 1..1719
/organism="Influenza A virus
(A/duck/Thailand/CU-328/07(H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/duck/Thailand/CU-328/07"
/serotype="H5N1"
/specific_host="duck"
/db_xref="taxon:519100"
/country="Thailand"

gene 1..>1719
/gene="HA"

CDS 1..>1719
/gene="HA"
/codon_start=1
/product="hemagglutinin"
/protein_id="ACD12228.1"
/db_xref="GI:187475405"
/translation="MEKIVLLFAIVSLVKSDQICIGYHANNSTEQIDTIMEKNVTVTH
AQDILEKTHNGKCLDLGKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDFINVPWESYIIVEKANPA
NDLCYPGDFNDYEEELKHLLSRINHFEKIQIIPKNSWSSHEASLGVSSACPYQKSSFF
RNVVWLIIKKNSTYPTTIKRSYNNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGT
STLNQRLVPRIATRSKVNQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNFIAPYAYKIVKKG
DSTIMKSELEYGNCNTRCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGCEPKYVKSNNRLVLATGLR
NSPQRERRRRKRGFLGAIAGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQSGSYAADKESTQKAI
DGVTKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNNLERRIENLNKKMEDGFLDVWTYNAELLVLMEN
ERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNKELGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQY
SEEARLKREESIGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAIMVAGLSLWMCNSNGSLQCRI
CIKLESD"

ORIGIN

```

1 atggagaaaa tagtgcttct ttttgaata gtcagtcttg ttaaaagtga tcagatttgc
61 attggttacc atgcaaacaa ctcaacagag cagattgaca caataatgga aaagaacgct
121 actgttacac atgccaaga cactactggaa aagacacaca acgggaagct ctgtgatcta
181 gatggagtga agcctctaatt tttgagagat tgtagtgtag ctggatggct ccttggaaac
241 ccaatgtgtg atgaattcat caatgtgccg gaatggtcct acatagtgga gaaggccaat
301 ccagccaatg acctctgtta cccaggggat ttcaatgact atgaagaatt gaaacaccta
361 ttgagcagaa taaaccattt tgagaaaatt cagatcatcc ccaaaaattc ttgctcaagt
421 catgaagcct cattgggagt gagctcagca tgtccatate agggaaaagt ctcctttttc
481 agaaatgtgg tatggcttat caaaaagaac agtacatacc caacaataaa gaggagctac
541 aataatacca accaagaaga tcttttggtg actgtggggga ttcaccatcc taatgatgag
601 gcagagcaga caaagctcta tcaaaaccca accacctata tttcgttggg gacatcaaca
661 ctaaaccaga gattgttacc aagaatagct actagatcca aagtaaaccg gcaaagtgga
721 aggatggagt tcttctggac aattttaaaa ccgaatgatg caatcaactt cgagagtaat
781 ggaaatttca ttgctccaga atatgcatac aaaattgtca agaaagggga ctcaacaatt
841 atgaaaagtg aattggaata tggtaactgc aacaccaggt gtcaactcc aatggggcgc
901 ataaactcta gtatgccatt ccacaatata caccctctca ccatcgggga atgccccaaa
961 tatgtgaaat caaacagatt agtccttggc actgggctca gaaatagccc tcaaagagag
1021 agaagaagaa aaaagagagag attatttggg gctatagcag gttttataga gggaggatgg
1081 cagggaaatgg tagatggttg tcatgggtac caccatagca atgagcaggg gagtgggtac
1141 gctgcagaca aagaatccac tcaaaaggca atagatggag tcaccaataa ggtcaactcg
1201 atcattgaca aaatgaacac tcagtttgag gccgttggaa gggaaattta caacttagaa
1261 aggagaatag agaattttaa caagaagatg gaagacgggt tcctagatgt ctggacttat
1321 aatgctgaac ttctggttct ctggaaaat gagagaactc tagactttca tgactcaaat
1381 gtcaagaacc tttacgacaa ggtccgacta cagcttaggg ataatgcaaa ggagctgggt
1441 aacggttgtt tcgagtctta tcataaatgt gataatgaat gtatggaaag tgtaagaaac
1501 ggaacgatg actaccgca gtattcagag gaagcaagac taaaagaga ggaataaagt
1561 ggagtaaaat tggaaatcaat aggaatttac caaatactgt caattattc tacagtggcg
1621 agttccctag cactggcaat catggtagct ggtctatcct tatggatgtg ctccaatggg
1681 tcgctacaat gcagaatttg cattaattg gagtcagat

```


CU-328 (NA)

DEFINITION Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-328/07(H5N1)) neuraminidase (NA) gene, complete cds.

ACCESSION EU616836

VERSION EU616836.1 GI:187475402

KEYWORDS

SOURCE Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-328/07(H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-328/07(H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae; Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1311)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R., Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A., Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1311
/organism="Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-328/07(H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/duck/Thailand/CU-328/07"
/serotype="H5N1"
/specific_host="duck"
/db_xref="taxon:519100"
/country="Thailand"

gene 1..1311
/gene="NA"

CDS 1..1311
/gene="NA"
/codon_start=1
/product="neuraminidase"
/protein_id="ACD12227.1"
/db_xref="GI:187475403"
/translation="MNPNKKIITIGSICMVTGMISLMLQIGNLISIWVRSRISHTGNQO
KAEPISNTNFLTKEKAVASLKLKAGNSSLCPINGWAVYSKDNSIRIGSKGDVVFVIREPFI
SCSHLECRFTFFLTQGSLLNDKHSNGTVKDRSPHRTLMSCPVGEAPSPYNSRFESVAWS
ASACHDGTSWLTIGISGPDGAVAVLKYNGIITDTIKSWRNNILRTQESACACVNGSC
FTVMTDGPNSNGQASHKIFKMEKGVKVSVELDAPNYHYECCSCYPDAGEITCVCRDNW
HGSNRPWVSFNQNLLEYQIGYICSGVFGDTPRPNDGTGSCGPVSSNGTYGVKGFSPKYG
NGVWIGRTKSTNSRSGFEMIWDPNGWTFETDSSFSVKQDIVAITDWSGYSGSFVQHPPEL
TGLDCIRPCFVVELIRGRPKESTIWTSGSSISFCGVNSDVTGDK"

ORIGIN

1 atgaatccaa acaagaagat aataaccatc ggatcaatct gtatggtaac tggaaatgatt
61 agcttaaatgt tacaaaattgg gaacttgatc tcaatatggg tcagtcggtc cattcacaca
121 gggaaatcaac agaaaagtga accaatcagc aatactaatt ttctactga gaaagctgtg
181 gcttcattaa aattggcggg caattcatct ctttccccta ttaatgggtg ggctgtatac
241 agtaaggaca acagtataag gatcggttcc aagggggatg tgtttgttat aagagagcca
301 ttcattctcat gtcceactt ggaatgcaga actttctttt tgactcaggg atctttgctg
361 aatgacaagc actccaatgg gactgtcaaa gacaggagcc ctcacagAAC attaatgagt
421 tgtcctgtgg gtgaggctcc ctcccocat aactcaaggt ttgagtctgt tgcttgggtca
481 gcaagtgctt gccatgatgg caccagtggg ttaacaattg gaatttctgg cccagacagt
541 ggggctgtgg ctgtattgaa atacaatggc ataataacag acactatcaa gagttggagg
601 aataacatac tgagaactca agagtctgaa tgtgcatgtg taaatggctc ttgctttact
661 gtaatgactg acggaccaag taatggtcag gcatcacata agatcttcaa aatggaaaaa
721 gggaaagtgg ttaaatcagt gaattggat gctcctaatt atcactatga ggaatgctcc
781 tgtttactctg atgcccggcga aatcacatgt gtgtgcaggg ataattggca tggctcaaat
841 cggccatggg tatctttcaa tcaaaatttg gagtatcaaa taggatatat atgcagtgga
901 gttttcggag acactcgcg ccccaatgat ggaacaggta gttgtgggtc ggtgtcctct
961 aacggggacat atggggtaaa agggttttca tttaaatag gcaatgggtg ctggatcggg
1021 agaacaaaaa gcactaatc caggagcggc tttgaaatga tttgggatcc aaatgggtgg
1081 actgaaacgg acagtagctt ttcagtgaac caagatctg tagcaataac tgattggtca
1141 ggatatagcg ggagttttgt ccagcatcca gaactgacag gactagattg cataagacct
1201 tgtttctggg ttgagttgat cagagggcgg cccaaagaga gcacgattg gactagtggg
1261 agcagcatat cgttttggg tgtaaatagt gacactgtgg gtgacaagta g

CU-329 (HA)

DEFINITION Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-329/07(H5N1)) hemagglutinin (HA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616843

VERSION EU616843.1 GI:187475523

KEYWORDS .

SOURCE Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-329/07(H5N1))

ORGANISM Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-329/07(H5N1))
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae;
Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1667)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R.,
Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A.,
Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1667
/organism="Influenza A virus
(A/duck/Thailand/CU-329/07(H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/duck/Thailand/CU-329/07"
/serotype="H5N1"
/specific_host="duck"
/db_xref="taxon:519101"
/country="Thailand"

gene 1..>1667
/gene="HA"

CDS 1..>1667
/gene="HA"
/codon_start=1
/product="hemagglutinin"
/protein_id="ACD12296.1"
/db_xref="GI:187475524"
/translation="MEKIVLLFAIVSLVKSQICIGYHANNSTEQIDTIMEKNVTVTH
AQDILEKTHNGKCLDLDGKPLILRDCSVAGWLLGNPMCDFINVPWESYIVEKANPA
NDLCYPGDFNDYEELKHLISRINHFKEKIQIIPKNSWSSHEASLGVSSACPYLGNPSFF
RNVVWLIKKNSTYPTIKRSYNNTNQEDLLVLWGIHHPNDAAEQTKLYQNPTTYISVGT
STLNQRLVPRAIATRSKVNQSGRMEFFWTILKPNDAINFESNGNPIAPEYAYKIVKKG
DSTIMKSELEYGNCNTKQCQTPMGAINSSMPFHNIHPLTIGECPKYVKSRLVLTGLR
NSPQREKRRKRGLFGAIAIGFIEGGWQGMVDGWYGYHHSNEQGSYAADKESTQKAID
GVTNKVNSIIDKMNTQFEAVGREFNLERRIENLNKKMEDGFLDVWTVYNAELLVLMEN
ERTLDFHDSNVKLNLYDKVRLQLRDNAKELGNGCFEFYHKCDNECMESVRNGTYDYPQY
SEEARLKREISGVKLESIGIYQILSIYSTVASSLALAIMVAGLSLW"

ORIGIN

1	atggagaaaa	tagtgcttct	ttttgcaata	gtcagctctg	ttaaaagtga	tcagatttgc
61	attggttacc	atgcaaacaa	ctcaacagag	cagattgaca	caataatgga	aaagaacggt
121	actgttacac	atgccaaga	catactggaa	aagacacaca	acgggaagct	ctgtgatcta
181	gatggagtga	agcctcta	tttgagagat	tgtagtgtag	ctggatggct	ccttgaaaac
241	ccaatgtgtg	atgaattcat	caatgtgccg	gaatggtcct	acatagtgga	gaaggccaat
301	ccagccaatg	acctctgtta	cccaggggat	ttcaatgact	atgaagaatt	gaaacaccta
361	ttgagcagaa	taaaccattt	tgagaaaatt	cagatcatcc	ccaaaaattc	ttggtccagt
421	catgaagcct	cattgggagt	gagctcagca	tgtccatata	tgggaaatcc	ctccttttcc
481	agaaatgtgg	tatggtctat	caaaaagaac	agtagatacc	caacaataaa	gaggagctac
541	aaataatacca	accaagaaga	tcttttggtg	ctgtggggga	ttcaccatcc	faatgatgag
601	gcagagcaga	caaagctcta	tcaaaaccca	accacctaca	tttccgttgg	gacatcaaca
661	ctaaaccaga	gattggtacc	aagaatagct	accagatcca	aagtaaacgg	gcaaagtgga
721	aggatggagt	tcttctggac	aattttaaaa	ccgaatgatg	caatcaactt	cgagagtaat
781	ggaaaatttca	ttgctccaga	atatgcatac	aaaattgtca	agaaaaggga	ctcaacgatt
841	atgaaaagtg	aattggaata	tggtaaactg	aacaccaagt	gtcaaacctc	aatgggagcg
901	ataaactcta	gtatgccatt	ccacaatata	caccctctca	ccatcgggga	atgccccaaa
961	tatgtgaaat	caaacagatt	agtctctgca	actggactca	gaaatagccc	tcaaagagag
1021	aaaagaagaa	aaaagagagg	attatttggg	gctatagcag	gttttataga	gggaggatgg
1081	cagggaatgg	tagatgggtg	gtatgggtac	caccatagca	atgagcaggg	gagtggttac
1141	gctgcagaca	aagaatccac	tcaaaaggca	atagatggag	tcaccaataa	ggtcaactcg
1201	atcattgaca	aaatgaacac	tcagtttgag	gctgttgaa	gggaatttaa	caacttagaa
1261	aggagaatag	agaattttaa	caagaagatg	gaagacgggt	tcctagatgt	ctggacttat
1321	aatgctgaac	ttctggttct	catggaaaat	gagagaactc	tagactttca	tgactcaaat
1381	gtcaagaacc	tttacgacaa	ggtccgacta	cagcttaggg	ataatgaaa	ggagctgggt
1441	aacggttgtt	tcgagttcta	tcataaatgt	gataatgaat	gtatggaaag	tgtaagaaac
1501	ggaacgtatg	actaccgca	gtattcagag	gaagcaagac	taaaagaga	ggaaataagt
1561	ggagtaaaat	tggaatcaat	aggaatttac	caaatactgt	caatttatcc	tcagtgggcg
1621	agttccctag	cactggcaat	catggtagct	ggtctatcct	tatggat	

CU-329 (NA)

DEFINITION Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-329/07(H5N1)) neuraminidase (NA) gene, partial cds.

ACCESSION EU616844

VERSION EU616844.1 GI:187475521

KEYWORDS

SOURCE Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-329/07(H5N1))

ORGANISM *Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-329/07(H5N1))*
Viruses; ssRNA negative-strand viruses; Orthomyxoviridae; Influenzavirus A.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1348)

AUTHORS Choatrakol,C., Lapkuntod,J., Tantilertcharoen,R., Thanawongnuwech,R., Suradhat,S., Suwannakan,K., Theamboonlers,A., Poovorawan,Y. and Amonsin,A.

TITLE H5N1 influenza virus in live bird and food markets in Thailand

JOURNAL Unpublished

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1348
/organism="Influenza A virus (A/duck/Thailand/CU-329/07(H5N1))"
/mol_type="viral cRNA"
/strain="A/duck/Thailand/CU-329/07"
/serotype="H5N1"
/specific_host="duck"
/db_xref="taxon:519101"
/country="Thailand"

gene 1..>1348
/gene="NA"

CDS 1..>1348
/gene="NA"
/codon_start=1
/product="neuraminidase"
/protein_id="ACD12295.1"
/db_xref="GI:187475522"
/translation="MNPNKKIITIGSICMVTGMISLMLQIGNLISIWVRSRISHTGNQQ
KAEPISNTNVLTEKAVASLKLGNSSLCPINGWAVYYSKDNSIRIGSKGDVVFVIREPFI
SCSHLECRTPFLTQGSLLNDKHSNGTVKDRSPHRTLMSCPVGEAPSPYNSRFESVAWS
ASACHDGTSWLTIGISGPDSDGAVAVLKYNGIITDTIKSWRNLI LRTQSESECAVNGSC
FTVMTDGPNSNGQASHKIFKMEKGVVKSVELDAPNYHYEBCSCYPDAGEITCVCRDNW
HGSNRPWVSFNQNLLEYQIGYICSGVFGDTPRPNDGTGSCGPVSSNGTYGVKGFSPKYG
NGVWIGRTKSTNSRSGFEMIWDPNGWTE TDDSSFSVKQDIVAITDWSGYSGSFVQHPLE
TGLDCIRPCFWVELIRGRPKESTIWTSGSSISFCGVNSDTVGWSPDGAELPFTIDK"

ORIGIN

```

1 atgaatccga acaagaagat aataaccatc ggatcaatct gtatggtaac tggaatgatt
61 agcttaatgt tacaatttgg gaacttgatc tcaatatggg tcagtcgctc cattcacaca
121 gggaaatcaac agaaagctga accaatcagc aataactaatg ttcttactga gaaagctgtc
181 gcttcattaa aattggcggg caattcatct ctttgcccta ttaatgggtg ggctgtatac
241 agtaaggaca acagtataag gatcggttcc aaggggatg tgttgttat aagagagcca
301 ttcattctcat gctcccactt ggaatgcaga actttctttt tgactcaggg atccttgctg
361 aatgacaagc actccaatgg gactgtcaaa gacaggagcc ctcacagaac gttaatgagt
421 tgtctctgtg gtgaggctcc ctccccatat aactcaaggt ttgagtcctg tgcttggtca
481 gcaagtgtct gccatgatgg caccagttgg ttaacaattg gaatttctgg cccagacagt
541 ggggctgtgg ctgtattgaa atacaatggc ataataacag acactatcaa gagttggagg
601 aataacatac tgagaactca agagtctgaa tgtgcatgtg taaatggctc ttgctttact
661 gtaatgactg acggaccaag taatggctcag gcatcacata agatcttcaa aatggaaaaa
721 gggaaagtgg ttaaatcagt tgaattggat gctcctaatt atcactatga ggaatgctcc
781 tgttatcctg atgccggcga aatcacatgt gtgtgcaggg ataattggca tggctcaaat
841 cggccatggg tatctttcaa tcaaaatttg gagtatacaa taggatatat atgcagtgga
901 gttttcggag acactccgcg cccaatgat ggaacaggta gttgtggtcc ggtgtcctc
961 aacgggacat atggggtaaa aggttttca ttaaatacg gcaatggtg ctggatcggg
1021 agaacaaaaa gcactaatc caggagcggc tttgaaatga tttgggatcc aaatgggtgg
1081 actgaaacgg acagttagct ttcagtgaaa caagatctg tagcaataac tgattggtca
1141 ggatatagcg ggagtttgt ccagcatcca gaactgacag gactagattg cataagacct
1201 tgtttctggg ttgagttgat cagagggcgg cccaaagaga gcacgatttg gactagtggg
1261 agcagcatat cgttttgtgg tgtaaatagt gacactgtgg gttggtcttg gccagacggt
1321 gctgagttgc cattcaccat tgacaagt

```