



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202207979 A

(43)公開日：中華民國 111 (2022) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：110125037

(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 07 月 07 日

(51)Int. Cl. : A61K39/145 (2006.01)

A61K39/215 (2006.01)

A61P31/14 (2006.01)

(30)優先權：2020/07/07 英國

2010425.3

(71)申請人：美商斯派克納有限公司 (美國) SPICONA INC. (US)

美國

(72)發明人：格魯克 萊茵哈德 GLUCK, REINHARD (CH)；班齊格 卡斯帕

BAENZIGER, KASPAR (CH)；蒙托莫利 伊曼紐爾 MONTOMOLI, EMANUELE

(IT)；法奇歐 阿加塔 FAZZIO, AGATA (IT)；昆圖 卡洛斯 QUINTO, CARLOS

(CH)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：18 項 圖式數：6 共 223 頁

(54)名稱

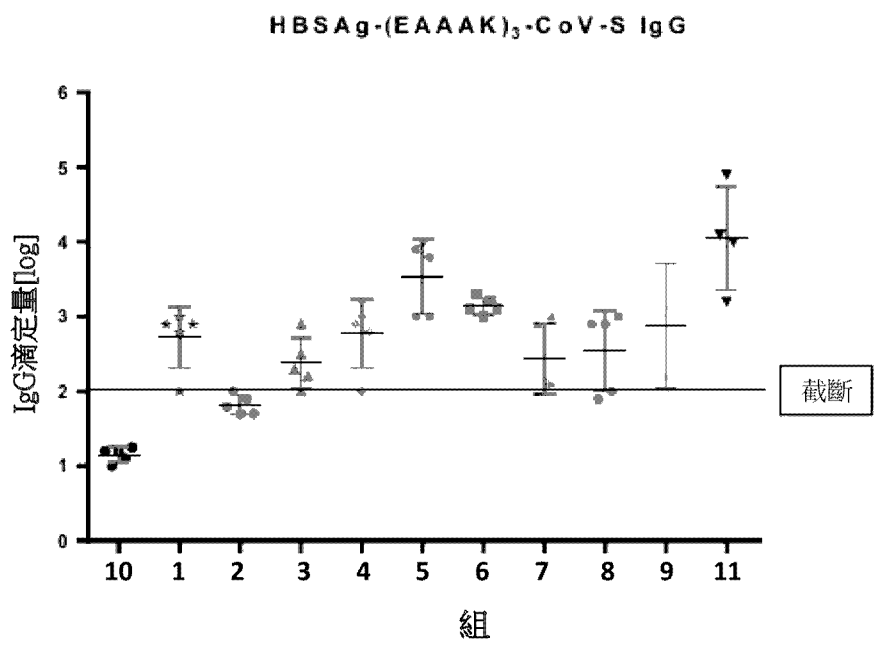
組合疫苗

(57)摘要

本發明係關於對抗流感及 COVID-19 兩者之組合疫苗。特別地，本發明係關於包含一或多種流感病毒抗原及一或多種 SARS-CoV-2 (冠狀病毒 SARS-CoV-2) 抗原，特別是一或多種 SARS-CoV-2 棘蛋白抗原之組合疫苗，及包含編碼該等抗原之多核苷酸之疫苗，且此等疫苗用於治療或預防 COVID-19 (SARS-CoV-2 感染) 及流感感染。

The present invention relates to combination vaccines against both influenza and COVID-19. In particular, the invention relates to combination vaccines comprising one or more influenza virus antigen and one or more SARS-CoV-2 (Coronavirus SARS-CoV-2) antigen, particularly one or more SARS-CoV-2 spike protein antigen, as well as vaccines comprising polynucleotides encoding said antigens, and such vaccines for the treatment or prevention of COVID-19 (SARS-CoV-2 infection) and influenza infection.

指定代表圖：



【圖3】



【發明摘要】

【中文發明名稱】

組合疫苗

【英文發明名稱】

COMBINATION VACCINE

【中文】

本發明係關於對抗流感及COVID-19兩者之組合疫苗。特別地，本發明係關於包含一或多種流感病毒抗原及一或多種SARS-CoV-2 (冠狀病毒SARS-CoV-2)抗原，特別是一或多種SARS-CoV-2棘蛋白抗原之組合疫苗，及包含編碼該等抗原之多核苷酸之疫苗，且此等疫苗用於治療或預防COVID-19 (SARS-CoV-2感染)及流感感染。

【英文】

The present invention relates to combination vaccines against both influenza and COVID-19. In particular, the invention relates to combination vaccines comprising one or more influenza virus antigen and one or more SARS-CoV-2(Coronavirus SARS-CoV-2) antigen, particularly one or more SARS-CoV-2 spike protein antigen, as well as vaccines comprising polynucleotides encoding said antigens , and such vaccines for the treatment or prevention of COVID-19 (SARS-CoV-2 infection) and influenza infection.

【指定代表圖】

圖3

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

組合疫苗

【英文發明名稱】

COMBINATION VACCINE

【技術領域】

【0001】 本發明係關於對抗流感及COVID-19兩者之組合疫苗。特定言之，本發明係關於包含一或多種流感病毒抗原及一或多種SARS-CoV-2抗原，較佳至少一種SARS-CoV-2 (冠狀病毒2019-nCoV)棘蛋白抗原之組合疫苗，及包含編碼該等抗原之多核苷酸之疫苗，及此等疫苗用於治療或預防COVID-19 (SARS-CoV-2感染)及流感感染。

【先前技術】

【0002】 截至2020年6月29日，全球超過10,000,000人確診為COVID-19陽性(由嚴重急性呼吸系統症候群冠狀病毒2 (SARS-CoV-2或冠狀病毒2019-nCoV)引起之疾病)。截至同一天，全球已記錄超過500,000例由於COVID-19引起之死亡。

【0003】 大多數感染SARS-CoV-2之病患經歷輕度至中度症狀，包括高溫或發燒、咳嗽、呼吸急促、疲勞及個體之嗅覺或味覺喪失或改變。一些病患進展為嚴重疾病，該疾病可涉及急性呼吸窘迫症候群(ARDS)、細胞激素風暴、多器官衰竭、感染性休克及血栓。另外，針對SARS-CoV-2感染測試呈陽性之一些病患無症狀，或經歷輕微症狀，使得除非進行測試，否則難以診斷。迄今為止的證據指示此等無症狀病患排出SARS-CoV-2病毒顆粒(通常比有症狀感染之病患更久)，且因此仍可有效傳播該

SARS-CoV-2病毒。

【0004】 與SARS-CoV-2感染相關聯之廣泛症狀，及無症狀病患之存在使得確定COVID-19之流行病學特性變得更困難。另外，至少一項研究指示，大多數無症狀及有症狀病患在恢復期僅八週內，對抗SARS-CoV-2之IgG及中和抗體之含量即均降低。一些臨床資料證實，相當大比例之無症狀病患(40%)，及少數有症狀感染之病患(~13%)在早期恢復期對IgG呈血清陰性(Long等人，Nat. Med. 2020 <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0965-6>)。因此，儘管開發SARS-CoV-2之疫苗係全球範圍內廣泛研究之標的，但現有證據表明，由此產生之對SARS-CoV-2感染之任何免疫力均可能係短期的。因此，持續需要開發COVID-19之疫苗，該等COVID-19可用於疫苗中以產生並維持對抗SARS-CoV-2感染及COVID-19疾病之保護性免疫力。此外，需要提供可容易整合至現有公共衛生疫苗接種計劃及時間表內之疫苗(考慮與疫苗組分抑制相關之問題)，及需大規模且廉價地生產此等疫苗。

【0005】 本發明藉由提供流感-COVID-19組合疫苗解決上文需求中之一或多者。此等組合疫苗包含一或多種流感病毒抗原及一或多種SARS-CoV-2抗原，較佳至少一種SARS-CoV-2 (冠狀病毒2019-nCoV)棘蛋白抗原，一或多種或編碼該等抗原之多核苷酸，容許使用現有針對流感病毒之公共衛生計劃，每年提高對抗SARS-CoV-2之免疫力。

【發明內容】

【0006】 迄今為止，儘管許多SARS-CoV-2之疫苗處於開發及/或臨床試驗中，但尚無經批准之疫苗可用於一般用途。此外，現有證據表明，對抗SARS-CoV-2之免疫力可相對較短暫。

【0007】發明人先前已開發編碼SARS-CoV-2棘蛋白之多核苷酸，該等多核苷酸提供該SARS-CoV-2棘蛋白之表現經增加之含量及持續時間，同時保留該天然棘蛋白之構象。

【0008】發明人現已證實，包含其SARS-CoV-2棘蛋白之疫苗組合物可與流感病毒疫苗成功組合，而無生產組合疫苗產品中常見之疫苗組分抑制之預期問題。另外，儘管標準流感疫苗不含有佐劑，但可將佐劑Addavax®成功併入根據本發明之SARS-CoV-2/流感疫苗內。在現有針對流感之公共衛生疫苗計劃中，每年對抗SARS-CoV-2感染之疫苗接種具有提高對抗SARS-CoV-2之免疫力且同時達成良好病患依從性之潛勢。

【0009】因此，本發明提供一種流感-COVID-19組合疫苗，其包含：(a)流感血球凝集素(HA)或其免疫原性片段；及(b)一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段；其中該等抗原能夠激發對抗流感及COVID-19之免疫反應及保護。

【0010】該流感-COVID-19組合疫苗可進一步包含流感神經胺糖酸酶(NA)或其免疫原性片段。該流感HA或其免疫原性片段可為：(i)包含於不活化流感病毒體中；(ii)重組HA或其免疫原性片段；(iii)包含HA或其免疫原性片段之融合蛋白；或(iv)由RNA或DNA疫苗編碼。該流感NA或其免疫原性片段可為：(i)包含於不活化流感病毒體中；(ii)重組NA或其免疫原性片段；(iii)包含NA或其免疫原性片段之融合蛋白；或(iv)由RNA或DNA疫苗編碼。一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段可為：(i)至少一種重組SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段；(ii)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之融合蛋白；(iii)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之病毒樣顆粒(VLP)；(iv)至少

一種編碼重組SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之多核苷酸；或(v)由至少一種RNA或DNA疫苗編碼。

【0011】 在本發明之流感-COVID-19組合疫苗中，(i)流感HA或其免疫原性片段及流感NA或其免疫原性片段可包含於不活化流感病毒體中；及(ii)一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段可為：(i)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之融合蛋白，或(ii)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之病毒樣顆粒(VLP)。

【0012】 在本發明之流感-COVID-19組合疫苗中：(a)流感HA或其免疫原性片段可包含於減毒活流感病毒體中；(b)流感NA或其免疫原性片段可包含於減毒活流感病毒體中；及/或(c)一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段可包含於活病毒載體中。包含該一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段之該活病毒載體可為：腺病毒載體；麻疹病毒載體；腮腺炎病毒載體；風疹病毒載體；水痘病毒載體；小兒麻痺病毒載體；或黃熱病病毒載體。

【0013】 本發明之流感-COVID-19組合疫苗可進一步包含佐劑。該佐劑通常係細胞(Th1)及/或體液(Th2)免疫反應(較佳兩者)之刺激物。該佐劑可包含鯊烯水包油乳液、鋁鹽或單磷醯脂質A (MPL)。

【0014】 一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原可選自：(a)與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段；(b)包含與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段之融合蛋白；(c)包含與SEQ ID NO: 1具有至少90%一

致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段之VLP；(d)編碼與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段之多核苷酸；或(e)表現與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段之病毒載體、RNA疫苗或DNA質體；其中視需要該SARS-CoV-2棘蛋白之片段包含該SARS-CoV-2棘蛋白之受體結合域(RBD)或由其構成，該RBD較佳與SEQ ID NO: 15具有至少90%一致性。

【0015】 一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原可為包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之融合蛋白，且進一步包含：(a) B型肝炎表面抗原，或其與該B型肝炎表面抗原具有共同抗原交叉反應性之片段；(b) HPV 18 L1蛋白，或其與該HPV 18 L1蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段；(c) E型肝炎P239蛋白，或其與該E型肝炎P239蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段；及/或(e) HPV 16 L1蛋白，或其與該HPV 16 L1蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。該融合蛋白可：(a)由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含與SEQ ID NO: 3、5、6或8、26、27、29、30或32中之任一者具有至少90%一致性之核酸序列或由其構成；及/或(b)包含與SEQ ID NO: 9、10、11、12、28、31或33中之任一者具有至少90%一致性之胺基酸序列或由其構成。

【0016】 一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原可為包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之VLP，其中該VLP包含本發明之融合蛋白或由其構成。

【0017】 流感HA或其免疫原性片段及流感NA或其免疫原性片段可

包含於以下中：(a)季節性流感疫苗，特定言之季節性3價流感疫苗或季節性4價流感疫苗；(b)單價大流行流感疫苗；或(c)通用流感疫苗。

【0018】 本發明亦提供如本文描述之流感-COVID-19組合疫苗，其用於治療及/或預防COVID-19及流感之方法中。

【0019】 本發明進一步提供流感HA或其免疫原性片段；及來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段，及視需要流感NA或其免疫原性片段於製造用於治療及/或預防COVID-19及流感之藥劑中之用途，其中該藥劑係如本文定義之流感-COVID-19組合疫苗。

【0020】 本發明進一步提供一種使個體針對流感及COVID-19兩者免疫之方法，其包括對該個體投與治療有效量之如本文定義之流感-COVID-19組合疫苗。

【0021】 該流感-COVID-19組合疫苗可以10至14個月之間隔投與，視需要其中該流感-COVID-19組合疫苗係以約12個月之間隔投與。

【圖式簡單說明】

【0022】 圖1：冠狀病毒之結構及結構蛋白之功能之示意圖。

【0023】 圖2：使用兔抗CoV-S (1:250，中)及小鼠抗HBSAg-(EAAAK)₃-RBD (1:1000，右)之HBSAg-(EAAAK)₃-CoV-S之SDS頁(左)及西方墨點(western blot)(中及右)。

【0024】 圖3：顯示免疫14天後，藉由ELISA檢定對單獨用HBSAg-(EAAAK)₃-CoV-S蛋白及與流感疫苗VAXIGRIP之組合(以兩種不同佐劑(Alu-280及Addavax)調配)免疫之小鼠血清定量之抗HBSAg-(EAAAK)₃-CoV-S IgG效價之圖。

【0025】 圖4：A 顯示免疫14天後，藉由ELISA檢定對用HBSAg-

(EAAAK)₃-RBD (以兩種不同之佐劑(Alu-280及Addavax)調配)免疫之小鼠血清定量之抗HBSAg-(EAAAK)₃-RBD IgG效價之圖。B 免疫14天後，藉由ELISA檢 定 對 用HBSAg-(EAAAK)₃-CoV-S或HBSAg-(EAAAK)₃-RBD (以兩種不同之佐劑(Alu-280及Addavax)調配)免疫之小鼠血清定量之抗HBSAg-(EAAAK)₃-CoV-S IgG及抗HBSAg-(EAAAK)₃-RBD IgG效價之比較。

【0026】 圖5：顯示免疫42天後，藉由ELISA檢定對單獨用HBSAg-(EAAAK)₃-CoV-S蛋白及與流感疫苗VAXIGRIP之組合(以兩種不同之佐劑(Alu-280及Addavax)調 配)免 疫 之 小 鼠 血 清 定 量 之 抗HBSAg-(EAAAK)₃-CoV-S IgG效價之圖。

【0027】 圖6：A 顯示免疫42天後，藉由ELISA檢定對用HBSAg-(EAAAK)₃-RBD (以兩種不同之佐劑(Alu-280及Addavax)調配)免疫之小鼠血清定量之抗HBSAg-(EAAAK)₃-RBD IgG效價之圖。B 免疫42天後，藉由ELISA檢 定 對 用HBSAg-(EAAAK)₃-CoV-S (單獨或與流感疫苗VAXIGRIP之組合)或HBSAg-(EAAAK)₃-RBD (以兩種不同之佐劑(Alu-280及Addavax)調配)免疫之小鼠血清定量之抗HBSAg-(EAAAK)₃-CoV-S IgG及抗HBSAg-(EAAAK)₃-RBD IgG效價之比較。

【實施方式】

【0028】

定義

除非另有定義，否則本文所使用之所有技術及科學術語具有與本發明所屬領域之一般技術者通常瞭解之含義相同之含義。Singleton等人，
DICTIONARY OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY，

第20版，John Wiley and Sons, New York (1994)，及Hale及Marham，THE HARPER COLLINS DICTIONARY OF BIOLOGY，Harper Perennial, NY (1991)為熟練技術人員提供本發明中所使用之許多術語之通用詞典。術語之含義及範圍應明確；然而，在任何潛在歧義之情況下，本文所提供之定義優先於任何詞典或外部定義。應瞭解，本發明不限於本文描述之特定方法學、方案及試劑等，且因此可變化。

【0029】 本發明不限於本文揭示之例示性方法及材料，及與彼等本文描述者相似或相等之任何方法及材料可用於本發明之實施例之實務或測試中。本文使用之術語僅用於描述特定實施例之目的，且無意限制僅由隨附申請專利範圍定義之本發明之範圍。

【0030】 本發明實施例之描述無意為詳盡的或將本發明限制於本文揭示之精確形式。如彼等熟習相關領域者將認知，儘管本文僅出於闡述之目的描述本發明之特定實施例及實例，但各種等效修飾可在本發明之範圍內。例如，儘管以給定順序呈現方法步驟或功能，但替代實施例可以不同順序執行功能，或可大體上同時執行功能。本文所提供之本發明之教示可視需要應用至其他程序或方法。本文描述之各種實施例可組合以提供其他實施例。本發明之態樣可視需要經修飾以採用上文之參考文獻及申請案之組合物、功能及概念，以提供本發明之又其他實施例。此外，由於生物功能等效性考量，可對蛋白質結構作出一些改變而不影響生物或化學作用之種類或量。鑒於詳細描述，可對本發明作出此等及其他改變。所有此等修飾意欲包括在隨附申請專利範圍之範圍內。

【0031】 數值範圍包括定義該範圍之數字。除非另有指示，否則任何核酸序列均以5'至3'方向從左至右書寫；胺基酸序列分別以胺基至羧基

方向從左至右書寫。

【0032】 本文所提供之標題不限制本發明之各種態樣或實施例。

【0033】 如本文使用，術語「能夠」當與動詞一起使用時包含或意謂相應動詞之動作。例如，「能夠相互作用」亦意謂相互作用，「能夠裂解」亦意謂裂解，「能夠結合」亦意謂結合及「能夠特異性靶向」亦意謂特異性靶向。

【0034】 術語之其他定義可出現在整個說明書中。在更詳細描述例示性實施例之前，應瞭解本發明不限於本文描述之特定實施例，且因此可變化。亦應瞭解，本文所使用之術語僅出於描述特定實施例之目的，且無意限制，因為本發明之範圍將僅由隨附申請專利範圍定義。

【0035】 在提供值範圍之情況下，應瞭解亦明確揭示介於該範圍之上限與下限之間之各中介值(除非內文另有明確規定，否則精確至該下限單位之十分之一)。介於規定範圍中之任何規定值或中介值與該規定範圍中之任何其他規定值或中介值之間的各更小範圍包含於本發明內。此等更小範圍之上限及下限可獨立地包括在該範圍內或排除在該範圍外，且其中一個、零個或兩個限值包括在更小範圍內之各範圍亦包含於本發明內，受限於規定範圍中任何明確排除之限值。在規定範圍包括限值中之一或兩者之情況下，排除彼等包括之限值中之一或兩者之範圍亦包括在本發明中。

【0036】 如本文使用，冠詞「一」及「一個」可為指該冠詞之語法對象中之一者或多於一者(例如至少一者)。此外，除非內文另有要求，否則單數術語應包括複數及複數術語應包括單數。在本申請案中，除非另有說明，否則使用「或」意謂「及/或」。此外，使用術語「包括(including)」及其他術語(諸如「包括(includes)」及「包括(included)」

係非限制性的。

【0037】「約」一般可意謂考慮到量測之性質或精度，所量測的量之可接受誤差度。例示性誤差度係於給定值或值範圍之20百分比(%)內，通常，於10%內，且更通常，於5%內。較佳地，術語「約」在本文中應瞭解為正使用數之數值之加或減($\pm$) 5%，較佳 $\pm$ 4%、 $\pm$ 3%、 $\pm$ 2%、 $\pm$ 1%、 $\pm$ 0.5%、 $\pm$ 0.1%。

【0038】如本文使用，提及組合物、方法及該方法或組合物必不可少之其各別組分所使用之術語「包含(comprising)」或「包含(comprises)」仍對包括未指定元素(無論是否必需)開放。

【0039】術語「由.....構成」係指如本文描述之組合物、方法及其各別組分，其等排除本發明之說明書中未列舉之任何元素。

【0040】如本文使用，術語「基本上由.....構成」係指彼等給定發明所需之元素。該術語允許不實質上影響本發明之基本及新穎或功能特性之元素之存在。

【0041】本文描述為「包含」一或多種特徵之實施例亦可視為「由此等特徵構成」及/或「基本上由此等特徵構成」之相應實施例之揭示內容。

【0042】如本文使用之術語「醫藥上可接受」意謂經聯邦或州政府之監管機構批准，或列入美國藥典、歐洲藥典或其他公認用於動物，且更特定言之用於人類之藥典中。

【0043】濃度、量、體積、百分比及其他數值可以範圍形式呈現於本文中。亦應瞭解，此範圍形式僅出於便利及簡潔使用，且應靈活解釋為不僅包括明確列舉為範圍之限值之數值，但亦包括該範圍內所包含之所有

個別數值或子範圍，就如同明確列舉各數值及子範圍一樣。

【0044】 當結合蛋白質使用時，術語「變體」意謂該蛋白質之肽或肽片段，其含有胺基酸(例如非天然胺基酸)之一或多種類似物，或經取代之鍵聯。

【0045】 當結合蛋白質使用時，術語「衍生物」意謂包含所述蛋白質及另一肽序列之蛋白質。該另一肽序列應較佳不干擾原始蛋白質之基本折疊及因此構象結構。兩種或更多種肽(或片段，或變體)可連接在一起以形成衍生物。或者，肽(或片段，或變體)可連接至無關分子(例如第二無關肽)。衍生物可化學合成，但通常將藉由重組核酸方法製備。可包括另外組分，諸如脂質，及/或多醣，及/或多肽組分。

【0046】 如本文使用，術語「蛋白質」及「多肽」在本文中可互換使用以指定一系列由相鄰殘基之 α -胺基與羧基基團之間的肽鍵彼此連接之胺基酸殘基。術語「蛋白質」及「多肽」係指胺基酸(包括經修飾之胺基酸(例如，磷酸化、糖化、糖基化等)及胺基酸類似物)之聚合物，與其尺寸或功能無關。「蛋白質」及「多肽」通常提及相對較大之多肽使用，而術語「肽」通常提及小多肽使用，但此等術語在此項技術中之用法重疊。當提及基因產物及其片段時，術語「蛋白質」及「多肽」在本文中可互換使用。因此，例示性多肽或蛋白質包括基因產物、天然生成之蛋白質、同源物、異種同源物、同種同源物、片段及前述之其他等效物、變體、片段及類似物。

【0047】 本發明之蛋白質可包括其中來自一種物種之胺基酸殘基於保守或非保守位置取代另一物種中之相應殘基之變體。本發明中可產生並使用本文揭示之蛋白質分子之變體。遵循計算化學在將多元資料分析技術

應用於結構/性質-活性關係中之引導[參見例如Wold等人，Multivariate data analysis in chemistry. Chemometrics-Mathematics and Statistics in Chemistry (B. Kowalski編)；D. Reidel出版公司，Dordrecht, Holland, 1984 (ISBN 90-277-1846-6]，可使用眾所周知的數學技術(諸如統計回歸、模式識別及分類)推導蛋白質之定量活性-性質關係[參見例如Norman等人，Applied Regression Analysis. Wiley-Interscience；第3版(April 1998) ISBN: 0471170828；Kandel、Abraham等人，Computer-Assisted Reasoning in Cluster Analysis. Prentice Hall PTR, (May 11, 1995), ISBN: 0133418847；Krzanowski、Wojtek，Principles of Multivariate Analysis: A User's Perspective (Oxford Statistical Science Series, No 22 (Paper)). Oxford University Press；(2000年12月), ISBN: 0198507089；Witten、Ian H.等人，Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques with Java Implementations. Morgan Kaufmann；(October 11, 1999), ISBN:1558605525；Denison David G. T. (編)等人，Bayesian Methods for Nonlinear Classification and Regression (Wiley Series in Probability and Statistics). John Wiley & Sons; (July 2002), ISBN: 0471490369；Ghose、Arup K.等人，Combinatorial Library Design and Evaluation Principles, Software, Tools, and Applications in Drug Discovery. ISBN: 0-8247-0487-8]]。蛋白質之性質可自蛋白質序列、功能及三維結構之經驗及理論模型(例如，分析可能接觸殘基或計算之理化性質)推導，且可個別及組合考慮此等性質。

【0048】 本文使用胺基酸名稱、三字母縮寫或單字母縮寫提及胺基酸。如本文使用，術語「蛋白質」包括蛋白質、多肽及肽。如本文使用，

術語「胺基酸序列」係與術語「多肽」及/或術語「蛋白質」同義。在一些情況下，術語「胺基酸序列」係與術語「肽」同義。術語「蛋白質」及「多肽」在本文中可互換使用。在本發明及隨附申請專利範圍中，可使用胺基酸殘基之習知單字母及三字母密碼。遵從IUPACIUB生化命名聯合委員會(JCBN)定義胺基酸之3字母密碼。亦應瞭解，由於遺傳密碼之簡併性，因此多肽可由多於一種核苷酸序列編碼。

【0049】 非保守位置之胺基酸殘基可經保守或非保守殘基取代。特定言之，審慎考慮保守胺基酸置換。

【0050】 「保守胺基酸取代」係其中胺基酸殘基經具有相似側鏈之胺基酸殘基置換者。此項技術中已定義具有相似側鏈之胺基酸殘基家族，包括鹼性側鏈(例如，離胺酸、精胺酸或組胺酸)、酸性側鏈(例如，天冬胺酸或麩胺酸)、不帶電之極性側鏈(例如，甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸或半胱胺酸)、非極性側鏈(例如，丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸或色胺酸)、 β -分支鏈側鏈(例如，蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸)及芳族側鏈(例如，酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸或組胺酸)。因此，若多肽中之胺基酸經來自相同側鏈家族之另一胺基酸置換，則認為胺基酸取代係保守的。本發明之抗體中包括經保守修飾之變體不排除變體之其他形式，例如多型性變體、種間同源物及對偶基因。

【0051】 「非保守胺基酸取代」包括彼等其中以下者：(i)由具有正電性側鏈之殘基(例如，Arg、His或Lys)取代負電性殘基(例如，Glu或Asp)，或由負電性殘基取代具有正電性側鏈之殘基，(ii)由親水性殘基(例如，Ser或Thr)取代疏水性殘基(例如，Ala、Leu、Ile、Phe或Val)，或由

疏水性殘基取代親水性殘基，(iii)由半胱胺酸或脯胺酸取代任何其他殘基，或由任何其他殘基取代半胱胺酸或脯胺酸，或(iv)由具有巨大疏水性或芳族側鏈之殘基(例如，Val、His、Ile或Trp)取代具有較小側鏈(例如，Ala或Ser)或無側鏈(例如，Gly)之殘基，或由具有較小側鏈或無側鏈之殘基取代具有巨大疏水性或芳族側鏈之殘基。

【0052】 本說明書中對SARS-CoV-2多核苷酸及/或蛋白質之提及包括其片段及變體。

【0053】 如本文使用，術語「片段」在SARS-CoV-2棘蛋白之內文中係指蛋白質之一部分，其可包含全長SARS-CoV-2棘蛋白之一或多個域或部分域。根據本發明之SARS-CoV-2棘蛋白片段通常可為如本文描述之免疫原性片段。SARS-CoV-2棘蛋白之片段通常長度大於200個胺基酸。本發明之SARS-CoV-2棘蛋白片段可包含長度為至少200、至少300、至少400、至少500、至少600、至少700、至少800、至少900、至少1000、至少1100個或更多個胺基酸殘基或由其構成。本發明之片段通常與SARS-CoV-2棘蛋白具有共同抗原交叉反應性(且因此稱為免疫原性片段)。SARS-CoV-2棘蛋白片段可包含以下或由以下構成：(i) SARS-CoV-2棘蛋白之受體結合域(RBD)；(ii) SARS-CoV-2棘蛋白之N末端域(NTD)；(iii) SARS-CoV-2棘蛋白之C末端域(CTD) (諸如CTD1及/或CTD2)，此等CTD亦稱為子域(SD)，其中CTD1亦稱為SD1且CTD2亦稱為SD2；及/或(iv)融合肽(FP)；及/或(v) FPPR域；或其任何組合。特定言之，根據本發明之SARS-CoV-2棘蛋白之片段可包含RBD域或由其構成。以非限制性實例說明之，根據本發明之SARS-CoV-2棘蛋白之片段可由RBD域構成，或可包含RBD域與NTD域之組合。

【0054】 變體SARS-CoV-2棘蛋白保留天然棘蛋白之一或多個構象抗原決定基及激發中和抗體及/或免疫保護反應之產生之能力。本發明之變體SARS-CoV-2棘蛋白多核苷酸編碼此等棘蛋白。以實例說明之，變體與參考序列(例如本發明之SARS-CoV-2多核苷酸及/或蛋白質，特別定義SARS-CoV-2多核苷酸及/或蛋白質之本說明書中呈現之任何SEQ ID NO)可具有至少80%，較佳至少90%，更佳至少95%，且最佳至少97%或至少99%胺基酸序列同源性。因此，變體可包括多核苷酸之一或多種類似物(例如非天然核酸)，或經取代之鍵聯。同樣，以實例說明之，術語片段在關於SARS-CoV-2多核苷酸及/或蛋白質使用時意謂具有參考SARS-CoV-2多核苷酸及/或蛋白質之至少十個，較佳至少十五個，更佳至少二十個核酸殘基之多核苷酸。術語片段亦係關於上文提及之變體。因此，以實例說明之，本發明之SARS-CoV-2多核苷酸及/或蛋白質之片段可包含具有至少10、20或30個核酸之核酸序列，其中該多核苷酸序列與參考SARS-CoV-2多核苷酸及/或蛋白質序列之相應核酸序列(連續)核酸具有至少80%序列同源性。片段及變體之此等定義亦適用於本發明之其他多核苷酸。在肽序列之內文中，術語片段意謂具有參考蛋白之至少十個，較佳至少十五個，更佳至少二十個胺基酸殘基之肽。術語片段亦係關於上文提及之變體。因此，以實例說明之，片段可包含具有至少10、20或30個胺基酸之胺基酸序列，其中該胺基酸序列與參考序列之相應胺基酸序列(連續)胺基酸具有至少80%序列同源性。

【0055】 較佳地，變體係保守取代變體。如本文提及之「變體」係與天然或參考多肽大體上同源，但具有因為一或複數個缺失、插入或取代而不同於天然或參考多肽之胺基酸序列之多肽。編碼多肽之DNA序列包

括當相較於天然或參考DNA序列時，包含核苷酸之一或多個添加、缺失或取代之序列，但該等序列編碼相對於參考蛋白保留相關生物活性(例如，野生型參考蛋白之至少50%)之變體蛋白或其片段。如對於胺基酸序列，熟練技術人員將認知，改變編碼序列中單一胺基酸或小百分比(即5%或更少，例如4%或更少、或3%或更少、或1%或更少)胺基酸之對核酸、肽、多肽或蛋白質序列之個別取代、缺失或添加係「經保守修飾之變體」，其中該改變導致以化學相似之胺基酸取代胺基酸。經審慎考慮，一些變化可潛在改善相關活性，使得變體(保守或不保守)具有超過100%之野生型活性，例如110%、125%、150%、175%、200%、500%、1000%或更大。

【0056】 如本文描述之多肽可包含至少一個肽鍵置換。單個肽鍵或多個肽鍵，例如2個鍵、3個鍵、4個鍵、5個鍵或6個或更多個鍵，或所有肽鍵均可經置換。如本文描述之經分離之肽可包含一種類型之肽鍵置換或多種類型之肽鍵置換，例如2種類型、3種類型、4種類型、5種類型或更多種類型之肽鍵置換。肽鍵置換之非限制性實例包括脲、硫脲、胺甲酸酯、磺醯脲、三氟乙胺或鄰-(胺基烷基)-苯乙酸、對-(胺基烷基)-苯乙酸、間-(胺基烷基)-苯乙酸、硫醯胺、四唑、硼酸酯、烯烴基，及其衍生物。

【0057】 如本文描述之多肽可包含由活生物體產生之多肽及/或蛋白質中通常發現之天然生成之胺基酸，例如Ala (A)、Val (V)、Leu (L)、Ile (I)、Pro (P)、Phe (F)、Trp (W)、Met (M)、Gly (G)、Ser (S)、Thr (T)、Cys (C)、Tyr (Y)、Asn (N)、Gln (Q)、Asp (D)、Glu (E)、Lys (K)、Arg (R)及His (H)。如本文描述之多肽可包含替代胺基酸。替代胺基酸之非限制性實例包括D胺基酸、 β -胺基酸、同型半胱胺酸、磷酸絲胺酸、磷酸蘇

胺酸、磷酸酪胺酸、羥基脯胺酸、 γ -羧基麩胺酸鹽；馬尿酸、八氫吡啶-2-羧酸、抑胃酶胺酸、1,2,3,4,-四氫異喹啉-3-羧酸、青黴胺(3-巰基-D-纈胺酸)、鳥胺酸、瓜胺酸、 α -甲基-丙胺酸、對苯甲醯基苯丙胺酸、對胺基苯丙胺酸、對氟苯丙胺酸、苯基甘胺酸、炔丙基甘胺酸、肌胺酸及第三丁基甘胺酸)、二胺基丁酸、7-羥基-四氫異喹啉羧酸、萘基丙胺酸、聯苯丙胺酸、環己基丙胺酸、胺基-異丁酸、正纈胺酸、正白胺酸、第三白胺酸、四氫異喹啉羧酸、哌啶酸、苯基甘胺酸、高苯丙胺酸、環己基甘胺酸、脫氫白胺酸、2,2-二乙基甘胺酸、1-胺基-1-環戊烷羧酸、1-胺基-1-環己烷羧酸、胺基-苯甲酸、胺基-萘甲酸、 γ -胺基丁酸、二氟苯丙胺酸、六氫菸鹼酸、 α 胺基丁酸、噻吩基-丙胺酸、第三丁基甘胺酸、三氟纈胺酸；六氟白胺酸；氟化類似物；經疊氮化物修飾之胺基酸；經炔烴修飾之胺基酸；經氰基修飾之胺基酸；及其衍生物。

【0058】 多肽可(例如)藉由將一部分添加至組成肽之胺基酸中之一或多者而修飾。如本文描述之多肽可包含一或多個部分分子，例如每個肽對應1或多個部分分子、每個肽對應2個或更多個部分分子、每個肽對應5個或更多個部分分子、每個肽對應10個或更多個部分分子或每個肽對應更多個部分分子。如本文描述之多肽可包含一或多種類型之修飾及/或部分，例如1種類型之修飾、2類型之修飾、3類型之修飾或更多種類型之修飾。修飾及/或部分之非限制性實例包括聚乙二醇化；糖基化；羥乙基澱粉化(HESylation)；ELP化(ELPylation)；脂化；乙醯化；醯胺化；封端修飾；氰基；磷酸化；白蛋白及環化。

【0059】 原始胺基酸序列之改變可藉由熟習此項技術者已知的許多技術中之任一者進行。胺基酸取代可藉由合成在編碼欲改變之胺基酸之核

核苷酸序列中含有密碼子改變之寡核苷酸而引入(例如)於特定位置，欲改變之胺基酸之側翼係由允許連接至原始序列之片段之限制性位點。連接後，所得重構序列編碼具有所需胺基酸插入、取代或缺失之類似物。或者，可使用寡核苷酸定向之定點誘變程序以提供具有根據所需取代、缺失或插入改變之特定密碼子之經改變之核苷酸序列。用於製造此等改變之技術包括彼等由Walder等人，(Gene 42:133, 1986)；Bauer等人，(Gene 37:73, 1985)；Craik (BioTechniques, January 1985, 12-19)；Smith等人，(Genetic Engineering: Principles and Methods, Plenum Press, 1981)；及美國專利第4,518,584及4,737,462號揭示之技術，該等案件係以全文引用之方式併入本文中。如本文描述之多肽可經化學合成且突變可作為化學合成方法之部分併入。

【0060】 如本文使用，術語「多核苷酸」、「核酸」及「核酸序列」係指併入核糖核酸、脫氧核糖核酸或其類似物之單元之任何分子，較佳聚合分子。該核酸可為單股或雙股的。單股核酸可為變性雙股DNA之一個核酸股，或者，該核酸可為非來源於任何雙股DNA之單股核酸。在一項態樣中，該核酸可為DNA。在另一態樣中，該核酸可為RNA。合適之核酸分子係DNA，包括基因體DNA或cDNA。其他合適之核酸分子係RNA，包括mRNA。

【0061】 典型抗體包含至少兩個「輕鏈」(LC)及兩個「重鏈」(HC)。此等抗體之輕鏈及重鏈係由數個域構成之多肽。各重鏈包含重鏈可變區(本文中縮寫為「VH」)及重鏈恆定區(本文中縮寫為「CH」)。該重鏈恆定區包含重鏈恆定域CH1、CH2及CH3 (抗體類別IgA、IgD及IgG)及視需要重鏈恆定域CH4 (抗體類別IgE及IgM)。各輕鏈包含輕鏈可變域

(本文中縮寫為「VL」)及輕鏈恆定域(本文中縮寫為「CL」)。可變區VH及VL可進一步細分為高變區，稱為互補決定區(CDR)，其間散佈更保守之區域，稱為框架區(FR)。各VH及VL由三個CDR及四個FR構成，自胺基末端至羧基末端以下列順序排佈：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈及輕鏈之「恆定域」不直接參與將抗體結合至標靶，但顯示各種效應功能。抗體與其標靶抗原或抗原決定基之間的結合係由互補決定區(CDR)介導。該等CDR係高序列可變性區域，位於抗體重鏈及輕鏈之可變區內，其中其等形成抗原結合位點。該等CDR係抗原特異性之主要決定因子。通常，該抗體重鏈及輕鏈各包含非連續排佈之三個CDR。該等抗體重鏈及輕鏈CDR3區在根據本發明之抗體之結合特異性/親和力中發揮重要作用且因此提供本發明之另一態樣。因此，如本文使用之術語「抗原結合片段」包括抗原結合多肽之任何天然生成或人造構築之構型，該抗原結合多肽包含一、二或三個輕鏈CDR，及/或一、二或三個重鏈CDR，其中該多肽能夠結合至抗原。

【0062】 CDR之序列可藉由參考此項技術中已知的任何編號系統鑑別，例如，Kabat系統(Kabat, E. A.等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)；Chothia系統(Chothia & Lesk, 「Canonical Structures for the Hypervariable Regions of Immunoglobulins」, J. Mol. Biol. 196, 901–917 (1987))或IMGT系統(Lefranc等人，「IMGT Unique Numbering for Immunoglobulin and Cell Receptor Variable Domains and Ig superfamily V-like domains」, Dev. Comp. Immunol. 27, 55–77 (2003))。

【0063】對於本發明中討論之重鏈恆定區胺基酸位置，根據Edelman, G.M.等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 63 (1969) 78-85)中首次描述之EU索引編號。Kabat等人，(1991) (同上)中亦闡述Edelman之EU編號。因此，術語「如Kabat中闡述之EU索引」、「EU索引」、「Kabat之EU索引」或「EU編號」在重鏈之內文中係指基於如Kabat等人，(1991)中闡述之Edelman等人之人類IgG1 EU抗體之殘基編號系統。Kabat等人，(同上)中同樣闡述用於輕鏈恆定區胺基酸序列之編號系統。因此，如本文使用，「根據Kabat編號」係指Kabat等人，(同上)中闡述之Kabat編號系統。

【0064】術語「降低」、「減少(reduced)」、「減少(reduction)」或「抑制」在本文中均用於意謂降低統計顯著量。術語「減少(reduce)」、「減少(reduction)」或「降低」或「抑制」通常意謂如相較於參考水準降低至少10% (例如在缺乏給定治療之情況下)，且可包括(例如)降低至少約10%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約98%、至少約99%或更多。如本文使用，「減少」或「抑制」不包含如相較於參考水準完全抑制或減少。「完全抑制」係如相較於參考水準100%抑制。對於未患給定疾患之個體，降低可較佳下降至如正常範圍內可接受之水準。

【0065】術語「增加(increased)」、「增加(increase)」、「增強」或「活化」在本文中均用於意謂增加統計顯著量。術語「增加(increased)」、「增加(increase)」、「增強」或「活化」可意謂如相較於參考水準增加至少10%，例如如相較於參考水準增加至少約20%、或至少約

30%、或至少約40%、或至少約50%、或至少約60%、或至少約70%、或至少約80%、或至少約90%或高達且包括100%增加或介於10至100%之間的任何增加，或如相較於參考水準至少約2倍、或至少約3倍、或至少約4倍、或至少約5倍或至少約10倍增加、或介於2倍至10倍之間的任何增加或更大。在標誌物或症狀之內文中，「增加」係此水準之統計顯著之增加。

【0066】 如本文使用，「個體」意謂人類或動物。通常，該動物係脊椎動物，諸如靈長類動物、嚙齒類動物、家畜或狩獵動物。靈長類動物包括黑猩猩、食蟹猴、蜘蛛猴及獼猴(例如，恆河猴(Rhesus))。嚙齒類動物包括小鼠、大鼠、土撥鼠、雪貂、兔及倉鼠。家畜及狩獵動物包括奶牛、馬、豬、鹿、北美野牛、水牛、貓科物種(例如，家貓)、犬科物種(例如，狗)、狐狸、狼、鳥類物種(例如，雞)、鵪鶉、鴿及魚(例如，鱒魚、鯰魚及鮭魚)。較佳地，該個體係哺乳動物，例如，靈長類動物(例如，人類)。術語「個體(individual)」、「病患」及「個體(subject)」在本文中可互換使用。

【0067】 較佳地，個體係哺乳動物。該哺乳動物可為人類、非人類靈長類動物、小鼠、大鼠、狗、貓、馬或奶牛，但不限於此等實例。較佳地，個體係人類。個體可為男性或女性，成人或青少年。

【0068】 個體可為先前已經診斷患有或鑑別為罹患或患有需治療之病症或與此病症相關之一或多種併發症，且視需要已經受如本文定義之病症或與該病症相關之一或多種併發症之治療之個體。或者，個體亦可為先前未診斷為患有如本文定義之病症或與該病症相關之一或多種併發症之個體。例如，個體可為顯示病症或與該病症相關之一或多種併發症之一或多

種風險因子之個體或不顯示風險因子之個體。

【0069】 「需治療特定病症之個體」可為患有該病症、診斷為患有該病症或處於發展該病症之風險下之個體。

【0070】 本文提及之特定分子含量包含分子之實際量，諸如該分子之質量、莫耳量、濃度或莫耳濃度。例如，在本發明之內文中，對特定分子含量之提及可為指該分子之濃度。

【0071】 分子含量可在任何適當之生理隔室中測定。較佳之生理隔室包括血漿、血液及/或血清。分子含量可從來自病患之任何適當樣本(例如血漿樣本、血液樣本、血清樣本、組織樣本、支氣管肺泡灌洗(BAL)樣本及/或CSF樣本)測定。可測試之樣本之其他非限制性實例係組織或流體樣本(尿液)及活檢樣本。因此，以非限制性實例說明之，本發明可提及分子在病患之血漿及/或BAL中之含量(例如濃度)。使用本發明之結合成員預處理分子/生物標誌物之含量可互換稱為「基線」。

【0072】 用本發明之疫苗治療後之分子含量可與用該疫苗預治療之病患中之分子含量比較。分子之水準可直接或間接量測，且可使用任何適當之技術測定。合適之標準技術為此項技術中已知，例如西方墨點法(western blotting)及酶聯免疫吸附檢定(ELISA)。

【0073】 如本文使用，術語SARS-CoV-2及2019-nCoV可互換使用以係指導致疾病COVID-19之病毒病原體。對SARS-CoV-2感染之提及係指疾病COVID-19。術語COVID-19疫苗(或對抗COVID-19之疫苗)亦與術語SARS-CoV-2疫苗(或對SARS-CoV-2之疫苗)同義。

【0074】 如本文使用，術語「疫苗」用於係指誘導免疫反應之組合物。例如，該組合物可在投與該組合物之病患中誘導免疫反應。

【0075】 減毒活疫苗包含能夠感染宿主細胞並在其中複製，但已以某種方式修飾使得其等不引起疾病之完整病毒顆粒或病毒體。

【0076】 活載體疫苗包含活病毒載體(其通常係非致病性病毒)，其已經修飾以表現來自欲提高免疫反應之病毒之一或多種抗原。通常，若病患曝露於野生型病毒(即感染疾病)或用減毒活或不活化疫苗接種，則該一或多種抗原係將產生免疫反應之關鍵抗原。該抗原可為蛋白質抗原或其片段、或多醣抗原或其片段。該抗原可經重組表現或表現為結合或融合蛋白。

【0077】 不活化疫苗包含已殺死或去活化(例如藉由熱或化學處理)之完整病毒顆粒或病毒體。不活化病毒體無法感染宿主細胞或在其中複製且不引起疾病。

【0078】 次單元疫苗包含欲提高免疫反應之病毒之一或多種組分。通常，若病患曝露於野生型病毒(即感染疾病)或用減毒活或不活化疫苗接種，則該一或多種組分係將產生免疫反應之關鍵抗原。該組分可為蛋白質抗原或其片段、或多醣抗原或其片段。該組分可經重組表現或表現為結合或融合蛋白。

【0079】 提供本文討論之公開案僅用於其等在本申請案之申請日前揭示。本文中之任何內容均不應解釋為承認此等公開案構成隨附申請專利範圍之先前技術。

【0080】

組合疫苗

當嘗試產生組合疫苗組合物時，常見併發症係稱為組分抑制(亦稱為抗原組合物)之現象。組分抑制描述同時投與兩種或更多種疫苗或疫苗抗

原(通常來自不同病原體)且相較於當分開投與疫苗或疫苗抗原時激發之免疫反應，由一或多種疫苗或疫苗抗原激發之免疫反應受損之情況。該免疫反應可以數種方式受損。例如，相較於當分開投與疫苗或疫苗抗原時引起之免疫反應，由一或多種疫苗或疫苗抗原引起之免疫反應可減少。相較於當分開投與疫苗或疫苗抗原時之血清轉化及/或血清陽性，血清轉化及/或血清陽性亦可減少。關於對抗細菌病原體之疫苗(例如對於百日咳-白喉-破傷風(DTaP)疫苗及b型流感嗜血桿菌(Hib)疫苗)及對抗病毒病原體之疫苗(例如黃熱病疫苗及麻疹-腮腺炎-風疹(MMR)疫苗，亦已觀測到組分抑制之現象。當以相同組合物投與疫苗抗原時，及甚至當同時投與預先存在之有效疫苗組合物時，亦已觀測到組分抑制。組分抑制之風險意謂不可能預測組合疫苗是否臨床有效，或甚至兩種不同之疫苗組合物是否可一起投與。組分抑制之風險在免疫學領域中係眾所周知的，且納入疫苗計劃之考慮因素中，及組分抑制之評估係醫療監管機構之要求。

【0081】發明人已首次證實，可能投與包含流感抗原及來源於SARS-CoV-2之抗原之疫苗並達成對抗流感及SARS-CoV-2兩者之良好免疫原性，即在流感及SARS-CoV-2之情境中不發生組分抑制。

【0082】因此，本發明提供包含以下之流感-COVID-19組合疫苗(combined influenza-COVID-19 vaccine)(在本文中亦可互換稱為流感-COVID-19組合疫苗(combination influenza-COVID-19 vaccine))：(a)流感血球凝集素(HA)或其免疫原性片段；及(b)一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段；其中該等抗原能夠激發對抗流感及COVID-19 (如本文描述)兩者之免疫反應及保護。通常該流感-COVID-19組合疫苗進一步包含流感神經胺糖酸酶(NA)或其免疫原性片段。

【0083】如本文描述，本發明之流感-COVID-19組合疫苗與組分抑制無關，或針對以下具有最小組分抑制：(i)流感HA或其免疫原性片段；(ii)一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(例如SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段；(iii)可選流感NA或其免疫原性片段；或其任何組合。較佳地，本發明之流感-COVID-19組合疫苗與組分抑制無關，或針對以下中之各者具有最小組分抑制：(i)流感HA或其免疫原性片段；(ii)一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(例如SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段；及(iii)可選流感NA或其免疫原性片段。

【0084】如本文使用，術語「與組分抑制無關」意謂對作為本發明之流感-冠狀病毒-19組合疫苗之部分投與之(i)流感HA或其免疫原性片段；(ii)一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(例如SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段；(iii)可選流感NA或其免疫原性片段；或其任何組合之免疫反應基本上激發與當分開投與(i)流感HA或其免疫原性片段；(ii)來源於SARS-CoV-2之抗原(例如SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段；及/或(iii)可選流感NA或其免疫原性片段時達成之免疫反應相同。

【0085】如本文使用，術語「具有最小組分抑制」意謂對作為本發明之流感-冠狀病毒-19組合疫苗之部分投與之(i)流感HA或其免疫原性片段；(ii)一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(例如SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段；(iii)可選流感NA或其免疫原性片段；或其任何組合之免疫反應激發當分開投與(i)流感HA或其免疫原性片段；(ii)一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(例如SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段；及/或(iii)可選流感NA或其免疫原性片段時達成之免疫反應之至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%

或更大。

【0086】 本發明之流感-COVID-19組合疫苗之另一優點在於可增加病患依從性。本發明之流感-COVID-19組合疫苗容許病患接受單一疫苗投與，其將提供對流感及SARS-CoV-2感染兩者之免疫力。減少所需疫苗接種之數量及門診就診次數將增加疫苗接種率及病患依從性。另外，許多國家具有完善之公共衛生程序及每年流感疫苗接種計劃之時間表。本發明之流感-COVID-19組合疫苗容許利用此等現存程序及規程協調對抗SARS-CoV-2感染之大規模疫苗接種，此亦將促進對抗SARS-CoV-2感染之大規模疫苗接種而無需新穎公共衛生計劃或基礎設施。另外，一些證據表明氣候及季節性與COVID-19感染及傳播之潛在相關性。因此，本發明可能容許對抗如本文描述之COVID-19之定期(例如季節性或每年)疫苗接種，並因此減輕季節性感染及傳播。此外，此可潛在地可藉由使用現存公共衛生計劃及程序(特別彼等已針對季節性流感疫苗接種進行者)促進COVID-19疫苗接種達成。

【0087】 流感HA或其免疫原性片段及可選流感NA或其免疫原性片段可各由熟練技術人員使用慣例技能容易選擇。本文描述流感HA (或其免疫原性片段)及流感NA (或其免疫原性片段)之非限制性實例。

【0088】 一或多種SARS-CoV-2抗原或其免疫原性片段可由熟練技術人員使用慣例技能容易選擇。本文描述SARS-CoV-2抗原(或其免疫原性片段)之非限制性實例。通常，一或多種SARS-CoV-2抗原包含至少一種SARS-CoV-2抗原棘蛋白或其免疫原性片段，如本文描述。

【0089】 流感HA或其免疫原性片段及/或可選流感NA或其免疫原性片段可包含於現存流感疫苗組合物中。該流感疫苗組合物可與一或多種

SARS-CoV-2抗原(例如至少一種SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段，或現存COVID-19疫苗組合，以產生根據本發明之流感-COVID-19組合疫苗。

【0090】 一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(例如至少一種SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段可包含於現存COVID-19疫苗組合物中。該COVID-19疫苗組合物可與流感HA或其免疫原性片段及/或可選流感NA或其免疫原性片段，或現存流感疫苗組合，以產生根據本發明之流感-COVID-19組合疫苗。通常當使用活(減毒或載體) COVID-19疫苗時，使用活(減毒或載體)流感疫苗。通常當使用不活化或次單元COVID-19疫苗時，使用不活化或次單元流感疫苗。較佳地，使用次單元(包括如本文描述之融合蛋白及VLP) COVID-19疫苗或組分及使用不活化流感疫苗。

【0091】 因此，包含於本發明之流感-COVID-19組合疫苗中之流感HA或其免疫原性片段可為：(i)包含於不活化流感病毒體中；(ii)重組HA或其免疫原性片段；(iii)包含HA或其免疫原性片段之融合蛋白；或(iv)由RNA或DNA疫苗編碼。本文描述流感HA、其免疫原性片段及包含HA之流感疫苗之非限制性實例。

【0092】 包含於本發明之流感-COVID-19組合疫苗中之(可選)之流感NA或其免疫原性片段可為：(i)包含於不活化流感病毒體中；(ii)重組NA或其免疫原性片段；(iii)包含NA或其免疫原性片段之融合蛋白；或(iv)由RNA或DNA疫苗編碼。本文描述流感NA、其免疫原性片段及包含NA之流感疫苗之非限制性實例。

【0093】 包含於本發明之流感-COVID-19組合疫苗中之一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段較佳係：(i)至少一種重組

SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段；(ii)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之融合蛋白；(iii)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之病毒樣顆粒(VLP)；(iv)至少一種編碼重組SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之多核苷酸；或(v)由RNA或DNA疫苗編碼。本文描述此等SARS-CoV-2抗原(特別SARS-CoV-2棘蛋白及其免疫原性片段)及COVID-19疫苗之非限制性實例。

【0094】 (i)流感HA、其免疫原性片段及包含HA之流感疫苗；(ii)一或多種SARS-CoV-2抗原(特別SARS-CoV-2棘蛋白)及其免疫原性片段及COVID-19疫苗；及視需要(iii)流感NA、其免疫原性片段及包含NA之流感疫苗之任何組合可用於根據本發明之流感-COVID-19組合疫苗中，條件為HA、(可選)之NA及SARS-CoV-2抗原能夠激發對抗流感及COVID-19兩者之免疫反應及保護。

【0095】 本發明之流感-COVID-19組合疫苗之流感組分可包含活(減毒或載體)流感疫苗、不活化流感疫苗或次單元流感疫苗。

【0096】 減毒活流感疫苗之非限制性實例包括：季節性流感疫苗，諸如季節性四價(4價)流感疫苗。以特定非限制性實例說明之，季節性四價流感疫苗(例如2019至2020季節)可包含減毒A型流感H1N1病毒、減毒A型流感H3N2病毒及兩種B型流感病毒(B/科羅拉多/06/2017樣(維多利亞譜系)病毒及B/普吉島/3073/2013樣病毒(山形譜系))。

【0097】 不活化流感疫苗之非限制性實例包括：季節性流感疫苗，諸如季節性三價(3價)流感疫苗及季節性四價(4價)流感疫苗。以特定非限制性實例說明之，季節性三價流感疫苗(例如2019至2020季節)可包含減毒A型流感H1N1病毒、減毒A型流感H3N2病毒及B型流感病毒(B/科羅拉多

/06/2017樣(維多利亞譜系))。以另一特定非限制性實例說明之，季節性四價流感疫苗(例如2019至2020季節)可包含減毒A型流感H1N1病毒、減毒A型流感H3N2病毒及兩種B型流感病毒(B/科羅拉多/06/2017樣(維多利亞譜系)病毒及B/普吉島/3073/2013樣病毒(山形譜系))。

【0098】 可用於本發明之流感-COVID-19組合疫苗中之流感疫苗之其他實例包括單價大流行流感疫苗(經EMA預先批准之當前大流行流感疫苗包括減毒活或不活化疫苗)及通用流感疫苗(正在開發中之實例包括次單元疫苗及包含引發DNA疫苗(priming DNA vaccine)及活載體疫苗之兩階段疫苗)。

【0099】 較佳地，本發明之流感-COVID-19組合疫苗之流感組分係減毒活或不活化流感疫苗。

【0100】 本發明之流感-COVID-19組合疫苗之SARS-CoV-2組分可包含活(減毒或載體) SARS-CoV-2/COVID-19疫苗、不活化SARS-CoV-2/COVID-19疫苗或次單元SARS-CoV-2/COVID-19疫苗。

【0101】 較佳地，本發明之流感-COVID-19組合疫苗之SARS-CoV-2組分係包含SARS-CoV-2棘蛋白或其片段之次單元疫苗、或包含該SARS-CoV-2棘蛋白或其片段之融合蛋白或VLP。

【0102】 特別佳係其中流感組分係活減毒或不活化流感疫苗及SARS-CoV-2組分係包含SARS-CoV-2棘蛋白或其片段之次單元疫苗、或包含該SARS-CoV-2棘蛋白或其片段之融合蛋白或VLP之流感-COVID-19組合疫苗。

【0103】 通常當本發明之流感-COVID-19組合疫苗之流感組分包含活(減毒或載體)流感疫苗時，SARS-CoV-2組分包含活(減毒或載體)

SARS-CoV-2/COVID-19疫苗。

【0104】 通常當本發明之流感-COVID-19組合疫苗之流感組分包含不活化流感疫苗時，SARS-CoV-2組分包含不活化SARS-CoV-2/COVID-19疫苗。或者，當本發明之流感-COVID-19組合疫苗之流感組分包含不活化流感疫苗時，SARS-CoV-2組分包含次單元SARS-CoV-2/COVID-19疫苗，或反之亦然。

【0105】 通常當本發明之流感-COVID-19組合疫苗之流感組分包含次單元流感疫苗時，SARS-CoV-2組分包含次單元SARS-CoV-2/COVID-19疫苗。或者，當本發明之流感-COVID-19組合疫苗之流感組分包含次單元流感疫苗時，SARS-CoV-2組分包含不活化SARS-CoV-2/COVID-19疫苗，或反之亦然。

【0106】 通常當本發明之流感-COVID-19組合疫苗之流感組分包含核酸(DNA或RNA，較佳DNA)流感疫苗時，SARS-CoV-2組分包含核酸(DNA或RNA，較佳DNA) SARS-CoV-2/COVID-19疫苗。

【0107】 本發明提供一種流感-COVID-19組合疫苗，其中流感HA或其免疫原性片段及流感NA或其免疫原性片段包含於不活化流感病毒體中，及一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(例如至少一種SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段係：(i)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之融合蛋白；(ii)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之病毒樣顆粒(VLP)；或不活化SARS-CoV-2病毒體。

【0108】 本發明提供一種流感-COVID-19組合疫苗，其中流感HA或其免疫原性片段及視需要流感NA或其免疫原性片段包含於次單元疫苗中，及一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(例如至少一種SARS-CoV-2棘

蛋白)或其免疫原性片段係：(i)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之融合蛋白；(ii)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之病毒樣顆粒(VLP)；或不活化SARS-CoV-2病毒體。

【0109】 本發明提供一種流感-COVID-19組合疫苗，其中：流感HA或其免疫原性片段包含於減毒活流感病毒體中；流感NA或其免疫原性片段包含於減毒活流感病毒體中；及/或一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段包含於活病毒載體中(即於活載體疫苗中)。包含一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段之活病毒載體可為臨床用於疫苗之任何病毒載體。非限制性實例包括腺病毒載體、麻疹病毒載體、腮腺炎病毒載體、風疹病毒載體、水痘病毒載體、小兒麻痺病毒載體及黃熱病病毒載體。

【0110】

冠狀病毒抗原

冠狀病毒(CoV)在所有RNA病毒中具有最大基因體，通常在27至32 kb之範圍內。該CoV基因體編碼至少四種主要結構蛋白：棘(S)、膜(M)、包膜(E)、核蛋白衣(N)蛋白及其他輔助蛋白，該等蛋白幫助複製過程並促進進入細胞內。圖1概述冠狀病毒之結構及結構蛋白之功能。簡而言之，CoV基因體包裝在由核蛋白衣形成之螺旋蛋白衣內部並由包膜進一步包圍。與病毒包膜相關聯的係至少三種結構蛋白：參與病毒組裝之膜蛋白及包膜蛋白，及介導病毒進入宿主細胞內之棘蛋白。一些冠狀病毒亦編碼包膜相關血球凝集素-酯酶蛋白(HE)。棘蛋白自病毒表面形成大突出物，使冠狀病毒具有冠冕之外觀，名稱「冠狀病毒」有此而來。除介導病毒進入外，棘蛋白係病毒宿主範圍及組織趨性之關鍵決定因子及宿主免疫反應之

主要誘導物。

【0111】 2019-nCoV (正式命名為嚴重急性呼吸系統症候群冠狀病毒2，SARS-CoV-2)係2019年冠狀病毒疾病(COVID-19)之病原體且在人類中具有接觸傳染性。據信SARS-CoV-2起源於動物，鑒於SARS-CoV-2與SARS-CoV (79.5%)及蝙蝠冠狀病毒(96%)之遺傳相似性，蝙蝠係可能之來源。本文中與CoV相關之任何揭示內容亦直接且無限制地適用於SARS-CoV-2。

【0112】 本發明之流感-COVID-19組合疫苗中之一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段可為能夠激發對抗SARS-CoV-2感染之免疫反應及/或保護之任何SARS-CoV-2抗原。較佳地，該另一種抗原係：(i)至少一種重組SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段；(ii)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之融合蛋白；(iii)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之病毒樣顆粒(VLP)；(iv)至少一種編碼重組SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之多核苷酸；或(v)由至少一種RNA或DNA疫苗編碼。

【0113】 本發明之流感-COVID-19組合疫苗之SARS-CoV-2組分可包含至少一種、至少兩種、至少三種、至少四種或更多種SARS-CoV-2抗原。以非限制性實例說明之，各SARS-CoV-2抗原可為不同之棘蛋白抗原，諸如野生型棘蛋白抗原及/或本文描述之變體棘蛋白中之一者。本發明之流感-COVID-19組合疫苗中可包括之SARS-CoV-2抗原之其他非限制性實例包括來自2019-CoV蛋白衣、膜蛋白或包膜蛋白之此等抗原。一或多種SARS-CoV-2抗原中之各者可以以下形式獨立地提供：(i)重組抗原或其免疫原性片段；(ii)融合蛋白或其免疫原性片段；(iii)包含該抗原或其

免疫原性片段之病毒樣顆粒(VLP)；或(iv)編碼該抗原或其免疫原性片段之多核苷酸。本文關於包含SARS-CoV-2棘蛋白抗原之重組、融合蛋白、VLP、多核苷酸及載體之揭示內容同樣適用於可包含於本發明之流感-COVID-19組合疫苗中之其他SARS-CoV-2抗原。

【0114】

棘蛋白

CoV棘蛋白包含三個域：(i)大胞外域；(ii)跨膜域(其單次通過病毒包膜)；及(iii)短細胞內尾。該胞外域由三個受體結合次單元(3 x S1)構成及三聚體柄由三個膜融合次單元(3 x S2)組成。因此，SARS-CoV-2棘蛋白係同源三聚體。在病毒進入期間，S1結合至宿主細胞表面上之受體以進行病毒附著，及S2融合宿主及病毒膜，容許病毒基因體進入宿主細胞內。受體結合及膜融合係冠狀病毒感染週期中之初始及關鍵步驟。不同CoV靶向之受體存在顯著差異。

【0115】 SARS-CoV-2棘蛋白之結構描述(例如)於Cai等人，(Science (2020) 369:1586-1592))中，該案係以全文引用之方式併入本文中。SARS-CoV-2棘蛋白之各S1次單元包含N末端域(NTD)、受體結合域(RBD)、兩個C末端域(CTD)。在與宿主細胞膜融合之前，SARS-CoV-2棘蛋白之S1次單元保護S2次單元。一經結合至ACE2，該SARS-CoV-2棘蛋白以「水手刀」方式重新折疊，形成長中心捲曲螺旋並最終導致膜融合及病毒進入宿主細胞內。

【0116】 發明人先前已顯示，SARS-CoV-2棘蛋白及其免疫原性片段具有作為對抗SARS-CoV-2/COVID-19感染之疫苗之抗原之治療潛力(包括預防潛力)。

【0117】 因此，如本文描述，本發明之流感-COVID-19組合疫苗中所含有之一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原較佳係一或多種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段。通常該一或多種SARS-CoV-2棘蛋白與SEQ ID NO: 1具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。較佳地，一或多種來自SARS-CoV-2之棘蛋白與SEQ ID NO: 1具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。更佳地，一或多種來自SARS-CoV-2之棘蛋白與SEQ ID NO: 1具有至少98%、至少99%或更大一致性，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。一或多種來自SARS-CoV-2之棘蛋白可包含SEQ ID NO: 1或由SEQ ID NO: 1構成，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段(本文中亦稱為免疫原性片段)。

【0118】 根據本發明之SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段通常保留與天然SARS-CoV-2棘蛋白相同之對其受體之結合親和力。在本發明之內文中，此可意謂對SARS-CoV-2棘蛋白受體之結合親和力為天然SARS-CoV-2棘蛋白之結合親和力之至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少99%或更大。較佳地，本發明之SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段對SARS-CoV-2棘蛋白受體之結合親和力為天然SARS-CoV-2棘蛋白之結合親和力之至少90%、至少95%、至少99%或更大。

【0119】 在一些實施例中，本發明之SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段對2019-nCoV棘蛋白受體之結合親和力大於全長蛋白之結合親和力。例如，本發明之SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段可具有天然

SARS-CoV-2棘蛋白之結合親和力之至少100%、至少110%、至少120%或至少150%或更大之結合親和力。

【0120】 在其他實施例中，本發明之SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段對SARS-CoV-2棘蛋白受體之結合親和力可小於天然SARS-CoV-2棘蛋白之結合親和力。例如，本發明之SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段可具有天然SARS-CoV-2棘蛋白之結合親和力之小於80%、小於70%、小於60%、小於50%或更小之結合親和力。

【0121】 由本發明之多核苷酸表現之SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段對其受體之結合親和力可根據解離常數(K_d)定量。 K_d 可使用任何適當之技術測定，但在本發明之內文中，一般較佳為表面電漿子共振 (SPR)。

【0122】 一或多種SARS-CoV-2棘蛋白之免疫原性片段之長度通常大於200個胺基酸。本發明之SARS-CoV-2棘蛋白片段可包含至少200、至少300、至少400、至少500、至少600、至少700、至少800、至少900、至少1000、至少1100個或更多個胺基酸殘基長度或由其構成。本發明之片段與SARS-CoV-2棘蛋白具有共同抗原交叉反應性(且因此稱為免疫原性片段)。

【0123】 根據本發明，一或多種SARS-CoV-2棘蛋白或其片段維持天然(野生型) SARS-CoV-2棘蛋白中存在之一或多個構象抗原決定基。因此，一或多種SARS-CoV-2棘蛋白或其片段能夠產生免疫保護效應。通常該免疫保護效應包括產生特異性結合至SARS-CoV-2棘蛋白或其片段之一或多個構象抗原決定基之中和抗體(nAb)。CoV棘蛋白之構象抗原決定基具有該CoV棘蛋白之三級結構中發現之特定三維結構。該一或多個構象抗

原決定基通常係於該棘蛋白之胞外域內。較佳地，該一或多種SARS-CoV-2棘蛋白或其片段保留天然SARS-CoV-2棘蛋白中存在之所有構象抗原決定基。

【0124】 SARS-CoV-2蛋白之免疫原性片段可包含RBD、NTD、CTD1、CTD2、FP及/或FPPR或其任何組合或由其構成。較佳地，SARS-CoV-2棘蛋白之免疫原性片段包含該SARS-CoV-2棘蛋白之受體結合域(RBD)或由其構成。此RBD負責將SARS-CoV-2結合至宿主細胞並因此促進SARS-CoV-2顆粒進入宿主細胞內。該RBD對應於SEQ ID NO: 1之胺基酸殘基319至529，如本文描述稱為SEQ ID NO: 15。該RBD由對應於SARS-CoV-2病毒之基因體中之位置955至1597之鹼基編碼(基因庫登錄號MN908947，其第3版(MN908947.3)於2020年1月17日寄存)。因此，如本文描述，本發明係關於該SARS-CoV-2棘蛋白之RBD與SEQ ID NO: 15具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性。較佳地，SARS-CoV-2棘蛋白之免疫原性片段包含與SEQ ID NO: 15具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之SARS-CoV-2棘蛋白之RBD或由其構成。更佳地，SARS-CoV-2棘蛋白之免疫原性片段包含與SEQ ID NO: 15具有至少98%、至少99%或更大一致性之SARS-CoV-2棘蛋白之RBD或由其構成。該SARS-CoV-2棘蛋白之RBD可包含SEQ ID NO: 15或由其構成。本文關於該SARS-CoV-2棘蛋白(例如關於多核苷酸、病毒載體、DNA質體、RNA疫苗、病毒樣顆粒(VLP)、融合蛋白、抗體、組合物及醫藥組合物、調配物及治療適應症)之任何及所有揭示內容同樣且無保留地適用於該SARS-CoV-2棘蛋白之RBD。

【0125】 CoV係大包膜之單一正義RNA病毒。RNA病毒之突變率大於DNA病毒，表明存活之適應過程更高效。因此，存在抗原漂移之風險，與針對流感病毒觀測到之抗原漂移類似，其亦將成為SARS-CoV-2之特徵，或大流行一經消退，該SARS-CoV-2即在人群中變得流行。事實上，迄今為止的研究已鑑別SARS-CoV-2之棘蛋白之受體結合域(RBD)內之突變(特別G476S及V483A/G)，及S1/S2位點附近普遍存在之D614G突變(Saha等人，*ChemRxiv*TM <http://doi.org/10.26434/chemrxiv.12320567.v1>)，證據表明可增強SARS-CoV-2病毒體之細胞進入，且亦拓寬宿主細胞趨性。該SARS-CoV-2棘蛋白中報導之其他突變包括S943 (特別S943P)、L5 (特別L5F)、L8 (特別L8F)、V367 (特別V367F)、H49 (特別H49Y)、Y145 (特別Y145H/del)、Q239 (特別Q239K)、A831 (特別A831V)、D839 (特別D839Y/N/E)及P1263 (特別P1263L)，或任何組合(Korber等人，*BioRxiv*TM <https://doi.org/10.1101/2020.04.29.069054>)。

【0126】 因此，本發明有利地容許視需要修飾SARS-CoV-2疫苗抗原，以提供增強之對抗棘蛋白出現突變之毒株之免疫力。以非限制性實例說明之，根據本發明之任何SARS-CoV-2棘蛋白或其片段可於位置(i) D614、(ii) V483、(iii) G476、(iv) K417、(v) E484、(vi) N501、(vii) A570及(viii) P681，或(i)至(viii)之任何組合(包括任何兩個、任何三個、任何四個、任何五個、任何六個、任何七個或所有八個)處經修飾(特別經取代)。或者或另外，該SARS-CoV-2棘蛋白或其片段可包含缺失突變，包括於胺基酸殘基69、70及/或144中之一或多者處之缺失。如本文描述，突變/修飾之位置通常對應於本發明之SEQ ID NO: 1中之胺基酸之編號。

【0127】 於位置D614處之修飾(特別D614G取代)較佳。特定言之，根據本發明之任何SARS-CoV-2棘蛋白或其片段可包含下列取代(i) G476S、(ii) V483A/G、(iii) D614G、(iv) K417N/T、(v) E484K、(vi) N501Y、(vii) A570D及(viii) P681H，或(i)至(viii)之任何組合(包括任何兩個、任何三個、任何四個、任何五個、任何六個、任何七個或所有八個)。

【0128】 本發明亦係關於來自變體SARS-CoV-2之SARS-CoV-2棘蛋白或其片段。特定言之，本發明可關於來自B.1.1.7毒株(亦稱為201/501Y.V1，其係在英國首次偵測到，現稱為 α 變體)；B.1.351毒株(亦稱為20H/501.V2，其係在南非首次偵測到，現稱為 β 變體)、P1毒株(亦稱為20J/501Y.V3，其係在日本及巴西首次偵測到，現稱為 γ 變體)、B.1.427及B.1.429毒株(其係在加利福尼亞首次偵測到，現稱為 ϵ 變體)及/或B.1.617.2毒株(其係在印度首次偵測到，現稱為 δ 變體)之SARS-CoV-2棘蛋白或其片段。根據CDC (SARS-CoV-2變體分類及定義(cdc.gov) (SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions(cdc.gov)))，已發現該 α 變體包含下列突變：69缺失、70缺失、144缺失、(E484K*)、(S494P*)、N501Y、A570D、D614G、P681H、T716I、S982A、D1118H及(K1191N*)。該 α 變體之關鍵突變包含殘基69/70及144Y之缺失，及N501Y、A570D、D614G及P681H取代。根據CDC (SARS-CoV-2變體分類及定義(cdc.gov))，已發現該 β 變體包含下列突變：D80A、D215G、241缺失、242缺失、243缺失、K417N、E484K、N501Y、D614G及A701V。該 β 變體之關鍵突變包含K417N、E484K、N501Y及D614G取代。根據CDC (SARS-CoV-2變體分類及定義(cdc.gov))，已發現

該 γ 變體包含下列突變：L18F、T20N、P26S、D138Y、R190S、K417T、E484K、N501Y、D614G、H655Y、T1027I。該 γ 變體之關鍵突變包含E484K、K417N/T、N501Y及D614G。根據CDC (SARS-CoV-2變體分類及定義(cdc.gov))，已發現該 δ 變體包含下列突變：T19R、(G142D*)、156缺失、157缺失、R158G、L452R、T478K、D614G、P681R及D950N。該 δ 變體之關鍵突變包含L452R、E484Q及T478K。根據CDC (SARS-CoV-2變體分類及定義(cdc.gov))，已發現該 ε 變體包含下列突變：S13I、W152C、L452R、D614G。該 ε 變體之關鍵突變係L452R。

【0129】 除非另有明確規定，否則本文關於組合疫苗、多核苷酸、棘蛋白及其片段、VLP、融合蛋白及DNA/RNA疫苗之所有揭示內容同樣適用於SARS-CoV-2之不同變體及毒株。

【0130】 因此，可安全重複投與之疫苗組合物之開發不僅可增強免疫反應以解決保護性免疫力隨時間喪失之問題(如本文描述及如臨床中觀測到)，亦將有利地容許視需要修飾SARS-CoV-2疫苗抗原以提供增強之對抗棘蛋白出現突變之毒株之免疫力。以非限制性實例說明之，用作一或多種根據本發明之SARS-CoV-2抗原之任何SARS-CoV-2棘蛋白或其片段可於以下位置處經修飾(特別經取代)：(i) 417；(ii) 452；(iii) 478；(iv) 484；(v) 201；(vi) 570；(vii) 614；及/或(viii) 681；或其任何組合。以另一非限制性實例說明之，用作一或多種根據本發明之SARS-CoV-2抗原之任何SARS-CoV-2棘蛋白或其片段可於位置(i) D614、(ii) V483、(iii) G476、(iv) G476及V483、(v) G476及D614、(vi) V483及D614或(vii) G476、V483及D614處經修飾(特別經取代)。位置D614處之修飾(特別

D614G取代)可較佳。位置L452處之修飾(特別L452R取代)可較佳。特定言之，用作一或多種根據本發明之SARS-CoV-2抗原之任何SARS-CoV-2棘蛋白或其片段可包含下列取代：(i) G476S、(ii) V483A/G、(iii) D614G、(iv) G476S及V483A/G、(v) G476S及D614G、(vi) V483A/G及D614G、(vii) G476S、V483A/G及D614G、(viii) L452R及E484Q，且視需要T478K；或(ix) L452R。多種變體SARS-CoV-2棘蛋白(以本文描述之形式中之任一者，特別呈融合蛋白或VLP)可包含於本發明之流感-COVID-19組合疫苗中。

【0131】

多核苷酸

一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段可由一或多種多核苷酸疫苗編碼或表現(術語「編碼」及「表現」在本文中可互換使用)以產生抗原或其免疫原性片段。術語多核苷酸包含DNA及RNA序列兩者。本文中，術語「核酸」、「核酸分子」及「多核苷酸」可互換使用。因此，來源於SARS-CoV-2之抗原(例如SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段可由DNA或RNA疫苗編碼或表現。

【0132】 本發明之流感-COVID-19組合疫苗中之表現一或多種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之一或多種多核苷酸可表現與SEQ ID NO: 1具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。較佳地，該一或多種多核苷酸表現一或多種與SEQ ID NO: 1具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之來自

SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。更佳地，該一或多種多核苷酸表現一或多種與SEQ ID NO: 1具有至少98%、至少99%或更大一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。該一或多種多核苷酸可表現包含SEQ ID NO: 1或由SEQ ID NO: 1構成之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。多種SARS-CoV-2抗原(特別是一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)可由多核苷酸或由多種多核苷酸或其組合表現。作為非限制性實例，該一或多種SARS-CoV-2抗原(特別是一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)可由單一多核苷酸表現，或該等SARS-CoV-2抗原(特別是一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)各可由各別多核苷酸表現。

【0133】 通常該多核苷酸包含編碼與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段，或其如本文描述之任何變體之經分離之多核苷酸。例如，該多核苷酸可編碼該SARS-CoV-2棘蛋白之RBD，較佳其中該RBD與SEQ ID NO: 15具有至少90%一致性。編碼該RBD之例示性多核苷酸顯示於SEQ ID NO: 13，及SEQ ID NO: 14之密碼子最佳化序列中。因此，本發明之多核苷酸可包含與SEQ ID NO: 13具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。較佳地，本發明之多核苷酸可包含與SEQ ID NO: 13具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。更佳地，本發明之多核苷酸可包含與SEQ ID NO: 13具有至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。本發明之多核苷酸可包含SEQ ID NO: 13之核酸

序列或由其構成。

【0134】 本發明亦包含編碼來自SARS-CoV-2之變體棘蛋白(如上文描述)或其與該變體棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段之多核苷酸。該等變體棘蛋白通常與SEQ ID NO: 1或其片段(諸如SEQ ID NO: 15之RBD)具有至少90%一致性。

【0135】 編碼一或多種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之一或多種多核苷酸(例如DNA或RNA疫苗)可經最佳化以用於在病患中之表現。如本文使用之術語「最佳化」係關於針對一或多種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之表現最佳化，且包括密碼子最佳化及/或對多核苷酸之其他修飾(均根據核酸序列及其他修飾)兩者，其等均增加一或多種來自該多核苷酸之SARS-CoV-2棘蛋白於病患內之表現之含量及/或持續時間，或當自DNA或RNA疫苗表現一或多種SARS-CoV-2棘蛋白或其片段時，其等另外提供優點。發明人先前已在英國專利申請案第2002166.3號中描述編碼SARS-CoV-2棘蛋白及片段之最佳化多核苷酸，該案係以全文引用之方式併入本文中。

【0136】 因此，一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段，特別一或多種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段可由一或多種多核苷酸(例如DNA或RNA疫苗)編碼，該等多核苷酸包含與SEQ ID NO: 2、3、4、5、6、7、8、13、14、26、27、29、30或32中之任一者具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列。較佳地，該一或多種多核苷酸包含與SEQ ID NO: 2、3、4、5、6、7、8、13、14、26、27、29、30或32中之任一者具有至少90%、至少95%、至少96%、至少

97%、至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列。更佳地，該一或多種多核苷酸包含與SEQ ID NO: 2、3、4、5、6、7、8、13、14、26、27、29、30或32中之任一者具有至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列。該一或多種多核苷酸可包含SEQ ID NO: 2、3、4、5、6、7、8、13、14、26、27、29、30或32中之任一者之核酸序列。另外，在多核苷酸(例如DNA或RNA疫苗)中可刪除如本文描述之SEQ ID NO: 2、3、4、5、6、7、8、13、14、26、27、29、30或32中之任一者或其任何變體中鑑別之5'選殖位點、3'選殖位點或5'及3'選殖位點。因此，該一或多種多核苷酸(例如DNA或RNA疫苗)可包含SEQ ID NO: 2、3、4、5、6、7、8、13、14、26、27、29、30或32中之任一者，但缺乏SEQ ID NO: 2、3、4、5、6、7、8、13、14、26、27、29、30或32之任一者中鑑別之5'選殖位點、3'選殖位點或5'及3'選殖位點。或者，如本文描述之SEQ ID NO: 2、3、4、5、6、7、8、13、14、26、27、29、30或32中之任一者或其任何變體中鑑別之5'選殖位點、3'選殖位點或5'及3'選殖位點可獨立地經另一適當之選殖位點置換。合適之替代選殖位點為此項技術中熟知。

【0137】 本發明特別係關於來源於SARS-CoV-2之抗原或包含SARS-CoV-2棘蛋白之RBD或由其構成之免疫原性片段。因此，本發明之多核苷酸可包含與SEQ ID NO: 13，或與SEQ ID NO: 14之密碼子最佳化序列具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。較佳地，本發明之多核苷酸可包含與SEQ ID NO: 13，或與SEQ ID NO: 14之密碼子最佳化序列具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。更佳

地，本發明之多核苷酸可包含與SEQ ID NO: 13，或與SEQ ID NO: 14之密碼子最佳化序列具有至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。本發明之多核苷酸可包含SEQ ID NO: 13，或SEQ ID NO: 14之密碼子最佳化序列之核酸序列或由其構成。

【0138】 一或多種根據本發明之多核苷酸(例如DNA或RNA疫苗)通常編碼至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段，其：(a)保留天然SARS-CoV-2棘蛋白中存在之構象抗原決定基；及/或(b)當對病患投與該核酸時，導致產生對棘蛋白或其片段具特異性之中和抗體。

【0139】 一或多種多核苷酸(例如DNA或RNA疫苗)通常表現至少一種來自SARS-CoV-2之棘蛋白或其免疫原性片段，特別至少一種來自如本文描述之SARS-CoV-2之棘蛋白或其免疫原性片段(包括以VLP或融合蛋白之形式)。

【0140】 一或多種根據本發明之多核苷酸(例如DNA或RNA疫苗)可包含於表現構築體中以促進一或多種SARS-CoV-2棘蛋白或其片段之表現。通常，在此表現構築體中，該一或多種多核苷酸係可操作地連接至合適之啟動子。該一或多種多核苷酸可連接至合適之終止子序列。該一或多種多核苷酸可連接至啟動子及終止子兩者。合適之啟動子及終止子序列為此項技術中熟知。

【0141】 一或多種多核苷酸(例如DNA或RNA疫苗)可編碼至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段，其另外包含前導序列，例如以幫助分泌至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段。可使用任何合適之前導序列，包括此項技術中已知的習知前導序列。合適之前導序列包括人類組織纖維蛋白溶酶原活化劑前導序列(tPA)，其例行用於基於病毒及

DNA之疫苗中，及以幫助自哺乳動物細胞分泌蛋白質疫苗。

【0142】 至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段可另外包含N或C末端標識，例如以幫助至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之重組產生及/或純化。可使用任何N或C末端標識，包括此項技術中已知的習知標識。合適之標識序列包括C末端六組胺酸標識及「C標識」(C末端處之四種胺基酸EPEA)，其等常用於此項技術中以幫助自異源性表現系統(例如昆蟲細胞、哺乳動物細胞、細菌或酵母菌)純化。在其他實施例中，本發明之至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段係自異源性表現系統純化而無需使用純化標識。

【0143】 本發明之至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段可包含如本文定義之前導序列及/或標識。

【0144】

病毒載體、DNA質體及RNA疫苗

在本發明之流感-COVID-19組合疫苗中，一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(例如SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段可由一或多種病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗編碼或表現。如本文使用之術語「載體」係指病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗。

【0145】 該一或多種病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗可包含一或多種編碼至少一種來源於如本文描述之SARS-CoV-2之抗原之多核苷酸。較佳地，該一或多種病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗編碼至少一種如本文描述之SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段。多種SARS-CoV-2抗原(特別一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)可由單一病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗表現或由多種病毒載體、

DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗或其組合表現。以非限制性實例說明之，該一或多種SARS-CoV-2抗原(特別一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)可由單一病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗表現，或該等SARS-CoV-2抗原(特別一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)中之各者可由不同之病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗表現。

【0146】本發明之流感-COVID-19組合疫苗中之表現一或多種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之一或多種病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗可表現至少一種與SEQ ID NO: 1具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。較佳地，該一或多種病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗表現至少一種與SEQ ID NO: 1具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。更佳地，該一或多種病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗表現至少一種與SEQ ID NO: 1具有至少98%、至少99%或更大一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。該一或多種病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗可表現至少一種包含SEQ ID NO: 1或由SEQ ID NO: 1構成之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。在一些較佳實施例中，至少一種由本發明之載體表現之來自SARS-CoV-2之棘蛋白或其免疫原性片段係如本文定義之SARS-CoV-2棘蛋白之RBD，較佳其中該RBD與SEQ ID NO: 15具有至少90%一致性。

【0147】 通常該一或多種病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗表現至少一種與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段，或其如本文描述之任何變體。一較佳片段係與SEQ ID NO: 15具有至少90%一致性之RBD。

【0148】 本發明之流感-COVID-19組合疫苗中之表現至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之一或多種病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗可表現如本文定義之至少一種棘蛋白或其免疫原性片段，其進一步包含信號肽。通常該信號肽引導自受關注之宿主細胞(諸如欲治療之病患之細胞)分泌至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其片段。

【0149】 本發明之流感-COVID-19組合疫苗中之表現至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之一或多種病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗可進一步表現一或多種另外抗原或其片段。該棘蛋白或其片段及一或多種另外抗原或其片段可表現為融合蛋白。或者，可使用表現SARS-CoV-2棘蛋白或其片段及一或多種另外抗原或其片段之不同載體。在此等情況下，該等不同之載體可組合使用，較佳同時使用。該一或多種另外抗原可為來自SARS-CoV-2之相同抗原或不同抗原或其片段。更佳地，該一或多種另外抗原係來自SARS-CoV-2之不同抗原，諸如來自2019-CoV蛋白衣、膜蛋白或包膜蛋白之抗原。

【0150】 本發明之流感-COVID-19組合疫苗中之表現至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之一或多種病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗可包含如本文定義之任何一多種多核苷酸或表現構築體，或其任何組合。

【0151】 一或多種載體可為病毒載體。此病毒載體可為腺病毒(人類血清型(諸如AdHu5)、猿猴血清型(諸如ChAd63、ChAdOX1或ChAdOX2)或另一形式)、腺相關病毒(AAV)或痘病毒載體(諸如經修飾之安卡拉牛痘病毒(MVA))或腺相關病毒(AAV)。ChAdOX1及ChAdOX2揭示於WO2012/172277中(該案以全文引用之方式併入本文中)。ChAdOX2係BAC衍生並經E4修飾之基於AdC68之病毒載體。較佳地，該一或多種病毒載體係AAV載體腺病毒。病毒載體之其他非限制性實例包括麻疹病毒載體、腮腺炎病毒載體、風疹病毒載體、水痘病毒載體、小兒麻痺病毒載體及黃熱病病毒載體。

【0152】 病毒載體通常係非複製或複製受損之載體，此意謂該病毒載體無法在正常細胞(例如正常人類細胞)中複製至任何顯著程度，如藉由習知方式量測，例如經由量測DNA合成及/或病毒效價。非複製或複製受損之載體可變得如此天然(即其等已因此自自然分離)或人造(例如藉由活體外接種或藉由基因操作)。一般將存在至少一種其中可使複製受損之病毒載體生長之細胞類型，例如，經修飾之安卡拉牛痘病毒(MVA)可在CEF細胞中生長。以非限制性實例說明之，該載體可選自人類或猿猴腺病毒或痘病毒載體。

【0153】 通常，一或多種病毒載體在人類個體中(通常在哺乳動物個體(諸如人類或其他靈長類動物)中)無法引起顯著感染。

【0154】 一或多種載體可為DNA載體，諸如DNA質體。該一或多種載體可為RNA載體，諸如mRNA載體或自擴增RNA載體。一或多種本發明之DNA及/或RNA載體通常能夠於真核細胞，特別本文描述之任何宿主細胞，或欲治療之病患中表現。

【0155】 通常DNA及/或RNA載體能夠於人類、大腸桿菌或酵母菌細胞中表現。

【0156】 一或多種載體可為噬菌體載體，諸如如Hajitou等人，Cell 2006；125(2)，第385至398頁中描述之AAV/噬菌體雜交載體；該案係以引用之方式併入本文中。

【0157】 本發明之核酸分子及載體可使用此項技術中已知的任何合適之方法製造。因此，該等核酸分子可使用化學合成技術製造。或者，本發明之核酸分子及載體可使用分子生物學技術製造。

【0158】 本發明之載體可在電腦上設計，及然後藉由習知多核苷酸合成技術合成。

【0159】

病毒樣顆粒

在本發明之流感-COVID-19組合疫苗中，一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(例如至少一種SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段可包含於病毒樣顆粒(VLP)中。

【0160】 病毒樣顆粒(VLP)係類似於病毒但不含有病毒核酸且因此係非傳染性之顆粒。病毒樣顆粒通常含有一或多種病毒蛋白衣或包膜蛋白，其等能夠自組裝以形成VLP。VLP已自各種病毒家族之組分產生(Noad及Roy (2003), Trends in Microbiology, 11:438-444；Grgacic等人，(2006), Methods, 40:60-65)。一些VLP已批准作為治療性疫苗，例如Engerix-B (用於B型肝炎)、Cervarix及Gardasil (用於人類乳頭狀瘤病毒)。

【0161】 多種SARS-CoV-2抗原(特別一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)

可包含於VLP或其組合中。以非限制性實例說明之，該一或多種SARS-CoV-2抗原(特別一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)可包含於單一VLP中，或該等SARS-CoV-2抗原(特別一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)中之各者可包含於不同之VLP中。

【0162】 因此，一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(例如至少一種SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段可包含於一或多種VLP中。

【0163】 本發明之流感-COVID-19組合疫苗中之包含至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之一或多種VLP可包含一或多種與SEQ ID NO: 1具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。較佳地，該一或多種VLP包含一或多種與SEQ ID NO: 1具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。更佳地，該一或多種VLP包含一或多種與SEQ ID NO: 1具有至少98%、至少99%或更大一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。該一或多種VLP可包含至少一種包含SEQ ID NO: 1或由SEQ ID NO: 1構成之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。在一些較佳實施例中，包含於本發明之VLP中之SARS-CoV-2棘蛋白之免疫原性片段係如本文定義之SARS-CoV-2棘蛋白之RBD，較佳其中該RBD與SEQ ID NO: 15具有至少90%一致性。

【0164】 通常該一或多種VLP包含至少一種與SEQ ID NO: 1具有至

少90%一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段，或其如本文描述之任何變體。一較佳片段係與SEQ ID NO: 15具有至少90%一致性之RBD。

【0165】 熟練技術人員將瞭解，VLP可經由病毒結構蛋白之個別表現合成，該等病毒結構蛋白然後可自組裝成病毒樣結構。來自不同病毒之結構蛋白衣蛋白之組合可用於產生重組VLP。另外，抗原或其免疫原性片段可融合至VLP之表面。以非限制性實例說明之，本發明之抗原或其免疫原性片段可使用SpyCatcher-SpyTag系統(如由Brune、Biswas、Howarth描述)偶合至VLP。

【0166】 該一或多種VLP可包含一或多種另外蛋白抗原。該一或多種另外抗原可為來自SARS-CoV-2或其片段之相同抗原或不同抗原。更佳地，該一或多種另外抗原係來自SARS-CoV-2之不同抗原，諸如來自SARS-CoV-2蛋白衣、膜蛋白或包膜蛋白之抗原。

【0167】 該一或多種VLP可包含至少一種如本文描述之融合蛋白。該一或多種VLP可包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段與B型肝炎表面抗原(HBSAg)、人類乳頭狀瘤病毒(HPV) 18 L1蛋白、HPV 16 L1蛋白及/或E型肝炎P239(較佳B型肝炎表面抗原)之融合蛋白。

【0168】 因此，該一或多種VLP可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含與SEQ ID NO: 3、5、6或8中之任一者具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。較佳地，該一或多種VLP可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含與SEQ ID NO: 3、5、6或8中之任一者具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一

致性之核酸序列或由其構成。更佳地，該一或多種VLP可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含與SEQ ID NO: 3、5、6或8中之任一者具有至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。該一或多種VLP可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含SEQ ID NO: 3、5、6或8中之任一者之核酸序列或由其構成。

【0169】 本發明之VLP可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含與SEQ ID NO: 26、27、29、30或32中之任一者具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。較佳地，本發明之VLP可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含與SEQ ID NO: 26、27、29、30或32中之任一者具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。更佳地，本發明之VLP可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含與SEQ ID NO: 26、27、29、30或32中之任一者具有至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。本發明之VLP可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含SEQ ID NO: 26、27、29、30或32中之任一者之核酸序列或由其構成。

【0170】 該一或多種VLP可包含與SEQ ID NO: 9、10、11或12中之任一者具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之胺基酸序列或由其構成。較佳地，該VLP可包含與SEQ ID NO: 9、10、11或12中之任一者具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之胺基酸序列或由其構成。更佳地，該一或多種VLP包含與SEQ ID NO: 9、10、11或12中之任一者具有至少98%、至少99%或更大一

致性之胺基酸序列或由其構成。該VLP可包含SEQ ID NO: 9、10、11或12中之任一者之胺基酸序列或由其構成。

【0171】 本發明之VLP可包含與SEQ ID NO: 28、31或33中之任一者具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之胺基酸序列或由其構成。較佳地，本發明之VLP可包含與SEQ ID NO: 28、31或33中之任一者具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之胺基酸序列或由其構成。更佳地，本發明之VLP可包含與SEQ ID NO: 28、31或33中之任一者具有至少98%、至少99%或更大一致性之胺基酸序列或由其構成。本發明之VLP可包含SEQ ID NO: 28、31或33中之任一者之胺基酸序列或由其構成。

【0172】 使用一或多種VLP可增加由SARS-CoV-2棘蛋白或免疫原性片段誘導之免疫保護反應之效用及/或可增加如本文定義之免疫保護反應之持續時間。

【0173】

融合蛋白

在本發明之流感-COVID-19組合疫苗中，一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(例如一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段可包含於融合蛋白中。

【0174】 因此，一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(例如一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段可包含於一或多種融合蛋白中。

【0175】 多種SARS-CoV-2抗原(特別一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)可包含於融合蛋白或其組合中。以非限制性實例說明之，該一或多種

SARS-CoV-2抗原(特別一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)可包含於單一融合蛋白中，或該等SARS-CoV-2抗原(特別一或多種SARS-CoV-2棘蛋白)中之各者可包含於不同之融合蛋白中。

【0176】 本發明之組合流感-COVID-19疫苗中之包含至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之一或多種融合蛋白可包含一或多種與SEQ ID NO: 1具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。較佳地，該一或多種融合蛋白包含一或多種與SEQ ID NO: 1具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。更佳地，該一或多種融合蛋白包含一或多種與SEQ ID NO: 1具有至少98%、至少99%或更大一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。該一或多種融合蛋白可包含至少一種包含SEQ ID NO: 1或由SEQ ID NO: 1構成之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。

【0177】 通常該一或多種融合蛋白包含至少一種與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段，或其如本文描述之任何變體。

【0178】 在一些較佳實施例中，包含於本發明之融合蛋白中之SARS-CoV-2棘蛋白之免疫原性片段係如本文定義之SARS-CoV-2棘蛋白之RBD，較佳其中該RBD與SEQ ID NO: 15具有至少90%一致性。

【0179】 本發明之融合蛋白通常亦包含非SARS-CoV-2域或元件，

通常非SARS-CoV-2蛋白、多肽或肽域或元件。

【0180】 該一或多種融合蛋白可包含至少一種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段及以下中之一或多種：B型肝炎表面抗原(HBSAg)；人類乳頭狀瘤病毒(HPV) 18 L1蛋白；HPV 16 L1蛋白；及/或E型肝炎P239，較佳B型肝炎表面抗原。

【0181】 該一或多種融合蛋白可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含與SEQ ID NO: 3、5、6或8中之任一者具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。較佳地，該一或多種融合蛋白可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含與SEQ ID NO: 3、5、6或8中之任一者具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。更佳地，該一或多種融合蛋白可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含與SEQ ID NO: 3、5、6或8中之任一者具有至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。該一或多種融合蛋白可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含SEQ ID NO: 3、5、6或8中之任一者之核酸序列或由其構成。

【0182】 本發明之融合蛋白可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含與SEQ ID NO: 26、27、29、30或32中之任一者具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。較佳地，本發明之融合蛋白可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含與SEQ ID NO: 26、27、29、30或32中之任一者具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。更佳地，本發明之融合蛋白

可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含與SEQ ID NO: 26、27、29、30或32中之任一者具有至少98%、至少99%或更大一致性之核酸序列或由其構成。本發明之融合蛋白可由多核苷酸編碼，該多核苷酸包含SEQ ID NO: 26、27、29、30或32中之任一者之核酸序列或由其構成。

【0183】 該一或多種融合蛋白可包含與SEQ ID NO: 9、10、11或12中之任一者具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之胺基酸序列或由其構成。較佳地，該一或多種融合蛋白可包含與SEQ ID NO: 9、10、11或12中之任一者具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之胺基酸序列或由其構成。更佳地，該一或多種融合蛋白可包含與SEQ ID NO: 9、10、11或12中之任一者具有至少98%、至少99%或更大一致性之胺基酸序列或由其構成。該一或多種融合蛋白可包含SEQ ID NO: 9、10、11或12中之任一者之胺基酸序列或由其構成。

【0184】 本發明之融合蛋白可包含與SEQ ID NO: 28、31或33中之任一者具有至少70%、至少75%、至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之胺基酸序列之或由其構成。較佳地，本發明之融合蛋白可包含與SEQ ID NO: 28、31或33中之任一者具有至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或更大一致性之胺基酸序列或由其構成。更佳地，本發明之融合蛋白可包含與SEQ ID NO: 28、31或33中之任一者具有至少98%、至少99%或更大一致性之胺基酸序列或由其構成。本發明之融合蛋白可包含SEQ ID NO: 28、31或33中之任一者之胺基酸序列或由其構成。

【0185】 該一或多種融合蛋白可較佳採取VLP之形式。不受理論之束縛，此係因為已知當重組表現時，HPSAg、HPV 18 L1蛋白、HPB 16 L1蛋白及E型肝炎P239蛋白自發形成VLP，且當HPSAg、HPV 18 L1蛋白、HPB 16 L1蛋白及/或E型肝炎P239蛋白以與本發明之SARS-CoV-2棘蛋白(或其免疫原性片段)組合之融合蛋白形式存在時，保留此結構。

【0186】 本發明之融合蛋白可包含連接子(本文中亦可互換稱為連接子肽、間隔子或間隔肽)。連接子可用於連接本發明之融合蛋白之兩個或更多個功能域。通常，在存在連接子之情況下，其用於將融合蛋白之SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段域連接至該融合蛋白之非SARS-CoV-2棘蛋白域。在融合蛋白中使用連接子為此項技術中的慣例，且任何習知連接子蛋白均可用於本發明之融合蛋白中，條件為所得融合蛋白保留該SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之所需功能性質及非2 SARS-CoV-2棘蛋白域之所需功能性質。

【0187】 連接子可為多達約30個胺基酸，諸如約5至30個胺基酸、約5至25個胺基酸、約5至20個胺基酸、約10至20個胺基酸、約5至15個胺基酸或約10至15個胺基酸長度之短肽。在一些實施例中，該連接子係約10、約11、約12、約13、約14、約15、約16、約17、約18、約19或約20個胺基酸長度。

【0188】 在一些實施例中，剛性連接子可用於本發明之融合蛋白中。當必須在融合蛋白之不同域/部分之間保持固定距離並維持其等獨立功能時，習知使用剛性連接子。當融合蛋白域之空間分離對保持該等融合蛋白之穩定性或生物活性而言至關重要時，亦可使用剛性連接子。具有A(EAAAK)_nA (n = 2至5) (SEQ ID NO: 16)序列之經驗剛性連接子顯示 α -

螺旋構象，該構象由 Glu^- - Lys^+ 鹽橋穩定。剛性連接子之非限制性實例係EAAAKEAAAKEAAK (亦稱為 $(\text{EAAAK})_3$ ，SEQ ID NO: 18)，其可由該核酸序列(SEQ ID NO: 17)編碼。剛性連接子可較佳用於本發明之融合蛋白於哺乳動物細胞(諸如HEK 293細胞)中之表現。

【0189】 在一些實施例中，可撓性連接子可用於本發明之融合蛋白中。當連接域需一定程度之移動或相互作用時，習知使用可撓性連接子。可撓性連接子通常包含諸如以下之小胺基酸殘基或由其構成：甘胺酸、蘇胺酸、精胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、丙胺酸、天冬胺酸、脯胺酸、麩胺酸、離胺酸、白胺酸及/或纈胺酸，特別甘胺酸、絲胺酸、丙胺酸、白胺酸及/或纈胺酸。包含甘胺酸、絲胺酸及/或丙胺酸或由其構成之可撓性連接子較佳，其中以甘胺酸及絲胺酸特別佳。因此，最常用之可撓性連接子具有主要由Gly及Ser殘基之延伸(「GS」連接子)構成之序列，其等包含 $(\text{Gly-Gly-Gly-Gly-Ser})_n$ (SEQ ID NO: 19)序列。GS連接子之非限制性實例包括GS5或 $(\text{GGGGS})_1$ (SEQ ID NO: 20)；GS10或 $(\text{GGGGS})_2$ (SEQ ID NO: 21)；GS15或 $(\text{GGGGS})_3$ (SEQ ID NO: 23)；GS20或 $(\text{GGGGS})_4$ (SEQ ID NO: 24)；及GS25或 $(\text{GGGGS})_5$ (SEQ ID NO: 25)。較佳地，可使用GS15，其可由(SEQ ID NO: 22)編碼。可撓性連接子可較佳用於本發明之融合蛋白於細菌細胞(諸如大腸桿菌細胞)中之表現。

【0190】 任何適當之連接子(諸如本文描述之例示性連接子)可與本發明之任何融合蛋白(包含任何SARS-CoV-2棘蛋白或免疫原性片段域及任何非SARS-CoV-2棘蛋白域)一起使用。以非限制性實例說明之，本發明之融合蛋白可包含HBSAg- $(\text{EAAAK})_3$ -RBD (SEQ ID NO: 28)或與其具有至少90%序列一致性之變體，或由HBSAg- $(\text{EAAAK})_3$ -RBD (SEQ ID

NO: 28)或與其具有至少90%序列一致性之變體構成，HBSAg-(EAAAK)₃-RBD可由(SEQ ID NO: 26或27)或與其具有至少90%序列一致性之變體編碼。以另一非限制性實例說明之，本發明之融合蛋白可包含HBSAg-(EAAAK)₃-全長2019-nCoV棘蛋白(SEQ ID NO: 33)或與其具有至少90%序列一致性之變體，或由HBSAg-(EAAAK)₃-全長2019-nCoV棘蛋白(SEQ ID NO: 33)或與其具有至少90%序列一致性之變體構成，HBSAg-(EAAAK)₃-全長2019-nCoV棘蛋白可由SEQ ID NO: 32或與其具有至少90%序列一致性之變體編碼。以另一非限制性實例說明之，本發明之融合蛋白可包含HEV-GS15-RBD (SEQ ID NO: 31)或與其具有至少90%序列一致性之變體，或由HEV-GS15-RBD (SEQ ID NO: 31)或與其具有至少90%序列一致性之變體構成，HEV-GS15-RBD可由(SEQ ID NO: 29或30)或與其具有至少90%序列一致性之變體編碼。

【0191】 融合蛋白可較佳採取VLP之形式。不受理論之束縛，此係因為已知當重組表現時，HBSAg、HPV 18 L1蛋白、HPB 16 L1蛋白及E型肝炎P239蛋白自發形成VLP，且當HBSAg、HPV 18 L1蛋白、HPB 16 L1蛋白及/或E型肝炎P239蛋白以與本發明之SARS-CoV-2棘蛋白(或其免疫原性片段)之組合之融合蛋白形式存在時，保留此結構。

【0192】

流感血球凝集素(HA)及神經胺糖酸酶(NA)抗原

本發明之流感-COVID-19組合疫苗包含流感血球凝集素(HA)或其免疫原性片段。視需要，本發明之流感-COVID-19組合疫苗可進一步包含流感神經胺糖酸酶(NA)或其免疫原性片段。

【0193】 HA之免疫原性片段與衍生其之HA具有共同抗原交叉反應

性。同樣地，NA之免疫原性片段與衍生其之NA具有共同抗原交叉反應性。

【0194】 流感HA或其免疫原性片段(及視需要流感NA或其免疫原性片段)可以任何適當之形式存在於流感-COVID-19組合疫苗中。

【0195】 流感HA或其免疫原性片段及/或流感NA或其免疫原性片段將通常自流感病毒體製備，但作為一替代，此等抗原可以其他形式提供，諸如多核苷酸、病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗、VLP及融合蛋白。

【0196】 本文有關多核苷酸、病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗、VLP及融合蛋白之一般揭示內容亦適用於如本文描述之流感HA或其免疫原性片段及流感NA或其免疫原性片段。在來源於SARS-Cov-2之抗原(例如SARS-CoV-2棘蛋白)之內文中，本文有關多核苷酸、病毒載體、DNA載體(或DNA質體)或RNA疫苗、VLP及融合蛋白之任何一般揭示內容同樣且無限制地適用於如本文描述之流感HA或其免疫原性片段及流感NA或其免疫原性片段。

【0197】 如本文描述，(a)流感HA或其免疫原性片段可(i)包含於不活化流感病毒體中；(ii)重組HA或其免疫原性片段；(iii)包含HA或其免疫原性片段之融合蛋白；或(iv)由RNA或DNA疫苗編碼。

【0198】 如本文描述，(a)流感NA或其免疫原性片段可(i)包含於不活化流感病毒體中；(ii)重組NA或其免疫原性片段；(iii)包含NA或其免疫原性片段之融合蛋白；或(iv)由RNA或DNA疫苗編碼。

【0199】 流感HA或其免疫原性片段及/或流感NA或其免疫原性片段可採取現存流感疫苗之形式。該流感HA或其免疫原性片段及/或該流感

NA或其免疫原性片段可採取活(減毒或載體)疫苗、不活化疫苗或次單元疫苗之形式。不活化流感疫苗包括不活化完整病毒體疫苗及不活化分裂病毒體疫苗兩者，較佳為完整病毒體不活化疫苗。分裂病毒體係藉由用清潔劑(例如乙醚、聚山梨酯80、脫氧膽酸鹽、磷酸三正丁酯、Triton X-100、Triton N101、溴化鯨蠟基三甲基銨、Tergitol NP9等)處理病毒體以產生子病毒體製劑而獲得。分裂流感病毒之方法為此項技術中熟知。

【0200】 不活化疫苗可藉由任何適當之方式產生。用於去活化流感病毒體之習知方式包括用有效量之下列藥劑中之一或多者處理：清潔劑、甲醛、福爾馬林、 β -丙內酯或UV光。用於去活化之另外化學方式包括用亞甲藍、補骨脂素、羧基富勒烯(C60)或其任何組合處理。病毒去活化其他方法為此項技術中已知，諸如，例如二乙胺、乙醯乙亞胺或 γ 照射。

【0201】 本發明之流感-COVID-19組合疫苗可包含任何流感疫苗或使用其產生，包括任何市售流感疫苗、通用流感疫苗及/或大流行流感疫苗。

【0202】 通常用於疫苗中之流感病毒株隨季節改變。在當前流感大流行期間，疫苗通常包括兩種A型流感毒株(H1N1及H3N2)及一種B型流感毒株(B/科羅拉多/06/2017樣(維多利亞譜系)病毒)，及對抗季節性流感之三價疫苗(季節性三價流感疫苗)係典型的。對抗季節性流感之四價疫苗(季節性四價流感疫苗)亦係常見用法。當前該等季節性四價流感疫苗包括與季節性三價流感疫苗相同之毒株，及包括另外B型流感毒株(B/普吉島/3073/2013樣病毒(山形譜系))。任何季節性流感疫苗(包括季節性三價及四價流感疫苗)可包含於本發明之流感-COVID-19組合疫苗中或用於產生本發明之流感-COVID-19組合疫苗。在疾病控制及預防中心(CDC) (此處

提 供CDC 2019-2020列 表 :

<https://www.cdc.gov/flu/professionals/acip/summary/summary-recommendations.htm#composition>)及歐洲藥品管理局(EMA)網站上鑑定經監管機構批准之季節性流感疫苗。

【0203】 或者，大流行流感疫苗可包含於本發明之流感-COVID-19組合疫苗中或用於產生本發明之流感-COVID-19組合疫苗。大流行流感疫苗係針對大流行流感毒株產生，該等毒株係疫苗受體及一般人類群體在免疫學上未感染之毒株，諸如H2、H5、H7或H9子類型毒株(特定言之A型流感病毒之毒株)。大流行流感病毒株通常出現在非人類物種中，然後跨越物種屏障至人類。最近潛在大流行流感毒株之實例係基因型4 (G4)歐亞禽樣(EA) H1N1豬流感毒株。本發明之流感-COVID-19組合疫苗可包含關於此等跨物種大流行毒株(諸如G4 EA H1N1)之流感組分。大流行流感疫苗可為單價或可基於三價疫苗，由大流行毒株補充。單價大流行流感疫苗可較佳。

【0204】 通用流感疫苗可包含於本發明之流感-COVID-19組合疫苗中或用於產生本發明之流感-COVID-19組合疫苗。處於開發中之通用流感疫苗之實例包括次單元疫苗及包含引發DNA疫苗及活載體疫苗之兩階段疫苗。

【0205】 取決於季節及疫苗中所包括之HA及/或NA之性質，本發明之流感-COVID-19組合疫苗之流感組分可保護對抗A型流感病毒血球凝集素子類型H1、H2、H3、H4、H5、H6、H7、H8、H9、H10、H11、H12、H13、H14、H15或H16中之一或多者。本發明可保護對抗A型流感病毒NA子類型N1、N2、N3、N4、N5、N6、N7、N8或N9中之一或多者。

者。

【0206】 本發明之流感-COVID-19組合疫苗之流感組分可包括來自一或多種(例如1、2、3、4或更多種)流感毒株(包括A型流感病毒及/或B型流感病毒)之HA及/或NA (或其免疫原性片段)。

【0207】 用作形成流感-COVID-19組合疫苗之流感組分之流感HA及/或NA或流感疫苗之來源之病毒可在雞蛋上或在細胞培養物上生長。流感病毒生長之當前標準方法使用無特異性病原體(SPF)胚化雞蛋，其中病毒自雞蛋內容物(尿囊液)純化。然而，最近，病毒已在動物細胞培養物中生長，且出於速度及病患過敏之原因，此生長方法較佳。若使用基於雞蛋之病毒生長，則可將一或多種胺基酸連同病毒一起引入雞蛋之尿囊液內。當使用細胞培養物時，病毒生長受質將通常係哺乳動物來源之細胞系。合適之哺乳動物來源細胞包括(但不限於)倉鼠、牛、靈長類動物(包括人類及猴)及狗細胞。可使用各種細胞類型，諸如腎細胞、纖維母細胞、視網膜細胞、肺細胞等。合適之細胞系包括(但不限於)：MDCK；CHO；293T；BHK；Vero；MRC-5；PER.C6；WI-38等。用於生長流感病毒之較佳哺乳動物細胞系包括：可(例如)自美國典型細胞培養(ATCC)收藏以CCL-34獲得之來源於麥丁那美犬腎之MDCK細胞。亦可使用MDCK細胞系之衍生物。

【0208】 當病毒已在哺乳動物細胞系上生長時，該組合物將有利地不含卵蛋白質(例如卵清蛋白及卵類黏蛋白)及雞DNA，藉此降低致敏性。

【0209】

組合物及治療適應症

如本文描述，發明人已證實，包含SARS-CoV-2抗原(特別SARS-

CoV-2棘蛋白)之疫苗組合物可與流感病毒疫苗成功組合，以產生對 SARS-CoV-2及流感兩者之穩健抗體反應。因此，本發明已意外證實，可產生流感-COVID-19組合疫苗及無生產組合疫苗產品中常見之疫苗組分抑制之預期問題。

【0210】 因此，本發明提供如本文描述之流感-COVID-19組合疫苗。本發明提供包含以下之組合物：(i)流感HA抗原或其免疫原性片段；(ii)一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(特別至少一種SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段；及視需要(iii)流感NA抗原或其免疫原性片段；其中該組合物能夠誘導對抗SARS-CoV-2 (特別針對SARS-CoV-2棘蛋白)及流感(特別流感HA及視需要NA)之免疫反應。本發明亦提供此組合物作為疫苗之用途。

【0211】 本發明亦提供包含以下之疫苗組合物：(i)流感HA抗原或其免疫原性片段；(iii)一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原(特別至少一種SARS-CoV-2棘蛋白)或其免疫原性片段；及視需要(iii)流感NA抗原或其免疫原性片段。該疫苗組合物可視需要包含醫藥上可接受之賦形劑、稀釋劑、載劑、推進劑、鹽及/或添加劑。

【0212】 如本文描述，疫苗組合物可包含至少兩種來源於根據本發明之SARS-CoV-2或其免疫原性片段之不同抗原，及/或至少兩種編碼至少兩種來源於SARS-CoV-2或免疫原性片段之不同抗原之不同多核苷酸分子。以非限制性實例說明之，該疫苗組合物可包含編碼SARS-CoV-2棘蛋白之多核苷酸及編碼SARS-CoV-2膜蛋白之多核苷酸。

【0213】 如本文描述，疫苗組合物可包含至少兩種來源於根據本發明之流感或其免疫原性片段之不同抗原，及/或至少兩種編碼至少兩種來

源於流感或免疫原性片段之不同抗原之不同多核苷酸分子。通常該疫苗組合物包含流感HA抗原或其免疫原性片段及視需要流感NA抗原或其免疫原性片段。由於本發明之流感-COVID-19組合疫苗之流感組分通常由包含完整或分裂流感病毒體之活(減毒或載體)或不活化流感疫苗提供，因此亦可包括其他流感抗原。

【0214】 本發明亦提供使用本發明之流感-COVID-19組合疫苗或組合物(如上文描述)在病患中刺激或誘導免疫反應之方法。本發明之疫苗及組合物通常刺激或誘導對抗流感及COVID-19兩者之免疫反應及/或保護。

【0215】 在個體中刺激或誘導免疫反應之該方法可包括對個體投與本發明之流感-COVID-19組合疫苗或組合物(如上文描述)。

【0216】 在治療用途及方法之內文中，「個體」係將自刺激或誘導對抗SARS-CoV-2及流感之免疫保護反應獲益之任何動物個體。典型動物個體係哺乳動物，諸如靈長類動物(例如，人類)。

【0217】 因此，本發明提供一種用於治療或預防SARS-CoV-2感染(COVID-19)及流感感染之方法。該方法通常包括向有需要個體投與本發明之流感-COVID-19組合疫苗或組合物。

【0218】 本發明亦提供本發明之流感-COVID-19組合疫苗或組合物，其用於預防或治療SARS-CoV-2感染。

【0219】 本發明亦提供(i)表現一或多種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之一或多種多核苷酸、表現構築體、病毒載體、DNA質體或RNA疫苗、或一或多種SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段、本發明之一或多種SARS-CoV-2疫苗組合物；及(ii)流感HA或其免疫原性片段(及視需要流感NA或其免疫原性片段)，較佳包含於如本文描述之流感疫苗中，

於製造用於預防或治療SARS-CoV-2感染及流感感染之藥劑中之用途。

【0220】如本文使用，術語「治療(treatment)」或「治療(treating)」包含治療性或預防/預防性措施，且包括SARS-CoV-2感染及流感感染之感染後療法及改善。術語「療法」及「治療性」包含預防性療法。

【0221】如本文使用，術語「預防」包括預防由SARS-CoV-2及流感開始之感染及/或降低由SARS-CoV-2及流感感染之嚴重程度或強度。術語「預防」包括誘導或提供對抗由SARS-CoV-2引起之感染及流感感染之保護性免疫力。對由SARS-CoV-2引起之感染及流感感染之免疫力可使用任何適當之技術(其等實例為此項技術中已知)定量。

【0222】本發明之較佳組合物滿足效用之CPMP標準中之1、2或3者。在成人(18至60歲)中，此等標準係：(1) $\geq 70\%$ 血清保護；(2) $\geq 40\%$ 血清轉化；及/或(3) ≥ 2.5 倍之GMT增加。在老年人(>60 歲)中，此等標準係：(1) $\geq 60\%$ 血清保護；(2) $\geq 30\%$ 血清轉化；及/或(3) ≥ 2 倍之GMT增加。

【0223】此等標準係基於具有至少50個病患之開放標籤研究。

【0224】可對已患有SARS-CoV-2感染及/或流感感染、與由SARS-CoV-2引起之感染及/或流感感染相關聯之病症或症狀之個體(通常哺乳動物個體，諸如人類或其他靈長類動物)投與如本文定義之本發明之流感-COVID-19組合疫苗或組合物，以治療或預防由SARS-CoV-2及或流感引起之感染。例如，該個體可疑似已與SARS-CoV-2或流感接觸，或已知與SARS-CoV-2或流感接觸，但尚未顯示曝露之症狀。

【0225】當對已患有SARS-CoV-2感染及/或流感感染，或顯示與

SARS-CoV-2感染及/或流感感染相關聯之症狀之個體(例如哺乳動物，諸如人類或其他靈長類動物)投與時，如本文定義之本發明之流感-COVID-19組合疫苗或組合物可治癒、延遲、降低一或多種症狀之嚴重程度或減輕一或多種症狀，及/或延長個體之存活使其超過在缺乏此治療之情況下預期之存活。

【0226】 或者，可對最終可感染SARS-CoV-2及/或流感之個體(例如哺乳動物諸如人類或其他靈長類動物)投與如本文定義之本發明之流感-COVID-19組合疫苗或組合物，以預防、治癒、延遲、降低該SARS-CoV-2感染及/或流感之一或多種症狀之嚴重程度，或減輕該SARS-CoV-2感染及/或流感之一或多種症狀，或以延長個體之存活使其超過在缺乏此治療之情況下預期之存活，或幫助防止該個體傳播SARS-CoV-2感染及/或流感感染。

【0227】 本發明之治療及預防療法適用於各種不同年齡之不同個體。在人類之情境中，該等療法適用於兒童(例如嬰兒、5歲以下之兒童、較大兒童或青少年)及成人。在其他動物個體(例如哺乳動物，諸如靈長類動物)之情境中，該等療法適用於不成熟個體及成熟/成年個體。如本文使用，術語「預防」包括預防SARS-CoV-2感染及/或流感感染之開始；及/或降低SARS-CoV-2感染及/或流感感染之嚴重程度或強度。術語「預防」包括誘導或提供對抗SARS-CoV-2感染及/或流感感染之保護性免疫力。對SARS-CoV-2感染及/或流感感染之免疫力可使用任何適當之技術(其等實例為此項技術中已知)定量。

【0228】 如本文使用，「疫苗」係當對動物個體諸如哺乳動物(例如人類或其他靈長類動物)投與時，刺激對抗SARS-CoV-2感染及/或流感感

染之保護性免疫反應之調配物。該免疫反應可為由體液及/或細胞介導之免疫反應。可使用本發明之疫苗(例如)以保護個體免受SARS-CoV-2感染及/或流感感染之影響。

【0229】 如本文描述，迄今為止可獲得之證據指示，SARS-CoV-2感染後之免疫力可為相對短暫的。因此，本發明提供藉由定期重複投與COVID-19/SARS-CoV-2疫苗(特定言之本發明之流感-COVID-19組合疫苗)增加對SARS-CoV-2感染之免疫力之方法。此重複投與可使用或整合至季節性流感疫苗接種之現存公共衛生計劃/時間表內。

【0230】 因此，本發明提供本發明之流感-COVID-19組合疫苗，其用於治療及/或預防COVID-19及流感，其中該組合疫苗係用於以約六個月、約七個月、約八個月、約九個月、約十個月、約11個月、約12個月、約13個月、約14個月或約15個月之間隔投與。較佳地，該組合疫苗係用於以約11個月、約12個月、約13個月，最佳約12個月之間隔投與。本發明亦提供一種使個體針對流感及COVID-19兩者免疫之方法，其包括以此等相同間隔對該個體投與治療有效量之本發明之流感-COVID-19組合疫苗。本發明亦提供流感HA或其免疫原性片段；來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段，及視需要流感NA或其免疫原性片段，於製造用於治療及/或預防COVID-19及流感之藥劑中之用途，其中該藥劑係用於以此等相同間隔投與。

【0231】 組合疫苗可以如本文描述之間隔投與至少兩次、至少五次、至少十次、至少15次、至少20次或更多次。

【0232】 組合疫苗可以如本文描述之間隔投與至少兩年、至少五年、至少十年或以上、長達病患之一生之持續時間。

【0233】**醫藥組合物及調配物**

術語「疫苗」在本文中可與術語「治療性/預防性組合物」、「調配物」或「藥劑」互換使用。

【0234】 除醫藥上可接受之載劑外，本發明之疫苗(如上文定義)可組合或投與。或者或另外，本發明之疫苗可與鹽、賦形劑、稀釋劑、佐劑、免疫調節劑及/或抗菌化合物中之一或多者進一步組合。

【0235】 醫藥上可接受之鹽包括與無機酸(諸如，例如，鹽酸或磷酸)，或與有機酸(諸如乙酸、草酸、酒石酸、馬來酸，及類似物)形成之酸加成鹽。與游離羧基形成之鹽亦可來源於無機鹼(諸如，例如，氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化銨、氫氧化鈣或氫氧化鐵)及有機鹼(諸如異丙胺、三甲胺、2-乙胺基乙醇、組胺酸、普魯卡因，及類似物)。

【0236】 免疫原性組合物、治療性調配物、藥劑及預防性調配物(例如疫苗)之投與係通常藉由習知途徑，例如靜脈內、皮下、腹膜內或經黏膜(特別經鼻)途徑。該投與可藉由非經腸注射，例如，皮下、皮內或肌內注射。

【0237】 因此，本發明之免疫原性組合物、治療性調配物、藥劑及預防性調配物(例如疫苗)係通常製備成可注射劑，呈液體溶液或懸浮液。或者可製備適用於在注射前溶解或懸浮於液體中之固體形式。亦可將製劑乳化，或將肽囊封於脂質體或微膠囊中。

【0238】 活性免疫原性成分(諸如如本文描述之SARS-CoV-2棘蛋白、其片段、編碼該等棘蛋白之核酸、表現載體、病毒載體、DNA質體、RNA疫苗、融合蛋白及疫苗組合物及流感HA及/或NA抗原或流感疫

苗)通常與載劑、稀釋劑、賦形劑或醫藥上可接受且可與該活性成分相容之類似物混合。合適之賦形劑係(例如)水、生理鹽水、葡萄糖、甘油、乙醇，或類似物及其組合。另外，視需要，該疫苗可含有少量輔助物質，諸如潤濕劑或乳化劑、pH緩衝劑及/或增強該疫苗有效性之佐劑。

【0239】 一般而言，載劑、稀釋劑、賦形劑或類似物係醫藥上可接受之載劑。醫藥上可接受之載劑之非限制性實例包括水、生理鹽水及磷酸鹽緩衝鹽水。然而，在一些實施例中，該組合物係呈凍乾形式，在此情況下，該組合物可包括穩定劑(諸如BSA)。在一些實施例中，可需要以防腐劑(諸如硫柳汞或疊氮化鈉)調配該組合物，以促進長期儲存。

【0240】 緩衝劑之實例包括(但不限於)琥珀酸鈉(pH 6.5)及磷酸鹽緩衝鹽水(PBS；pH 6.5及7.5)。

【0241】 適用於其他投與模式之另外調配物包括栓劑，及在一些情況下，經口調配物或適用於呈氣溶膠分配之調配物。對於栓劑，傳統黏合劑及載劑可包括(例如)聚烷二醇或甘油三酯；此等栓劑可自含有在0.5%至10%，較佳1%至2%之範圍內之活性成分之混合物形成。

【0242】 經口調配物包括此等通常採用之賦形劑，例如，醫藥級甘露醇、乳糖、澱粉、硬脂酸鎂、糖精鈉、纖維素、碳酸鎂，及類似物。此等組合物可採取溶液、懸浮液、錠劑、丸劑、膠囊、緩釋調配物或粉末之形式。

【0243】

佐劑

儘管習知流感疫苗不包含佐劑，但本發明之流感-COVID-19組合疫苗可進一步包含佐劑。該佐劑可為細胞(Th1)及/或體液(Th2)免疫反應之

刺激物。

【0244】 可有效之另外佐劑之實例包括(但不限於)：完全弗氏佐劑(CFA)、不完全弗氏佐劑(IFA)、皂甙、皂甙之純化提取物溶離份(諸如Quil A)、皂甙之衍生物(諸如QS-21)、基於皂甙之脂質顆粒(諸如ISCOM/ISCOMATRIX)、大腸桿菌熱不穩定毒素(LT)突變體(諸如LTK63及/或LTK72)、氫氧化鋁、N-乙醯基-胞壁醯基-L-蘇胺醯基-D-異麩醯胺酸(thr-MDP)、N-乙醯基-降-胞壁醯基-L-丙胺醯基-D-異麩醯胺酸(CGP 11637，稱為降-MDP)、N-乙醯基胞壁醯基-L-丙胺醯基-D-異麩醯胺醯基-L-丙胺酸-2-(1'-2'-二棕櫚醯基-sn-甘油-3-羥基磷醯氧基)-乙胺(CGP 19835A，稱為MTP-PE)、及RIBI (其含有自細菌提取之三種組分(單磷醯脂質A、海藻糖二黴菌酸酯及細胞壁骨架(MPL+TDM+CWS))於2%鯊烯/吐溫80乳液中)、由諾華公司開發之MF59調配物，及由GSK Biologicals (Rixensart, Belgium)開發之AS02、AS01、AS03及AS04佐劑調配物。通常存在於本發明之流感-COVID-19組合疫苗中之佐劑可選自鯊烯水包油乳液、鋁鹽及單磷醯脂質A (MPL)。特別佳之佐劑包括Addavax®、5%鯊烯(MF59)、MPL及氫氧化鋁及磷酸鋁凝膠。

【0245】

套組

本發明提供包含本發明之流感-COVID-19組合疫苗，視需要具有使用說明之套組。任何佐劑可與組合疫苗分開包含於套組內或可與組合疫苗組合。套組中之組合疫苗可隨時使用(例如包括佐劑)，或可在遞送時隨時臨時製備(例如以併入佐劑)。此臨時安排容許分開保存佐劑及抗原直至使用時，此在使用水包油乳劑佐劑之情況下特別有用。

【0246】 本發明亦提供包含組合疫苗之SARS-CoV-2組分及該組合疫苗之流感組分之部件套組。該等兩種組分可於該套組內分開。任何佐劑均可單獨包含於該套組內或可與該SARS-CoV-2組分或該流感組分組合。在此等情況下，該等組分可在對病患投與前混合，或該等組分可保持分開，但大體上相同時間或同時對病患投與。

【0247】 本發明亦提供包含組合疫苗之SARS-CoV-2組分及佐劑，較佳鯊烯水包油乳液、鋁鹽或MPL，更佳Addavax®、MF59、MPL或氫氧化鋁及磷酸鋁凝膠之部件套組。視需要該部件套組可包括關於將該SARS-CoV-2組分及佐劑與現存流感疫苗(本文描述其等實例)組合並將該組合流感-COVID-19疫苗作為單一單元投與，或與該流感疫苗大體上相同時間或同時對病患投與該混合SARS-CoV-2及佐劑之說明書。

【0248】 套組中之SARS-CoV-2組分及/或流感組分可隨時使用，或可在遞送時隨時臨時製備。此臨時安排容許分開保存佐劑及SARS-CoV-2及/或流感組分直至使用時，此在使用水包油乳劑佐劑之情況下特別有用。

【0249】 在臨時製備疫苗之情況下，其組分於套組內彼此物理分開，且此分離可以各種方法達成。例如，該等兩種組分可含於兩個獨立容器(諸如小瓶)中。然後可(例如)藉由移除一個小瓶之內容物並將其等添加至另一小瓶，或藉由分別移除兩個小瓶之內容物並將其等混合於第三個容器中，混合該等兩個小瓶之內容物。以非限制性實例說明之，該等套組組件中的一者係含於注射器中及另一者係含於容器(諸如小瓶)中。可使用該注射器(例如具有針頭)以將其內容物添加至第二個容器內以混合，且然後該混合物可抽出至該注射器內。該注射器之混合內容物可然後通常通過新

無菌針對病患投與。將一種組分包裝於注射器中消除對使用獨立注射器用於病患投與之需求。以另一非限制性實例說明之，使疫苗之兩種組分保持在一起但分別在相同注射器(例如雙腔注射器)中。當致動該注射器時(例如在對病患投與期間)，則該等兩個室之內容物混合。此安排避免在使用時需單獨混合步驟。

【0250】 在臨時製備疫苗之情況下(藉由混合組合疫苗與佐劑，或藉由混合SARS-CoV-2組分及流感組分，視需要與佐劑)，其組分將一般呈水性形式。在一些安排中，組分(通常組合疫苗或該疫苗之SARS-CoV-2組分及/或流感組分，而非佐劑組分)係呈乾燥形式(例如呈凍乾形式)，其中其他組分中之一或多者係呈水性形式。該等組分可混合以再活化乾燥組分並產生水性組合物用於對病患投與。

【0251】

序列同源性

可使用各種序列比對方法中之任一者以測定一致性百分比，包括(但不限於)全域方法、局部方法及雜交方法，諸如，例如，分段逼近法。測定一致性百分比之方案係熟習此項技術者之範圍內之例行性程序。全域方法自分子之開始至末端比對序列並藉由將個別殘基對之分數相加並藉由施加間隙罰分確定最佳比對。非限制性方法包括(例如) CLUSTAL W，參見例如Julie D. Thompson等人，CLUSTAL W: Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment Through Sequence Weighting, Position-Specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice, 22 (22) Nucleic Acids Research 4673-4680 (1994)；及迭代優化，參見例如Osamu Gotoh, Significant Improvement in Accuracy of Multiple Protein.

Sequence Alignments by Iterative Refinement as Assessed by Reference to Structural Alignments, 264(4) J. Mol. Biol. 823-838 (1996)。局部方法藉由鑑別一或多種所有輸入序列共用之保守結構組元比對序列。非限制性方法包括(例如)匹配箱(Match-box)，參見例如Eric Depiereux及Ernest Feytmans, Match-Box: A Fundamentally New Algorithm for the Simultaneous Alignment of Several Protein Sequences, 8(5) CABIOS 501-509 (1992)；Gibbs取樣，參見例如C. E. Lawrence等人，Detecting Subtle Sequence Signals: A Gibbs Sampling Strategy for Multiple Alignment, 262 (5131) Science 208-214 (1993)；Align-M，參見例如Ivo Van Walle等人，Align-M - A New Algorithm for Multiple Alignment of Highly Divergent Sequences, 20(9) Bioinformatics: 1428-1435 (2004)。

【0252】因此，藉由習知方法測定序列一致性百分比。參見例如Altschul等人，Bull. Math. Bio. 48: 603-16, 1986及Henikoff及Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915-19, 1992。簡而言之，使用間隙開放罰分10，間隙延伸罰分1及如下文顯示之Henikoff及Henikoff (同上)之「blosum 62」評分矩陣，比對兩個胺基酸序列以最佳化比對分數(胺基酸由標準單字母密碼指示)。

【0253】

用於測定序列一致性之比對分數

BLOSUM62表

【0254】

保守胺基酸取代

鹼性：精胺酸

離胺酸

組胺酸

酸性：麩胺酸

天冬胺酸

極性：麩醯胺酸

天冬醯胺酸

疏水性：白胺酸

異白胺酸

纈胺酸

芳族：苯丙胺酸

色胺酸

酪胺酸

小：甘胺酸

丙胺酸

絲胺酸

蘇胺酸

甲硫胺酸

除20個標準胺基酸外，非標準胺基酸(諸如4-羥基脯胺酸、6-N-甲基離胺酸、2-胺基異丁酸、異纈胺酸及-甲基絲胺酸)可代替本發明之多肽之胺基酸殘基。數量有限之非保守胺基酸、非由遺傳密碼編碼之胺基酸及非

天然胺基酸可代替本發明之SARS-CoV-2抗原中之多肽胺基酸殘基。本發明之多肽亦可包含非天然生成之胺基酸殘基。

【0255】 非天然生成之胺基酸包括(但不限於)反式3-甲基脯胺酸、2,4-甲橋-脯胺酸、順式-4-羥基脯胺酸、反式-4-羥基-脯胺酸、N-甲基甘胺酸、別蘇胺酸、甲基-蘇胺酸、羥乙基半胱胺酸、羥乙基高半胱胺酸、硝基麩醯胺酸、高麩醯胺酸、哌啶酸、第三白胺酸、正纈胺酸、2-氮雜苯丙胺酸、3-氮雜苯丙胺酸、4-氮雜苯丙胺酸及4-氟苯丙胺酸。此項技術中已知用於將非天然生成之胺基酸殘基併入蛋白質內之數種方法。例如，可採用活體外系統，其中使用化學胺基醯化抑制因子tRNA抑制無義突變。用於合成胺基酸及胺基醯化tRNA之方法為此項技術中已知。在包含大腸桿菌S30提取物及市售酶及其他試劑之無細胞系統中進行含有無義突變之質體之轉錄及轉譯。藉由層析術純化蛋白質。參見例如Robertson等人，J. Am. Chem. Soc. 113:2722, 1991；Ellman等人，Methods Enzymol. 202:301, 1991；Chung等人，Science 259:806-9, 1993；及Chung等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 10145-9, 1993)。在第二種方法中，在爪蟾卵母細胞中藉由顯微注射突變之mRNA及化學胺基醯化抑制tRNA進行轉譯(Turcatti等人，J. Biol. Chem. 271:19991-8, 1996)。於第三種方法內，在缺乏欲置換之天然胺基酸(例如，苯丙胺酸)之情況下及在存在所需非天然生成之胺基酸(例如，2-氮雜苯丙胺酸、3-氮雜苯丙胺酸、4-氮雜苯丙胺酸或4-氟苯丙胺酸)之情況下培養大腸桿菌細胞。將該非天然生成之胺基酸併入該多肽內以代替其天然對應體。參見Koide等人，Biochem. 33:7470-6, 1994。藉由活體外化學修飾可將天然生成之胺基酸殘基轉化為非天然生成之種類。化學修飾可與定點誘變組合以進一步擴大取代之範圍

(Wynn及Richards, Protein Sci. 2:395-403, 1993)。

【0256】 數量有限之非保守胺基酸、非由遺傳密碼編碼之胺基酸、非天然生成之胺基酸及非天然胺基酸可代替本發明之多肽之胺基酸殘基。

【0257】 本發明之多肽中之必需胺基酸可根據此項技術中已知的程序鑑別，諸如定點誘變或丙胺酸掃描誘變(Cunningham及Wells, Science 244: 1081-5, 1989)。生物相互作用之位點亦可由結構之物理分析確定，如藉由諸如核磁共振、晶體學、電子繞射或光親和標記之技術，結合推定之接觸位點胺基酸之突變一起確定。參見例如de Vos等人，Science 255:306-12, 1992；Smith等人，J. Mol. Biol. 224:899-904, 1992；Wlodaver等人，FEBS Lett. 309:59-64, 1992。亦可自與本發明之多肽之相關組分(例如易位或蛋白酶組分)之同源性之分析推斷必需胺基酸之一致性。

【0258】 可進行多個胺基酸取代並使用誘變及篩選之已知方法測試，諸如彼等由Reidhaar-Olson及Sauer (Science 241 :53-7, 1988)或Bowie及Sauer (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:2152-6, 1989)揭示者。簡而言之，此等作者揭示用於同時隨機化多肽中之兩個或更多個位置，選擇功能多肽，及然後定序誘變多肽以確定各位置上容許取代之範圍之方法。可使用之其他方法包括噬菌體顯示(例如，Lowman等人，Biochem. 30: 10832-7, 1991；Ladner等人，美國專利第5,223,409號；Huse, WIPO公開案WO 92/06204)及區域定向誘變(Derbyshire等人，Gene 46:145, 1986；Ner等人，DNA 7:127, 1988)。

【0259】 下列實例闡述本發明。

【0260】

實例

實例1：單獨三價商業流感疫苗(Addavax輔助)，及單獨COVID-19

疫苗(HEK細胞中結合產生及Addavax輔助之RBD-HB)與流感-COVID-19組合疫苗(Addavax輔助)之免疫原性之比較

【0261】 製備三種疫苗製劑：

- 1. 商業流感疫苗3 µg/ml (分裂型) Addavax輔助(20 µl/ml)
- 2. COVID-19疫苗(HEK細胞中結合產生之RBD-HB) 3 µg/ml Addavax輔助(20 µl/ml)
- 3. 流感-COVID-19組合疫苗(3 µg各組分/ml) Addavax輔助(20 µl/

【0262】 對三組5隻Balb/c小鼠接種0.5 ml各上文之疫苗(第0天)。在第0天及第14天自小鼠採集血清樣本。

【0263】 藉由ELISA量測對抗SARS-CoV-2棘蛋白(COVID-19抗原)之受體結合域(RBD)及對抗流感病毒之H1N1、H3N2及B抗原之抗體效價。對抗流感抗原之抗體效價顯示於表1中。對抗SARS-CoV-2棘蛋白之抗體效價顯示於表2中。所有疫苗均引起強抗體反應。使用含有佐劑之流感-COVID-19組合疫苗可引起對抗流感及SARS-CoV-2棘蛋白兩者之強抗體反應，且無組分抑制之證據。

表1：對抗流感抗原之抗體效價

疫苗組 (每組5隻Balb/c小鼠)	對抗流感抗原之ELISA抗體效價
PBS對照	0
COVID-19第0天	0
COVID-19第14天	0
流感H1N1第0天	0
流感H1N1第14天	67.1
流感H3N2第0天	0
流感H3N2第14天	43.1
B型流感第0天	0
B型流感第14天	40.5
COVID-19 +流感H1N1第0天	0
COVID-19 +流感H1N1第14天	69.3
COVID-19 +流感H3N2第0天	0
COVID-19 +流感H3N2第14天	50.3
COVID-19 +B型流感第0天	0
COVID-19 +B型流感第14天	39.4

表2：對抗SARS-CoV-2棘蛋白之抗體效價

疫苗組 (每組5隻Balb/c小鼠)	對抗SARS-CoV-2棘蛋白之 ELISA抗體效價
PBS對照	0
COVID-19第0天	0
COVID-19第14天	3.2
流感H1N1第0天	0
流感H1N1第14天	0
流感H3N2第0天	0
流感H3N2第14天	0
B型流感第0天	0
B型流感第14天	0
COVID-19 + 流感H1N1第0天	0
COVID-19 + 流感H1N1第14天	3.5
COVID-19 + 流感H3N2第0天	0
COVID-19 + 流感H3N2第14天	3.6
COVID-19 + B型流感第0天	0
COVID-19 + B型流感第14天	3.4

【0264】

實例2：單獨商業流感疫苗(Vaxigrip)，及單獨COVID-19疫苗(結合至HBSAg之全尺寸棘蛋白)與流感-COVID-19組合疫苗之免疫原性之比較

使HBSAg及全長SARS-CoV-2棘蛋白(具有(EAAAK)₃連接子)之融合蛋白重組表現於HEK細胞中。如圖2中顯示，在兩個獨立實驗中進行重組表現，及混合來自5個純系(實驗1)及4個純系(實驗2)之介質並評估融合蛋白表現。

【0265】 來自5個純系(實驗1)之混合介質命名為HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-02-01 (5x) HBSAg。來自4個純系(實驗2)之混合介質命名為HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-01-01 (4x) HBSAg。

【0266】 藉由布拉德福德(Bradford)檢定測定兩個融合蛋白池之總蛋白含量並在100 ml之總體積中調整至1 mg/ml。

【0267】 Balb/c小鼠用HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-02-01 (5x) HBSAg或HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-01-01 (4x) HBSAg單

獨或與Vaxigrip流感疫苗組合免疫。如下表3中顯示，COVID-19/’流感/組合疫苗係以無佐劑、與Alu-280佐劑或Adda-Vax佐劑投與。

【0268】 使用50 µg/劑量(體積100 µl)進行HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-02-01 (5x)或HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-01-01 (4x)之免疫。使用1.5 µg/劑量(體積50 µl)進行流感疫苗之免疫。在使用任一佐劑下，使用1:1 v/v疫苗:佐劑比(對於佐劑+1疫苗，總計100 µl；或對於佐劑+2疫苗，總計150 µl)。小鼠係在第0天免疫，及在第7、14及28天加強。在第14天獲得血清樣本，及隨後在第42天處死。處死後亦分離免疫化小鼠之脾以用於測試。

【0269】 藉由ELISA量測對抗SARS-CoV-2棘蛋白(COVID-19抗原)之受體結合域(RBD)之抗體效價。如下圖3中顯示，相較於PBS對照組(組10)或單獨流感疫苗(組2)，在所有實驗組(組1、3至9及11)中，在促發免疫(priming immunisation)後14天存在可觀測之抗HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S IgG效價。顯著地，當任一HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S融合蛋白與流感疫苗一起投與時，未觀測到明顯之組分抑制，其支持COVID-19/流感組合疫苗之潛在臨床效用。如圖3亦顯示，使用佐劑(特別是Adda-Vax)進一步增加IgG產生，特別對於HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-02-01 (5x)，及HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-01-01 (4x)與Vaxigrip之組合。

【0270】 使用ELISA定量之抗COVID棘蛋白IgG之效價(單獨或與Vaxigrip組合)與針對僅含有SARS-CoV-2棘蛋白之受體結合域(RBD)之相似融合蛋白HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S產生之IgG比較。單獨HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S之資料顯示於圖4A中，並與圖4B中之HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-02-01 (5x)比較。使用RBD-融合物獲得較高

之效價(圖4B)。在促發免疫後42天再次量測抗體效價。同樣，如在第14天，相較於PBS對照組(組10)或單獨流感疫苗(組2)，在所有實驗組(組1、3至9及11)中，在促發免疫後14天存在抗HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S IgG之可觀測效價。顯著地，當任一HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S融合蛋白與流感疫苗一起投與時，未觀測到明顯之組分抑制，其支持COVID-19/流感組合疫苗之潛在臨床效用。實際上，組3(用HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-02-01 (5x)及Vaxigrip免疫)之抗HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S IgG效價大於組1 (用單獨HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-02-01 (5x)免疫)。

【0271】 表3：HBSAg-(EAAAK)₃-CoV-S、流 感 及HBSAg-(EAAAK)₃-CoV-S/流感免疫

組	動 物N° Balb/c	籠子	疫苗	佐劑	注射體積/途徑
1	5	A/B	HBSAg-(EAAAK) ₃ - CoV-S (HEK) D8-SA01-02-01 (5x)	無	50 µl (i.p.)
2	5	C/D	流感(VAXIGRIP 0.5 ml)	無	50 µl (i.p.)
3	5	E/F	HBSAg-(EAAAK) ₃ -CoV-S (HEK) D8-SA01-02-01 (5x) + 流感(VAXIGRIP 0.5 ml)	無	100 µl (i.p.)
4	5	G/H	HBSAg-(EAAAK) ₃ -CoV-S (HEK) D8-SA01-02-01 (5x)	Alu-280	100 µl (i.p.)
5	5	I/L	HBSAg-(EAAAK) ₃ -CoV-S (HEK) D8-SA01-02-01 (5x)	Adda-Vax	100 µl (i.p.)
6	5	M/N	HBSAg-(EAAAK) ₃ -CoV-S (HEK) D8-SA01-02-01 (5x) + 流感(VAXIGRIP 0.5 ml)	Alu-280	150 µl (i.p.) (50 µl + 50 µl + 50 µl)
7	5	O/P	HBSAg-(EAAAK) ₃ -CoV-S (HEK) D8-SA01-02-01 (5x) + 流感(VAXIGRIP 0.5 ml)	Adda-Vax	150 µl (i.p.) (50 µl + 50 µl + 50 µl)
8	5	Q/R	HBSAg-CoV-S (HEK) D8-SA01-01-01 (4x)	無	50 µl (i.p.)
9	5	S/T	HBSAg-CoV-S (HEK) D8-SA01-01-01 (4x) + 流感(VAXIGRIP 0.5 ml)	無	100 µl (i.p.)
10	5	U/V	PBS	無	50 µl (i.p.)
11	4	Z	HBSAg-CoV-S (HEK) D8-SA01-01-01 (4x) + 流感(VAXIGRIP 0.5 ml)	Adda-Vax	150 µl (i.p.) (50 µl + 50 µl + 50 µl)

【0272】 如圖5亦顯示，使用佐劑(特別Adda-Vax)進一步增加IgG產

生，特別對於單獨BSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-02-01 (5x)，或與Vaxigrip組合。

【0273】 將使用ELISA定量之抗COVID棘蛋白IgG之效價(單獨或與Vaxigrip組合)與對抗僅含有SARS-CoV-2棘蛋白之受體結合域(RBD)之相似融合蛋白BSAg-(EAAAK)₃-Cov-S產生之IgG比較。第42天單獨HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S之資料顯示於圖5A中，並與圖5B中之HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-02-01 (5x)及HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-01-01 (4x)比較。使用RBD融合物(圖5B)獲得最高效價，然而，當用Adda-Vax調配時，用HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S D8-SA01-01-01 (4x)與Vaxigrip之組合維持高效價。

【0274】 此等實驗證實，包含SARS-CoV-2棘蛋白融合物之疫苗組合可與流感病毒疫苗成功組合，而無生產組合疫苗產品中常見之疫苗組分抑制之預期問題。因此，使用該等組合疫苗計劃中和檢定。

【0275】

實例3：比較單獨商業流感疫苗(Vaxigrip)，及單獨COVID-19疫苗(結合至HBSAg之全尺寸棘蛋白)及流感-COVID-19組合疫苗之中和檢定

本發明之SARS-CoV-2融合蛋白、‘流感疫苗及COVID-19-‘流感組合疫苗產生對抗其等各別抗體之中和抗體之能力可使用微量中和檢定基於細胞病變效應(MN-CPE)測試。

【0276】 5隻Balb/c小鼠組接種0.5 ml各上文之疫苗(第0天)。在第0、14及42天自小鼠採集血清樣本。

1. 商業流感疫苗(例如Vaxigrip)
2. COVID-19疫苗(例如HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S)

3. 流感-COVID-19組合疫苗

此等可在有或無佐劑(例如Addavax)之情況下重複。

【0277】 將Vero E6細胞接種於96孔盤內並培養以達成近匯合度(sub-confluency)。

【0278】 使用標準滴定檢定計算SARS-CoV-2之效價，並製備該SARS-CoV-2之十倍連續稀釋(log10)。或者可進行3.16倍連續稀釋(0.5Log10)。

【0279】 將連續稀釋之SARS-CoV-2施覆於96孔盤中之匯合Vero細胞。該盤之一行未經SARS-CoV-2處理作為細胞對照。另外，可使用含有已知SARS-CoV-2特異性中和抗體之樣本作為陽性對照，及可使用人類或動物消耗之樣本作為陰性對照(例如不含IgA/IgM/IgG之人類血清)。

【0280】 在添加SARS-CoV-2後，在37℃，5% CO₂下將盤培養3天(培養時間可取決於SARS-CoV-2毒株及變體而變化)。培養後，在倒置顯微鏡下觀測該等盤並對孔評分為SARS-CoV-2陽性(即觀測到CPE)或SARS-CoV-2陰性(即細胞係活的且無CPE)。

【0281】 倘若已計算50%組織培養感染劑量(TCID₅₀)，則可進行MN-CPE檢定。

【0282】 對於MN-CPE，如先前培養Vero E6細胞並接種於96孔盤中。在56 ± 1℃下將來自接種疫苗之小鼠之血清樣本熱處理30分鐘± 10分鐘。將來自經處理之小鼠之血清樣本連續稀釋，首次稀釋1:10，及然後在盤之列上進行2倍連續稀釋。將所需病毒效價(一個盤用於SARS-CoV-2，一個盤用於流感)添加至該盤之各孔，然後在37 ± 1℃，5 ± 1% CO₂下將該等盤培養1小時。然後將病毒-血清混合物施覆於近匯合預培養之Vero E6

細胞，並在 $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ， $5\% \pm 1 \text{ CO}_2$ 下將該等盤培養3天(培養時間可取決於SARS-CoV-2毒株及變體而變化)。

【0283】 微量中和效價(MNt)係最高樣本稀釋度之倒數，其保護至少50%之細胞免受CPE影響。若未觀測到中和，則假定 $\text{MNt} < 10$ ，其低於偵測之下限。

【0284】 來自經HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S處理之小鼠之血清證實CPE於Vero細胞中之有效中和及抑制。同樣地，經流感疫苗處理之小鼠產生具有對抗流感之中和活性之血清。當用HBSAg-(EAAAK)₃-Cov-S及流感疫苗之組合處理小鼠時，達成對抗SARS-CoV-2及流感兩者之中和，證實當使用SARS-CoV-2及流感組合疫苗時，不存在組分抑制。

【0285】 使用SARS-CoV-2 RBD片段疫苗及流感疫苗之組合重複實驗。同樣，未觀測到組分抑制。

【0293】 5' SacI單選殖位點加單底線

【0294】 HEV (p239片段)序列以大寫字母顯示

【0295】 SARS-CoV-2棘蛋白編碼序列以小寫字母顯示

【0296】 3' NotI單選殖位點加虛底線

【0297】 SEQ ID NO: 4-SARS-CoV-2棘蛋白核酸序列-經最佳化以用於在巴斯德克馬格特勒酵母(*Komagataella pastoris*)中之表現且含有BstBI及NotI單選殖位點。

TTCGAAacga **tg**ttcgtggt ctgggtcctg ttgccattgg tttcttccca gtgtgttaac
ctgaccacta gaactcaatt gcctccagcc tacaccaatt ccttcaccag aggtgtttac
taccagaca aggtgttcag atcttcogtc ttgcaactcca ctcaggactt gttcttgcca
ttctttctcca acgttacctg gttccacgct attcacgttt ccggaactaa cggtactaag
agattcgaca acccagtcct gccattcaac gatgggtgtct acttcgcttc taccgagaag
tccaacatca tcagagggtg gatcttcoggt actaccctgg actctaagac tcagtccttg
ctgatcggtta acaacgccac caacgttgtc atcaagggtt gcgagttcca gttctgcaac

gacccattct tgggtgtgta ctaccacaag aacaacaagt cttggatgga atccgagttc
agagtttact cctccgcaa caactgtacc ttcgagtaag tttcccagcc attcttgatg
gacttggagg gtaagcagg taacttcaag aacctgagag agttcgtttt caagaacatc
gacggttact tcaagatcta ctccaagcac accccaatca acctgggttag agatttgcca
caaggtttct cgcgtttgga gcttttgggt gacttgccaa tcgggtatcaa catcaccaga
ttccagacct tgttggcctt gcacagatcc tacttgactc caggtgatcc tcttccgggt
tggactgctg gtgctgctgc ttactatgtt ggttacttgc agccaagaac cttcctgctg
aagtacaacg agaacggaac tatcactgac gctgttgact gtgctttgga cccattgtct
gagactaagt gcaccttgaa gtcttcacc gttgagaagg gtatctacca gacctccaac
ttcagagttc agccaactga gtccatcgtc agattcccaa acatcactaa cttgtgcccc
ttcggtgagg tgttcaacgc tactagattc gttctgtttt acgcctggaa cagaaagaga
atctccaact gcgttgctga ctactcgtc ttgtacaact ctgcttcatt ctccacctc
aagtgtacg gtgtttccc aactaagttg aacgacctgt gtttactaa cgtctacgcc
gactccttcg ttattagagg tgacgagggt agacagatcg ctccaggta aactggtaag
atcgtgact acaactacaa gctgccagac gacttcaccg gttgtgttat tgccttgaac
tccaacaacc tggactccaa ggttgggtgt aactacaatt acctgtaccg tctgttcaga
aagtccaact tgaagccatt cgagagagac atctccaccg agatctacca agctggttct
actccatgta acggtgtcga gggtttcaac tgcacttcc cattgcaatc ctacggtttc
caacctacca acggtgttgg ataccagcca tacagagttg tcgttttgtc cttcgagttg
ttgcacgctc cagctactgt ttgtgggtcca aagaagtcca ccaacttgggt caagaacaaa
tgcttcaact ttaacttcaa cggcctgacc ggtactgggtg ttttgactga atccaacaag
aagttcctgc ctttccagca gttoggtaga gacattgctg acactactga cgcggttaga
gatccacaga ctttggagat cttggacatc acccatgtt cttcgggtgg tgttccggtt
attacccttg gaactaacac ctccaatcag gtctgtgtct tgtaccagga cgttaactgt
actgagggtc cagttgctat ccaogctgac caattgactc caacttggag agtctactcc
accggttcca acgttttcca aactagagcc ggttgtttga tcgggtgctga acacgtcaac
aactcctacg agtgtgacat tccaattgggt gctggatatct gtgcctccta ccaactcaa
actaactccc caagaagggc tagatccgtt gttcccaat ccattatcgc ttacaccatg
tctttgggtg ccgagaactc tgttgccctac tctaacaact ctatcgctat cctaccaac
ttccacctct ccgttaccac tgagatcttg ccagtctcca tgaccaagac ttcggttgac
tgtaccatgt acatctgtgg tgactccact gagtgttcca acttgttgtc gcaatacgggt
tccttctgca ccagttgaa cagagctttg actgggtattg ctgtcgagca agacaagaac
actcaagagg ttttcgccc ggtgaagcag atctacaaga ctccacctat taaggacttc
ggtgggttca acttctccca gatcttgcca gatccatcta agcctccaa gagatccttc
attgaggacc tgcgtttcaa caaggttact ttggctgacg ccggtttcat caagcagtac
ggtgattgct tgggtgacat tgcagctaga gacttgatct gtgccagaa gttcaacgggt
ttgaccgttt tgccacctt gttgaccgac gagatgatcg ctcagtacac ttctgctttg
ttggccggta ctatcacttc tggttggaca tttggagctg gtgcgcatt gcaaattcca
ttcgtatgc aaatggccta cagattcaac ggtatcgggtg ttaccagaa cgtcctgtac
gagaaccaga agcttatcgc caaccagttc aactccgcta tcggtaagat tcaggactcc
ttgtcctcta ctgcttctgc cttgggaaag ttgcaggatg ttgttaacca gaatgccag

gctttgaaca ccttggttaa gcaactgtcc tctaacttcg gtgctatctc ctccgttttg
aacgacatct tgtcccgttt ggacaagggt gaggtgagg ttcagatcga cagattgac
actggtagat tgcagtcctt gcagacttac gttactcagc agttgattag agctgccgag
attagagcct ctgctaactt ggctgctact aagatgtccg agtgtgtttt gggtcagtcc
aagagagttg acttctgcgg taagggttac cacctgatgt ctttcccaca atctgtccca
cacggtgtcg ttttcttgca cgttaacttac gttccagctc aagagaagaa cttcactact
gtccagcca tttgtcacga tggtaagggt cactttcctc gtgaggggtg tttcgtttcc
aacggtactc actggttcgt caccagaga aacttttaag agccacagat catcaccacc
gacaacactt tcgtttctgg taactgtgac gtcgtcacgc gtatcgtgaa caacactgtc
tacgatccat tgcagccaga attggactcc ttcaaagagg aactggacaa gtactttaag
aaccacactt cccagacgt tgacctgggt gatatttcgc gtattaacgc ctccgttgtc
aacatccaaa aagagatcga ccgtttgaac gaggtcgcca agaacttgaa cgagtccttg
attgacttgc aagagctggg caagtaagag cagtacatta agtggccatg gtacatttgg
ctgggtttca ttgctgggtt gatcgccatc gttatggtea ccatcatggt gtgctgtatg
acctcctgtt gtcctgttt gaagggttgt tgttcctgcg gttcctgttg taagttcgac
gaagatgact ccgagccagt cttgaagggt gttaagttgc actacactta a**GCGGCCGC**

[0298] 5' BstBI單選殖位點加下底線

[0299] 3' NotI單選殖位點加下底線

[0300] 緊隨5' SacI後係ACG密碼子(編碼序列需與緊隨該ACG後之ATG起始密碼子同框)。此等兩個密碼子以粗體及斜體顯示。

[0301] SEQ ID NO: 4之核酸序列轉譯成SEQ ID NO: 1之天然 SARS-CoV-2棘蛋白

[0302] SEQ ID NO: 5 編碼融合蛋白HPV18L1/SARS-CoV-2棘蛋白之核酸 經最佳化以用於在巴斯德克馬格特勒酵母(*K. pastoris*)中之表現 且含有BstBI及NotI單選殖位點。

TTCGGAacgaaggctctttggagaccatccgacaacactgtttacttggc
accaccatccgttgctagagttgttaacactgacgactacgttactagaa
cttccatcttctaccacgctgggtcttccagattgttgactgttggtaac
ccatacttcagagttccagctggagggtggttaacaagcaagacatcccaaa
ggtttccgcttaccagtaacagagttttcagagttcagttgccagacccaa
acaagtttggattgccagacacttccatctacaacccagagactcagaga
cttgtttgggcttgtgctgggtgttgaaatcggtagaggacagccattggg
tgttgggttgcctgggtcaccattctacaacaagttggacgacactgaat
cttcacgcctgctacttctaacgtttccgaggatgtagagacaacgtt

tcogttgactacaagcagactcagttgtgtatcttgggttggtgctccagc
tattggtgaacattgggctaagggtactgcttgtaagtccagaccattgt
ctcagggagattgtccaccattggagttgaagaacactgttttggaggac
ggtgatatggttgatactggttacgggtgctatggacttctctactttgca
ggacactaagtgtgaagttccattggacatctgtcagtcacatctgtaagt
accagactactttgcaaatgtccgctgatccatacgggtgactctatgttc
ttctgtttgagaagagagcagttgttcgctagacacttctggaacagagc
tggtactatgggtgacactgttccacaatccttgtaacatcaagggtactg
gaatgagagcttctcctggttcttgtgtttactctccatctccatccggt
tccattgttacttccgactcccagttgttcaacaagccataactggttgca
taaggctcaagggtcacaacaacgggtgtttgttggcacaaccagttgttcg
ttactgttgttgacactactagatccactaacttgactatctgtgcttcc
actcaatctccagttccaggacaatacgcgctactaagttcaagcagta
ctccagacacggttgaagagtacgacttgcagttcatcttccagttgtgta
ctatcactttgactgctgatgttatgtcctacatccactctatgaactcc
tccattttggaggattggaacttcgggtgttccaccaccaccaactacttc
attgggtgacacttacagattcgttcagtcogttgctatcacttgtcaaa
aggacgctgctccagctgaaaacaaggaccatacgcacaagttgaagttc
tggaacgttgacttgaaagagaagttctccttggacttggaccaataccc
attgggtagaaagtttttgggttcaggctggattgagaagaaagccaacta
tcgggtccaagaaagagatcagctccatccgctactacttcatccaagcca
gctaagagagtttagagtttagagctagaaagtTCGTGTTCTTGGTCTGT
GCCATTGGTTTTCTTCCCAGTGTGTTAACCTGACCACTAGAACTCAATTGC
CTCCAGCCTACACCAATTCTTTCACCAGAGGTGTTTACTACCCAGACAAG
GTGTTTCAGATCTTCCGTCTTGCACTCCACTCAGGACTTGTCTTGCCATT
CTTCTCCAACGTTACCTGGTTCCACGCTATTACGTTTCCGGAACCTAACG
GTACTAAGAGATTGACAACCCAGTCTGCCATTCAACGATGGTGTCTAC
TTCGCTTCTACCGAGAAGTCCAACATCATCAGAGGTTGGATCTTCCGTAC
TACCCCTGGACTCTAAGACTCAGTCCCTTGCTGATCGTTAACAACGCCACCA
ACGTTGTCATCAAGGTTTGCGAGTTCCAGTTCTGCAACGACCCATTCTTG
GGTGTGTACTACCACAAGAACAACAAGTCTTGGATGGAATCCGAGTTCAG
AGTTTACTCCTCCGCCAACAACTGTACCTTCGAGTACGTTTCCCAGCCAT
TCTTGATGGACTTGGAGGGTAAGCAGGGTAACCTCAAGAACCTGAGAGAG
TTCGTTTTCAAGAACATCGACGGTIACTTCAAGATCTACTCCAAGCACAC
CCCAATCAACCTGGTTAGAGATTTGCCACAAGGTTTCTCCGCTTTGGAGC
CTTTGGTTGACTTGCCAATCGGTATCAACATCACCAGATTCCAGACCTTG
TTGGCCTTGACACAGATCCTACTTGACTCCAGGTGATTCTTCTTCCGGTTG
GACTGCTGGTGCTGCTGCTTACTATGTTGGTTACTTGCAGCCAAGAACCT
TCCTGCTGAAGTACAACGAGAACGGAACTATCACTGACGCTGTTGACTGT
GCTTTGGACCCATTGTCTGAGACTAAGTGCACCTTGAAGTCCTTCACCGT
TGAGAAGGGTATCTACCAGACCTCCAACCTTCAGAGTTCAGCCAACCTGAGT

CCATCGTCAGATTCCCAAACATCACTAACTTGTGCCCATTCGGTGAGGIG
TTCAACGCTACTAGATTTCGCTTCTGTTTACGCCTGGAACAGAAAGAGAAT
CTCCAACTGCGTTGCTGACTACTCCGTCTTGTACAACCTCTGCTTCATTCT
CCACCTTCAAGTGCTACGGTGTTTTCCCCAACTAAGTTGAACGACCTGTGT
TTCACTAACGTCTACGCCGACTCCTTCGTTATTAGAGGTGACGAGGTTAG
ACAGATCGCTCCAGGTCAAACCTGGTAAGATCGCTGACTACAACCTACAAGC
TGCCAGACGACITCACC GGTTGTGTTATTGCTTGGAACCTCAACAACCTG
GACTCCAAGGTTGGTGGTAACTACAATTACCTGTACCGTCTGTTTCAGAAA
GTCCAACCTTGAAAGCCATTTCGAGAGAGACATCTCCACCGAGATCTACCAAG
CTGGTTCTACTCCATGTAACGGTGTGAGGGTTTCAACTGCTACTTCCCA
TTGCAATCCTACGGTTTCCAACCTACCAACGGTGTTGGATACCAGCCATA
CAGAGTTGTGCTTTTGTCTTCGAGTTGTTGCACGCTCCAGCTACTGTTT
GTGGTCCAAAGAAGTCCACCAACTTGGTCAAGAACAAATGCGTCAACTTT
AACTTCAACGGCCTGACCGGTACTGGTGTTTGGACTGAATCCAACAAGAA
GTTCTGCTTTTCCAGCAGTTCCGGTAGAGACATTGCTGACACTACTGACG
CCGTTAGAGATCCACAGACTTTGGAGATCTTGGACATCACCCCATGTTCC
TTCGGTGCTGTTTCCGTTATTACCCCTGGAACCTAACACCTCCAATCAGGT
CGCTGTCTTGTACCAGGACGTTAACTGTACTGAGGTTCCAGTTGCTATCC
ACGCTGACCAATTGACTCCAACCTTGAGAGTCTACTCCACCGGTTCCAAC
GTTTTCCAACCTAGAGCCGGTTGTTTGATCGGTGCTGAACACGTCAACAA
CTCCTACGAGTGTGACATTCCAATTGGTGCTGGTATCTGTGCCTCCTACC
AAACTCAAACCTAACTCCCCAAGAAGGGCTAGATCCGTTGCTTCCCAATCC
ATTATCGCTTACACCATGTCTTTGGGTGCCGAGAACTCTGTTGCCTACTC
TAACAACCTCTATCGCTATCCCTACCAACTTCACCATCTCCGTTACCACTG
AGATCTTGCCAGTCTCCATGACCAAGACTTCGTTGACTGTACCATGTAC
ATCTGTGGTGACTCCACTGAGTGTTCCAACCTGTTGCTGCAATACGGTTC
CTTCTGCACCCAGTTGAACAGAGCTTTGACTGGTATTGCTGTGAGCAAG
ACAAGAACACTCAAGAGGTTTTCGCCCAGGTGAAGCAGATCTACAAGACT
CCACCTATTAAGGACTTCGGTGGCTTCAACTTCTCCAGATTTTGCCAGA
TCCATCTAAGCCCTCCAAGAGATCCTTCATTGAGGACCTGCTGTTCAACA
AGGTTACTTTGCGTGACGCCGGTTTCATCAAGCAGTACGGTGATTGCTTG
GGTGACATTGCAGCTAGAGACTTGATCTGTGCCCAGAAGTTCAACGGTTT
GACCGTTTTTGCCACCTTTGTTGACCGACGAGATGATCGCTCAGTACACTT
CTGCTTTGTTGGCCGGTACTATCACTTCTGGTTGGACATTTGGAGCTGGT
GCCGCATTGCAAATTCATTTCGCTATGCAAATGGCCTACAGATTCAACGG
TATCGGTGTTACCCAGAACGTCTGTACGAGAACCAGAAGCTTATCGCCA
ACCAGTTCAACTCCGCTATCGGTAAGATTCAAGGACTCCTTGTCCTCTACT
GCTTCTGCCTTGGGAAAGTTGCAGGATGTTGTTAACCAGAATGCCCAGGC
TTTGAACACCCTGTTAAGCAACTGTCTCTAACTTCGGTGCTATCTCCT
CCGTTTTGAACGACATCTTGTCCCGTTTGACAAAGGTTGAGGCTGAGGTT
CAGATCGACAGATTGATCACTGGTAGATTGCAGTCCCTGCAGACTTACGT

TACTCAGCAGTTGATTAGAGCTGCCGAGATTAGAGCCTCTGCTAACTTGG
CTGCTACTAAGATGTCCGAGTGTGTTTTGGGTCAGTCCAAGAGAGTTGAC
TTCTGCGGTAAGGGTTACCACCTGATGTCTTTCCCACAATCTGCTCCACA
CGGTGTCGTTTTCTTGACGTTACTTACGTTCCAGCTCAAGAGAAGAACT
TCACTACTGCTCCAGCCATTTGTACGATGGTAAGGCTCACTTTCCTCGT
GAGGGTGTTTTCGTTTCCAACGCTACTCACTGGTTTCGTCACCCAGAGAAA
CTTTTACGAGCCACAGATCATCACCACCGACAACACTTTCGTTTCTGGTA
ACTGTGACGTCGTCATCGGTATCGTGAACAACACTGTCTACGATCCATTG
CAGCCAGAATTGGACTCCTTCAAAGAGGAACTGGACAAGTACTTTAAGAA
CCACACTTCCCCAGACGTTGACCTGGGTGATATTTCCGGTATTAAACGCCT
CCGTTGTCAACATCCAAAAAGAGATCGACCGTTTGAACGAGGTCGCCAAG
AACTTGAACGAGTCCTTGATTGACTTGCAAGAGCTGGGCAAGTACGAGCA
GTACATTAAGTGGCCATGGTACATTTGGCTGGGTTTCATTGCTGGTTTGA
TCGCCATCGTTATGGTCACCATCATGTTGTGCTGTATGACCTCCTGTTGC
TCCTGTTTGAAGGGTTGTTGTTCCCTGCGGTTCCCTGTTGTAAGTTGACGA
AGATGACTCCGAGCCAGTCTTGAAGGGTGTTAAGTTGCACTACACTTAAG
CGGCCGC

【0303】 5’ BstBI單選殖位點加單底線

【0304】 HPV18L1序列以小寫字母顯示

【0305】 SARS-CoV-2棘蛋白編碼序列以大寫字母顯示

【0306】 3’ NotI單選殖位點加虛底線

【0307】 緊隨5’ BstBI後係ACG密碼子(編碼序列需與緊隨該ACG後之ATG起始密碼子同框)。此等兩個密碼子以粗體及斜體顯示。

【0308】 SEQ ID NO: 6–編碼融合蛋白HPV16L1/SARS-CoV-2棘蛋白核之核酸–經最佳化以用於在巴斯德克馬格特勒酵母中之表現且含有BstBI及NotI單選殖位點。

TTCGAAacgatgtctttgtggttgccatctgaagctactgtttacttgcc
accagttccagtttctaaagttgtttccactgacgaatacgttgctagaa
ctaacatctactaccacgctggtacttctagattggttggtggtcat
ccatacttcccaattaagaagccaaacaacaacaagattttggttcctaaa
ggtttccggattgcaatacagagttttcagaatccatttgccagatccaa
acaagtttggtttccagatacttctttctacaacccagacactcaaaga
cttggttggtggtgtgttggtggtgaagttggttagaggtcaaccattggg
tggttggtatttctgggtcaccattgttggaacaagttggacgatactgaaa
acgcttctgcttacgctgctaacgctggtggtgataacagagaatgtatt
tctatggactacaagcaaaactcaattgtggttgattggttgtaagccacc

aattgggtgaacattgggggaaaggggttctccatgtactaatggtgctgtta
accctgggtgattgtccaccattggaattgattaacactggttattcaagac
ggatgatattggttgatactggtttcgggtgctatggatttcactactttgca
agctaacaagtctgaagttccattggacatttgtacttccatctgtaagt
accagactacattaagatggtttctgaaccatacgggtgattcctttgttc
ttctacttgagaagagaaacaaatgtttggttagacacttgttcaacagagc
tggtgctgttggtgaaaacggttccagatgacttgtacattaaggggttctg
gttctactgctaacttggcttcttctaactactttccaactccatctgggt
tctatgggttacttctgacgctcaaattttcaacaagccatactgggttgca
aagagcacaaggtcataacaacgggtatttggttggggtaaccaattgttcg
tactgttggtagactactagatccactaacatgtccttgtgtgctgct
atttctacttctgaaactacttacaagaacactaacttcaaagagtactt
gagacacggagaagaatacagacttgcatttcattttccaattgtgtaaga
ttactttgactgctgacgttatgacttacattcactctatgaactctact
atthttggaagattggaacttcggattgcaaccaccaccaggtgggtacttt
ggaagatacttacagattcgttacttctcaagctattgcttgtcaaaagc
atactccacctgctccaaaagaagatccattgaagaagtacactttctgg
gaagtttaacttgaaagaaaagttctctgctgatttggatcaattcccatt
gggtagaaaagtttttgggtgcaagctggattgaaggctaaaccaaagttca
ctttgggaaagagaaaaggctactccaactacttcttctacttctactact
gctaagagaaaagaagagaaaaattgtTCGTGTTCTTGGTCCTGTTGCCATT
GGTTTCTTCCCAGTGTGTAACTTGACCACTAGAACTCAATTGCCTCCAG
CCTACACCAATTCTTTCACCAGAGGTGTTTACTACCCAGACAAGGTGTTC
AGATCTTCCGCTTTCGACTCCACTCAGGACTTGTTCCTTGCCATTCTTCTC
CAACGTTACCTGGTTCCACGCTATTACGTTTCCGGAACCTAACGGTACTA
AGAGATTCGACAACCCAGTCCCTGCCATTCAACGATGGTGTCTACTTCGCT
TCTACCGAGAAGTCCAACATCATCAGAGGTTGGATCTTCGGTACTACCCT
GGACTCTAAGACTCAGTCCTTGCTGATCGTTAACAACGCCACCAACGTTG
TCATCAAGGTTTGCGAGTTCCAGTTCTGCAACGACCCATTCTTGGGTGTG
TACTACCACAAGAACAACAAGTCTTGGATGGAATCCGAGTTCAGAGTTTA
CTCCTCCGCCAACAACTGTACCTTCGAGTACGTTTCCCAGCCATTCTTGA
TGGACTTGAGGGGTAAGCAGGGTAACTTCAAGAACCTGAGAGAGTTCGTT
TTCAAGAACATCGACGGTTACTTCAAGATCTACTCCAAGCACACCCCAAT
CAACCTGGTTAGAGATTTGCCACAAGGTTTCTCCGCTTTGGAGCCTTTGG
TTGACTTGCCAATCGGTATCAACATCACCAGATTCCAGACCTTGTGGCC
TTGCACAGATCCTACTTGACTCCAGGTGATTCTTCTTCCGGTTGGACTGC
TGGTGCTGCTGCTTACTATGTTGGTTTACTTGCAGCCAAGAACCTTCCTGC
TGAAGTACAACGAGAACGGAACCTATCACTGACGCTGTTGACTGTGCTTTG
GACCCATTGTCTGAGACTAAGTGCACCTTGAAGTCCTTCACCGTTGAGAA
GGGTATCTACCAGACCTCCAACCTCAGAGTTCAGCCAACCTGAGTCCATCG
TCAGATTCCCAAACATCACTAACTTGTGCCCATTCGGTGAGGTGTTCAAC

GCTACTAGATTTCGCTTCTGTGTTACGCCTGGAACAGAAAGAGAATCTCCAA
CTGCGTTGCTGACTACTCCGTCCTTGTAACAACCTGCTTCATTCTCCACCT
TCAAGTGCTACGGTGTTTTCCCCAACTAAGTTGAACGACCTGTGTTTCACT
AACGTCTACGCCGACTCCTTCGTTATTAGAGGTGACGAGGTAGACAGAT
CGCTCCAGGTCAAACTGGTAAGATCGCTGACTACAACCTACAAGCTGCCAG
ACGACTTCACCGGTTGTGTTATTGCTTGGAACCTCCAACAACCTGGACTCC
AAGGTTGGTGGTAACTACAATTACCTGTACCGTCTGTTCAGAAAGTCCAA
CTTGAAGCCATTTCGAGAGAGACATCTCCACCGAGATCTACCAAGCTGGTT
CTACTCCATGTAACGGTGTCGAGGGTTTCAACTGCTACTTCCCATTGCAA
TCCTACGGTTTTCCAACCTACCAACGGTGTTGGATACCAGCCATACAGAGT
TGTCGTTTTGTCTTCGAGTTGTTGCACGCTCCAGCTACTGTTTGTGGTC
CAAAGAAGTCCACCAACTTGGTCAAGAACAAATGCGTCAACTTTAACTTC
AACGGCCTGACCGGTACTGGTGTTTTGACTGAATCCAACAAGAAGTTCCT
GCCTTTCACGAGTTTCGGTAGAGACATTGCTGACACTACTGACGCCGTTA
GAGATCCACAGACTTTGGAGATCTTGGACATCACCCCATGTTCTTCGGT
GGTGTTTCCGTTATTACCCCTGGAACCTAACACCTCCAATCAGGTCGCTGT
CTTGTAACAGGACGTTAACTGTACTGAGGTTCCAGTTGCTATCCACGCTG
ACCAATTGACTCCAACCTGGAGAGTCTACTCCACCGGTTCCAACGTTTTTC
CAAACCTAGAGCCGGTTGTTTGATCGGTGCTGAACACGTCAACAACCTCCTA
CGAGTGTTGACATTCCAATTGGTGCTGGTATCTGTGCCTCCTACCAAACCTC
AAACTAACTCCCCAAGAAGGGCTAGATCCGTTGCTTCCAATCCATTATC
GCTTACACCATGTCTTTGGGTGCCGAGAACTCTGTGCTACTCTAACAA
CTCTATCGCTATCCCTACCAACTTCACCATCTCCGTTACCACTGAGATCT
TGCCAGTCTCCATGACCAAGACTTCCGTTGACTGTACCATGTACATCTGT
GGTGACTCCACTGAGTGTTCCAACCTTGTTGCTGCAATACGGTTCCTTCTG
CACCCAGTTGAACAGAGCTTTGACTGGTATTGCTGTGCGAGCAAGACAAGA
ACACTCAAGAGGTTTTCGCCCAGGTGAAGCAGATCTACAAGACTCCACCT
ATTAAGGACTTCGGTGGCTTCAACTTCTCCCAGATTTTGCCAGATCCATC
TAAGCCCTCCAAGAGATCCTTCATTGAGGACCTGCTGTTCAACAAGGTTA
CTTTGGCTGACGCCGGTTTTCATCAAGCAGTACGGTGATTGCTTGGGTGAC
ATTGCAGCTAGAGACTTGATCTGTGCCCAGAAGTTCAACGGTTTGACCGT
TTTGCCACCTTTGTTGACCGACGAGATGATCGCTCAGTACACTTCTGCTT
TGTTGGCCGGTACTATCACTTCTGGTTGGACATTTGGAGCTGGTGCCGCA
TTGCAAATTCATTTCGCTATGCAAATGGCCTACAGATTCAACGGTATCGG
TGTTACCCAGAACGTCCTGTACGAGAACCAGAAGCTTATCGCCAACCAGT
TCAACTCCGCTATCGGTAAGATTCAGGACTCCTTGTCCTCTACTGCTTCT
GCCTTGGGAAAGTTGCAGGATGTTGTTAACCAGAATGCCAGGCTTTGAA
CACCCCTGGTTAAGCAACTGTCCTCTAACTTCGGTGCTATCTCCTCCGTTT
TGAACGACATCTTGTCCCGTTTGGACAAGGTTGAGGCTGAGGTTTCAGATC
GACAGATTGATCACTGGTAGATTGCAGTCCCTGCAGACTTACGTTACTCA
GCAGTTGATTAGAGCTGCCGAGATTAGAGCCTCTGCTAACTTGGCTGCTA

CTAAGATGTCCGAGTGTGTTTTGGGTCAGTCCAAGAGAGTTGACTTCTGC
GGTAAGGGTTACCACCTGATGTCTTTCCCACAATCTGCTCCACACGGTGT
CGTTTTCTTGACGTTACTTACGTTCCAGCTCAAGAGAAGAACTTCACTA
CTGCTCCAGCCATTTGTACGATGGTAAGGCTCACTTTCCTCGTGAGGGT
GTTTTCGTTTCCAACGGTACTCACTGGTTCGTCACCCAGAGAACTTTTA
CGAGCCACAGATCATCACCACCGACAACACTTTCGTTTCTGGTAACTGTG
ACGTCGTCATCGGTATCGTGAACAACACTGTCTACGATCCATTGCAGCCA
GAATTGGACTCCTTCAAAGAGGAACTGGACAAGTACTTTAAGAACCACAC
TTCCCCAGACGTTGACCTGGGTGATATTTCCGGTATTAACGCCTCCGTTG
TCAACATCCAAAAGAGATCGACCGTTTGAACGAGGTCGCCAAGAACTTG
AACGAGTCCTTGATTGACTTGCAAGAGCTGGGCAAGTACGAGCAGTACAT
TAAGTGGCCATGGTACATTTGGCTGGGTTTCATTGCTGGTTTGATCGCCA
TCGTTATGGTCACCATCATGTTGTGCTGTATGACCTCCTGTTGCTCCTGT
TTGAAGGGTTGTTGTTTCTGCGGTTCTGTTGTAAGTTGACGAAGATGA
CTCCGAGCCAGTCTTGAAGGGTGTTAAGTTGCACTACACTTAAGCGGCCG

C

【0309】 5’ BstBI單選殖位點加單底線

【0310】 HPV16L1序列以小寫字母顯示

【0311】 SARS-CoV-2棘蛋白編碼序列以大寫字母顯示

【0312】 3’ NotI單選殖位點加虛底線

【0313】 緊隨5’ BstBI後係ACG密碼子(編碼序列需與緊隨該ACG後之ATG起始密碼子同框)。此等兩個密碼子以粗體及斜體顯示。

【0314】 SEQ ID NO: 7–SARS-CoV-2棘蛋白核酸序列–經最佳化以用於在人類(293F)中之表現且含有NheI及NotI單選殖位點。

GCTAGCgaca *tg*ttcgtggtt tctggtgctg ctgcctctgg tgtccagcca gtgtgtgaac
ctgaccacca gaacacagct gcctccagcc tacaccaata gcttcaccag gggcgtgtac
taccocgaca aggtgttcag atctagcgtg ctgcacagca cccaggacct gtttctgccc
ttcttcagca acgtgacctg gttccacgcc atccacgtgt ccggcaccaa tggcaccaag
agattcgaca acccgtgct gcccttcaac gatgggggtgt actttgccag caccgagaag
tccaacatca tcagaggctg gatcttcggc accacactgg acagcaagac ccagagcctg
ctgatcgtga acaacgccac caacgtggtc atcaaagtgt gcgagttcca gttctgcaac
gaccattcc tgggagtcta ctaccacaag aacaacaaga gctggatgga aagcgagttc
cgggtgtaca gcagcgccaa caactgcacc ttogagtagc tgtcccagcc tttcctgatg
gacctggaag gcaagcaggg caacttcaag aacctgcgcg agttcgtggt caagaacatc
gacggctact tcaagatcta cagcaagcac acccctatca acctcgtgcg ggatctgcct

cagggctttt ctgctctgga acctctggtg gacctgccta tcggcatcaa catcacccgg
tttcagaccc tgctggccct gcacagatct tacctgacac ctggcgatag cagctctgga
tggacagctg gcgcgcctgc ctattatgtg ggctacctgc agcctcggac ctccctgctg
aagtacaacg agaacggcac catcacccgac gcctgtggatt gtgctctgga tcccttgagc
gagacaaagt gcacctgaa gtccctcacc gtggaaaagg gcctctacca gaccagcaac
ttcagagtgc agcccaccga gagcatcgtg cgggtcccca atatcaccaa tctgtgcccc
ttcggcgagg tgttcaatgc cacaagatct gccagcgtgt acgcctggaa ccggaagaga
atcagcaact gcgtggccga ctacagcgtg ctgtacaata gcgcagctt cagcaccttc
aagtgtctag gcgtgtcccc taccaagctg aacgacctgt gcttcaccaa tgtgtacgcc
gacagcttcg tgatcagagg cgacgaagtt cggcagatcg ctccctggaca gacaggcaag
atgcgcgatt acaactacaa gctgcccgcac gaattcaccc gctgcgtgat cgcctggaat
agcaacaacc tggactccaa agtcggcggc aactacaact acctgtaccg gctgttcogg
aagtccaatc tgaagccctt cgagcgggac atctccaccg aaatctatca ggccggcagc
accccttgta acggcgtgga aggcttcaac tgctacttcc cactgcagtc ctacggcttt
cagcctacca atggcgtggg ctatcagccc tatagagtgg tgggtctgag cttcgaactg
ctgcatgccc ctgctaccgt gtgcggccct aagaagtcta ccaacctggg caagaacaaa
tgctggaact tcaacttcaa cggcctgacc ggcacaggcg tgctgacaga gagcaacaag
aagtctctgc ctttccagca gtttgccgg gatatcgccg ataccacaga cgcctgtaga
gatccccaga cactggaaat cctggacatc accccatgca gcttggcgg agtgtctgtg
atcacccctg gcaccaatac cagcaatcag gtggccgtgc tgtatcagga cgtgaactgt
acagaggtgc ccgtggccat tcacgccgat caactgacac ccacttgag agtgtactcc
accggctcca acgtgttcca gactagagcc ggatgtctga tcggagccga gcacgtgaac
aatagctacg agtgcgacat ccccatcggc gctggcatct gtgccagcta ccagacacag
acaaatagcc ccagacgggc cagaagcgtg gcctctcaga gcctcattgc ctacacaaatg
agcctggggc ccgagaattc tgtggcctac agcaacaact ctatcgctat cccacccaac
ttcaccatca gcgtgaccac cgagatcctg cctgtgtcca tgaccaagac cagcgtggac
tgcaccatgt acatctgcgg cgattccacc gagtgcagca acctgctgct gcagtacggc
agcttctgca ccagctgaa tagagccctg acagggatcg ccgtggaaca ggacaagaac
acccaagagg tgttcgcccc agtgaagcag atctacaaga cccctcctat caaggacttc
ggcggcttca atttcagcca gattctgccc gatcctagca agcccagcaa gcggagcttt
atcgaggacc tgctgttcaa caaagtgaca ctggccgacg ccggttcat caagcagtat
ggcgattgcc tgggcgacat tgccgccaga gatctgattt gcgccagaa gtttaacgga
ctgacagtgc tgccctcctt gctgaccgat gagatgatcg ccagtacac atctgctctg
ctggccggca caatcaccag cggatggaca tttggagctg gcgcagccct gcagatcccc
tttgctatgc agatggccta ccggttcaac ggcacggag tgaccagaa tgtgtgttac
gagaaccaga agctgatcgc caaccagttc aacagcgcca tcggcaagat ccaggatagc
ctgtctagca cagccagcgc tctgggcaaa ctgcaggacg tggtaatca gaacgctcag
gccctgaaca cctcgtgaa gcagctgagc agcaatttcg gcgccatcag ctccgtgctg
aacgatatcc tgagccggct ggataagggt gaagccgagg tgcagatcga cagactgatc
acaggcagac tgcagagcct ccagacatac gtgacccagc agctgatcag agccgcgag
attagagcct ctgccaatct ggccgccacc aagatgtctg agtgtgtgct gggccagagc

CTGCCTCAGGGCTTTTCTGCTCTGGAACCTCTGGTGGACCTGCCTATCGGCATCAACATCACCCGGTTTCAGACC
CTGCTGGCCCTGCACAGATCTTACCTGACACCTGGCGATAGCAGCTCTGGATGGACAGCTGGCGCCGCTGCCTAT
TATGTGGGCTACCTGCAGCCTCGGACCTTCCTGCTGAAGTACAACGAGAACGGCACCATCACCGACGCCGTGGAT
TGTGCTCTGGATCCCTTGAGCGAGACAAAGTGCACCCCTGAAGTCCTTCACCGTGGAAAAGGGCATCTACCAGACC
AGCAACTTCAGAGTGCAGCCACCGAGAGCATCGTGCGGTTCCCCAATATCACCAATCTGTGCCCCCTTCGGCGAG
GTGTTCAATGCCACAAGATTTGCCAGCGTGACGCCTGGAACCGGAAGAGAATCAGCAACTGCGTGGCCGACTAC
AGCGTGCTGTACAATAGCGCCAGCTTCAGCACCTTCAAGTGCTACGGCGTGTCCCTACCAAGCTGAACGACCTG
TGCTTCACCAATGTGTACGCCGACAGCTTCGTGATCAGAGGCGACGAAGTTCGGCAGATCGCTCCTGGACAGACA
GGCAAGATCGCCGATTACAACCTACAAGCTGCCCGACGACTTCACCGGCTGCGTGATCGCCTGGAATAGCAACAAC
CTGGACTCCAAAGTCGGCGGCAACTACAACCTACCTGTACCGGCTGTTCCGGAAGTCCAATCTGAAGCCCTTCGAG
CGGGACATCTCCACCGAAATCTATCAGGCCGGCAGCACCCCTTGTAACGGCGTGAAGGCTTCAACTGCTACTTC
CCACTGCAGTCTTACGGCTTTTACGCCTACCAATGGCGTGGGCTATCAGCCCTATAGAGTGGTGGTGTGAGCTTC
GAACTGCTGCATGCCCCTGCTACCGTGTGCGGCCCTAAGAAGTCTACCAACCTGGTCAAGAACAAATGCGTGAAC
TTCAACTTCAACGGCCTGACCGGCACAGGCGTGCTGACAGAGAGCAACAAGAAGTTCCTGCCTTTCCAGCAGTTT
GGCCGGGATATCGCCGATACACAGACGCCGTTAGAGATCCCCAGACACTGGAAATCCTGGACATACCCCCATGC
AGCTTTGGCGGAGTGTCTGTGATCACCCCTGGCACCAATACCAGCAATCAGGTGGCCGTGCTGTATCAGGACGTG
AACTGTACAGAGGTGCCGTGGCCATTACGCCGATCAACTGACACCCACTTGGAGAGTGTACTCCACCGGCTCC
AACGTGTTCCAGACTAGAGCCGATGTCTGATCGGAGCCGAGCAGTGAACAATAGCTACGAGTGCACATCCCC
ATCGGCGCTGGCATCTGTGCCAGCTACCAGACACAGACAAATAGCCCCAGACGGGCCAGAAGCGTGGCCTCTCAG
AGCATCATTGCCTACACAATGAGCCTGGGCGCGGAGAATTCTGTGGCCTACAGCAACAACCTCTATCGCTATCCCC
ACCAACTTCACCATCAGCGTGACACCGAGATCCTGCCTGTGTCCATGACCAAGACCAGCGTGGACTGCACCATG
TACATCTGCGGCGATTCCACCGAGTGCAGCAACCTGCTGCTGCAGTACGGCAGCTTCTGCACCCAGCTGAATAGA
GCCCTGACAGGGATCGCCGTGGAACAGGACAAGAACACCCAAGAGGTGTTCCGCCAAGTGAAGCAGATCTACAAG
ACCCCTCCTATCAAGGACTTCGGCGGCTTCAATTTAGCCAGATTCTGCCCGATCCTAGCAAGCCCAGCAAGCGG
AGCTTTATCGAGGACCTGCTGTTCAACAAAGTGACACTGGCCGACGCCGGCTTCATCAAGCAGTATGGCGATTGC
CTGGGCGACATTGCCGCCAGAGATCTGATTTGCGCCCAAGTTTAACGGACTGACAGTGTGCCTCCTCTGCTG
ACCGATGAGATGATCGCCAGTACACATCTGCTCTGCTGGCCGGCACAATCACCAGCGGATGGACATT'TGGAGCT
GGCGCAGCCCTGCAGATCCCCTTTGCTATGCAGATGGCCTACCGGTTCAACGGCATCGGAGTGACCCAGAATGTG
CTGTACGAGAACCAGAAGCTGATCGCCAACAGTTCAACAGCGCCATCGGCAAGATCCAGGATAGCCTGTCTAGC
ACAGCCAGCGCTCTGGGCAAACTGCAGGACGTGGTCAATCAGAACGCTCAGGCCCTGAACACCCCTCGTGAAGCAG
CTGAGCAGCAATTTGGCGCCATCAGCTCCGTGCTGAACGATATCCTGAGCCGGCTGGATAAGGTGGAAGCCGAG
GTGCAGATCGACAGACTGATCACAGGACAGCTGCAGAGCCTCCAGACATACGTGACCCAGCAGCTGATCAGAGCC
GCCGAGATTAGAGCCTCTGCCAATCTGGCCGCCACCAAGATGTCTGAGTGTGTGCTGGGCCAGAGCAAGAGAGTG
GATTTCTGCGGCAAGGGCTACCACTGATGAGCTTTCCACAGTCTGCTCCTCACGGCGTGGTGTCTTCTGCACGTG
ACCTATGTGCCCCGCTCAAGAGAAGAACTTCACAACAGCCCCCTGCCATCTGCCACGACGGAAGGCCCATTTTCCT
AGAGAAGGCGTGTTCGTGTCCAACGGCACCCATTGGTTCTGTGACACAGCGGAACCTTCTACGAGCCCCAGATCATC
ACCACCGACAACACCTTCGTGTCTGGCAACTGTGACGTCTGTGATCGGCATTGTGAACAACACCGTGTACGACCTT
CTGCAGCCCCGAGCTGGACAGCTTCAAAGAGGAACTGGACAAGTACTTTAAGAACCACACAAGCCCCGACGTGGAC
CTGGGCGATATTAGCGGCATCAATGCCTCCGTGGTCAACATCCAGAAAGAGATCGACCGGCTGAACGAGGTGGCC
AAGAATCTGAACGAGAGCCTGATCGACCTGCAAGAACTGGGGAAGTACGAGCAGTACATCAAGTGGCCCTGGTAC
ATCTGGCTGGGCTTTATCGCCGACTGATTGCCATCGTGATGGTCACAATCATGCTGTGCTGCATGACCAGCTGC
TGTAGCTGCCCTGAAGGGCTGTTCAGCTGTGGCAGCTGCTGCAAGTTCGACGAGGATGATAGCGAGCCTGTGCTG
AAGGGCGTGAACTGCACTACACCGCGGCCGC

MATNRPSDNIYVYLPFSPVAIKVNVNIDYVIRPSTHYIAGSSIRDTAVGNPYNHRVPACCCNKQDTPKVSATQYRWVRV
QIIPDPNKGCIPIPTSTYNPKPQRIVWACACVKGCHGQPIICVCTSCGHPYNNKIDDPKSSHAATSNVSKDVIRDNVSVN
YKQIQICITGCAIPATGKIWAKGTACKSRPISQGCIPPIIQQIRNVYIKDGIMWITCYGANDDSTIQITKCIWPIIJC
QSTCKYIPDYIQHSADPYGDSHDFCIIRKQIIPAIRDWNRACTMGDPIVPIQSTIYIKCTCHIKASPCSCVYSIPSPSGSIV
TSDSQIIPNKPYWIDKRAQCINNGVCHDNGIIVYVVIPIRSTINDDICASTQSPVPCQYDIAIKKQYSRDIWIKYDITQI
IPQICITITITADVMSTIISMNSSITIDANNICVPIPIPIPTSTVIRPYRVQSVATTCQKDAAPAKNKDIPYDKIKDWNV
DIKCKFSIDIDQYPIGRKPIVQAGIIRKKPPIICPIKRSAPSAITSSSKPAKRWKVRARKKVPIVITVITPIVSSQCVNIT
ITQIPPATINSITRCVYDPIKVRSSVITDSTQIIPITPIISNVITQIDALDVSCINCIKRIKIDNPVITPIIDGVYDAS
IKKSMOIRGWIPICTITDSSKIQSTIIVNNATINVVIRKCKQICNDIPITGVYDINKNKSSMKSPRVTSSANNCTIK
YVSQPIITMIDICKQCMIKNIRKQVIRKNDICYIKKQYSKPIPIPIVIRDIPQGISATIKPIVINDPIETNITRIPQIITAT
IRSYDIPGDISSSCWITAGAAAYVGYIQIPPIITIKKINKCIITIDAVICATIDPISPIKCTIKSIPVIRKCIYQISNIR
VQPIIKSTVIRPIPIITNICTPICKVIRNATIRASVYAMNRKRTSNCAVDYSVITYNSASFSTIKCYGVSPIDKINDICTIN
VYADISVIRKIDKVRQITIPGQICETADYNCKIIPIDITTECVIIRNNSTIDSKVCCMYNYIRIIRKSNIKPIKRIIS
ITCIYQAGSIPPCNGVIRKINCYPIIQSYCIPIPIKGVGYQIPYRVVITSPHITIDAPATVCGIKKSTNIRKNCVNDIPIN
GICICIVIRKSNKKITIPQIQIGDITADITIDAVIRDIPQITIKITIDITPCSPICGVSVITIPGINTSNQVAVITYQVNCIK
VIVATIDIAQIIPPIIRVYSITGSNVITQIRACCTICAKIIVNNSTIKCNDIPICAGICASYQIQINSPRRNRSVASQSTIA
YIMSTGAKNSVAYSNNSTADIPINDITSVITIKCIPVSMIRKISVIXCHYICDSTIKCSKNTIQYESICIQIRKATIG
TAVIKQIKNIPQVIRAQVQIYKIPPIIKDIPCCINPSQIIPIDPSKIPSKRSITIKDITIDNKVITIDADICITKQYICICIGIT
AARIDICAQKIPNGITVITPIITIDIDIDIAQITISATITAGITITSCWITICAGAAITQIPIDAHQIHAYRIPNGICVITQNVITYEN
QKITIDANQINSATIGIQDSTSSITASATIGITQIVVQIDIAQITINIRKQISSNIPCATISSVITNDITSRIDKVIKAVQITD
IRATITCITQSTQIYVITQQIIRWAKIRASANTAAIRMSKCVICQSKIRVIDICCKCYDINSHIQSAPICGVITIDIVYVPI
AQIKNDIPCAPICIDCKAIDIRKGVIRSNCTIDIDVITQIRNDICIPQIITIDIDIDVSCNCTVITICIVNNIVYDIPITQIK
IDISIRKNDIKKYPIKNTISIPVINDIDITSCINASVNTIQKIDIDIRWAKNIDIKSTIDITQICIKYQITIDIPHYITRIG
IDAGITIDAVMVIDIDICCHITSCCSCIKKCCSCGSCCKIDIDIDISIPVIRKWKIDIT

[0327] SEQ ID NO: 11 對應於SEQ ID NO: 6之胺基酸序列
(融合蛋白HPV16L1/SARS-CoV-2棘蛋白核 經最佳化以用於在巴斯
德克馬格特勒酵母中之表現且含有BstBI及NotI單選殖位點)。

MSIIRIPSKATVITLPPVIVSKVVSITDKYVARINITYIAGTISRIITAVGDPYDITLKKIPNNNKIIVPKVSCIQYRWVRV
IDIPDPNKGCIPIPTSTYNPKPQRIVWACACVKGCHGQPIICVCTSCGHPYNNKIDDPKSSHAATSNVSKDVIRDNVSVN
YKQIQICITGCKPIIGIINCKGSPCITNVAVNIDGICPPPIIQQIRNVYIKDGIMWITCYGANDDSTIQANKSIWPIIJC
TSTCKYIPDYIDMVSIPYGDISTITIDIRKQIPVVIDIPNRACAVGKNVPIIDITIKCSGSEIANTASSNDIPPIPSGSHV
TSDAQIIPNKPYWIDKRAQCINNGICWGNQIIVYVVIPIRSTINMSTCAATSTISKIPCKKIDNDIKYIRDCIICQDITQI
IPQICKIDITIDAVMVIDIISHNSTIDIPKINICIQIPREGITIDITIRPVITSQATACQKIDIPAPKIDIPDKYDIPWAVN
IRKNDISADIDQIPICGRKPIIQAQIKAKIPPIIGIRKATIPITSSITSTPAKRRKRIIVETVITDIPVSSQCVNITPIR
ITQIPPATINSITRCVYDPIKVRSSVITDSTQIIPITPIISNVITQIDALDVSCINCIKRIKIDNPVITPIIDGVYDASTK

KSNLDRGHQ:GTFIDJDSKIQSTJLIVNNATNVVTKVCK:QICNDPHTGVYTDKNNKSNMKSH:RVYSSANNCTD:KYV
SQPHIMDIKCKQGN:KNNH:V:KNDICGY:KLYSKD:PDNDVRDIPQCHSAI:KPIVDIPICTNDTH:QPICTAJAR
SYD:JRGDSSSEWJACAAAYVGY:QPRD:TKYN:NGCTTHDAVDCATDPI:SKPKCT:KSH:TVKRCI:YQTSND:RVQ
PIKSTVIRPHEN:IND:CPH:GV:NATD:ASVYAHNRKRI:SNCAVDYSVI:YNSASI:STH:KCYGVS:PIKINDI:CH:ENVY
ADSI:VDRCI:KVRQIAPCQ:TKCTADYNYKI:PDID:TCVTAHNSNN:DSKVCGRNYNY:YRI:KRSNI:KPIHNDI:STK
LYQAGS:TH:CNCGV:KCH:NCY:PI:QSYG:QPI:NGVGYQPI:RVVV:SH:CTJ:DA:PA:VCCPKKSTNI:VKNKCVN:ND:NGI
TC:GV:TKSNKK:PI:QQ:GRD:ADIT:DAVRDIPQI:K:IDIT:PCSH:GGVSVIT:PGINT:SNQVAVI:YQI:VNCI:KVP
VAIDADQ:IDPI:WRVYST:CSNV:QIRACCI:JGAKIVANSYK:CH:PI:GAGI:CASYQ:QINS:PRRARSVASQS:IAYT
HST:GAKNSVAYSNNSTAD:PI:ND:TI:SVIT:KCT:PVSM:KISVDC:HY:ICGDS:KCSNI:IT:QYCS:CH:QI:NRAT:IGIA
V:QDKNT:Q:VI:AGVKQI:YK:PI:KDI:CG:ND:SQ:ID:PI:PSK:SKRS:TH:ID:J:KRV:TA:AGI:TKQY:G:CT:GD:IAA
RD:J:CAQK:NGI:IV:PI:PI:J:J:KMLAQY:TSAT:AGCT:SCW:K:GAGAAT:QI:PHAMQ:MAXR:NGI:CVI:QNV:YK:KQK
I:JANQENSAT:GKI:QDSI:SS:IASAT:GKI:QVYNQNAQAI:ND:VKQI:SSNI:CAT:SSVI:ND:ISRI:DKV:KAVQI:DR
I:IGRI:QST:QI:TVY:QQI:JRAAK:IRASANI:AA:TKMSKCVI:EQSKRV:DCCK:YI:MSH:QSAPI:GCVI:JIV:VYVPAQ
KKN:TH:APAT:CHDCKAD:PI:KGV:VSNCT:ND:V:QRM:Y:K:Q:ID:ID:ND:V:SONC:VVT:GV:VNNI:VYD:PI:QPI:J
SH:KCT:KRY:KNDI:SP:VDI:GDI:SCINASVYNT:QK:ID:RI:KAVKNT:KST:ID:ID:QI:GKY:QYI:KMPWY:ND:GDI
AGI:JAD:VHVIT:IM:CCM:SCCSCI:KCCSCGSCCK:ID:ID:DSK:PI:KGVKI:JY:PA

[(0328)| SEQ ID NO: 12 對應於SEQ ID NO: 8之胺基酸序列

(融合蛋白LUBSAg/SARS-CoV-2棘蛋白 經最佳化以用於在人類

(293F)中之表現且含有NheI及NotI單選殖位點)。

MMN:CGTFVCLGMSQSPTSNBSPTSCPI:TCPGYRMMCH:RR:ID:PI:PI:J:J:CI:PI:J:V:V:J:YQGM:PVCP:ID:PS
STH:STG:PICT:TH:PAQCT:SHY:SCCT:KPS:IDGCT:CT:ID:SSNA:FGD:TH:KASAR:SH:V:PI:VD:J:J:WSSQCVNI
TH:RI:QI:PPAT:NSI:TRGVY:Y:KVI:R:SSVI:J:ST:QDI:K:PI:PSNY:TH:DA:IDWSC:NG:K:K:ND:PI:J:PI:ND:GV:DA
SH:KSNLDRGHQ:GTFIDJDSKIQSTJLIVNNATNVVTKVCK:QICNDPHTGVYTDKNNKSNMKSH:RVYSSANNCTD:
KYVSQPHIMDIKCKQGN:KNNH:V:KNDICGY:KLYSKD:PDNDVRDIPQCHSAI:KPIVDIPICTNDTH:QPICTAJAR
SYD:JRGDSSSEWJACAAAYVGY:QPRD:TKYN:NGCTTHDAVDCATDPI:SKPKCT:KSH:TVKRCI:YQTSND:
RVQPIKSTVIRPHEN:IND:CPH:GV:NATD:ASVYAHNRKRI:SNCAVDYSVI:YNSASI:STH:KCYGVS:PIKINDI:CH:
ENVYADSI:VDRCI:KVRQIAPCQ:TKCTADYNYKI:PDID:TCVTAHNSNN:DSKVCGRNYNY:YRI:KRSNI:KPIHNDI:
STKLYQAGS:TH:CNCGV:KCH:NCY:PI:QSYG:QPI:NGVGYQPI:RVVV:SH:CTJ:DA:PA:VCCPKKSTNI:VKNKCVN:ND:
NGI:TC:GV:TKSNKK:PI:QQ:GRD:ADIT:DAVRDIPQI:K:IDIT:PCSH:GGVSVIT:PGINT:SNQVAVI:YQI:VNCI:
KVPVAIDADQ:IDPI:WRVYST:CSNV:QIRACCI:JGAKIVANSYK:CH:PI:GAGI:CASYQ:QINS:PRRARSVASQS:IA
AYTHST:GAKNSVAYSNNSTAD:PI:ND:TI:SVIT:KCT:PVSM:KISVDC:HY:ICGDS:KCSNI:IT:QYCS:CH:QI:NRAT:
IGIAV:QDKNT:Q:VI:AGVKQI:YK:PI:KDI:CG:ND:SQ:ID:PI:PSK:SKRS:TH:ID:J:KRV:TA:AGI:TKQY:G:CT:GD:IAA
RD:J:CAQK:NGI:IV:PI:PI:J:J:KMLAQY:TSAT:AGCT:SCW:K:GAGAAT:QI:PHAMQ:MAXR:NGI:CVI:QNV:YK:KQK
I:JANQENSAT:GKI:QDSI:SS:IASAT:GKI:QVYNQNAQAI:ND:VKQI:SSNI:CAT:SSVI:ND:ISRI:DKV:KAVQI:DR
I:IGRI:QST:QI:TVY:QQI:JRAAK:IRASANI:AA:TKMSKCVI:EQSKRV:DCCK:YI:MSH:QSAPI:GCVI:JIV:VYVPAQ
KKN:TH:APAT:CHDCKAD:PI:KGV:VSNCT:ND:V:QRM:Y:K:Q:ID:ID:ND:V:SONC:VVT:GV:VNNI:VYD:PI:QPI:
KID:SP:KMK:KRY:KNDI:SP:VDI:GDI:SCINASVYNT:QK:ID:RI:KAVKNT:KST:ID:ID:QI:GKY:QYI:KMPWY:ND:
GDI:AGI:JAD:VHVIT:IM:CCM:SCCSCI:KCCSCGSCCK:ID:ID:DSK:PI:KGVKI:JY:PA

[(0329)| SEQ ID NO: 13 RBD SARS-CoV-2棘蛋白核酸序列

GCTAGCGACgccacc**ATG**AGAGTCCAACCAACAGAATCTATTGTTAGATT
TCCTAATATTACAACTTGTGCCCTTTTGGTGAAGTTTTTAACGCCACCA
GATTTGCATCTGTTTATGCTTGGAACAGGAAGAGAATCAGCAACTGTGTT
GCTGATTATTCTGTCTATATAATTCCGCATCATTTTCCACTTTTAAGTG
TTATGGAGTGTCTCCTACTAAATTAAATGATCTCTGCTTTACTAATGTCT
ATGCAGATTCATTTGTAATTAGAGGTGATGAAGTCAGACAAATCGCTCCA
GGGCAAACCTGGAAAGATTGCTGATTATAATTATAAATTACCAGATGATTT
TACAGGCTGCGTTATAGCTTGGAATTCTAACAATCTTGATTCTAAGGTTG
GTGGTAATTATAATTACCTGTATAGATTGTTTAGGAAGTCTAATCTCAAA
CCTTTTGAGAGAGATATTTCAACTGAAATCTATCAGGCCGGTAGCACACC
TTGTAATGGTGTGGAAGTTTTAATTGTTACTTTCCTTTACAATCATATG
GTTTCCAACCCACTAATGGTGTGTTGGTTACCAACCATAACAGAGTAGTAGTA
CTTTCTTTTGAACCTCTACATGCACCAGCAACTGTTTGTGGACCTAAAAA
GtgataaGCGGCCGC

【0330】 在起始ATG (粗體)之前添加KOZAC序列(gcc acc，加底線)。

【0331】 在NotI之前添加分泌形式tga taa (加雙底線)，此tga taa序列係「雙終止密碼子」結構組元，該結構組元中斷蛋白質合成、促進分泌至細胞外介質內(如下文描述，亦包括在其他序列中)。

【0332】 已分別於5'端NheI處及於3'端NotI處添加獨特之限制性位點(加虛底線)

【0333】 SEQ ID NO: 14-RBD SARS-CoV-2棘蛋白核酸序列-經人類密碼子最佳化以用於293F (HEK)細胞表現。

GCTAGCGACgccacc**ATG**AGAGTGCAGCCTACAGAGTCTATCGTGCGGTTCCCAACATCACCAATCTGTGCCC
TTTCGGCGAGGTGTTCAACGCCACAAGATTTGCCAGCGTGTACGCCTGGAACCGGAAGAGAATCAGCAACTG
CGTGGCCGACTACAGCGTGCTGTACAATAGCGCCAGCTTCAGCACCTTCAAGTGCTACGGCGTGTCCTACC
AAGCTGAACGACCTGTGCTTCACCAATGTGTACGCCGACAGCTTCGTGATCAGAGGCGACGAAGTTCGGCAG
ATCGCTCCTGGACAGACAGGCAAGATCGCCGATTACAACCTACAAGCTGCCCGACGACTTCACCGGCTGCGTGA
TCGCCTGGAATAGCAACAACCTGGACAGCAAAGTCGGCGGCAACTACAACCTACCTGTACCGGCTGTTCCGGA
AGTCCAACCTGAAGCCTTTCGAGCGGGACATCAGCACCGAGATCTATCAGGCCGGCAGCACCCCTTGTAATGG
CGTGGAAGGCTTCAACTGCTACTTCCCACTGCAGTCTACGGCTTCAGCCTACAAACGGCGTGCGGCTACCG
CCTATAGAGTGGTGGTGCTGAGCTTCGAACTGCTGCATGCCCTGCTACAGTGTGCGGCCCAAGAAGtga
taaGCGGCCGC

【0334】 在起始ATG (粗體)之前添加KOZAC序列(gcc acc，加底線)。

[0335] 在NotI之前添加分泌形式1ga 1aa (加雙底線)

[0336] 已分別於5'端NheI處及於3'端NotI處添加獨特之限制性位點(加虛底線)

[0337] SEQ ID NO: 15 對應於SEQ ID NO: 13及14之RBD SARS-CoV-2棘蛋白胺基酸序列

MRVQPTTSVRFPNITNLCPEGEVFNIATRFASVYAWNRIKRISNCVADYSVLVNSASFSSTFKCYGVSPITKJNDLCFIN
VYADSEVIRGDEVROQLAPGQITGKIADYNYKLPDDFTGCVLAWNSINILDSKVGGMVNYLYRIFRISNLIKPFERDISTEI
YQAGSTPCNIGVEGFNCYFPIQSYGFDPTNGVGYQPYRWVLSFEILHAPATVCGPKK

[0338] SEQ ID NO: 16 剛性EAAAK連接子一致胺基酸序列

$A(EAAAK)_nA$ ($n = 2$ 至5)

[0339] SEQ ID NO: 17 剛性(EAAAK)₃連接子核酸序列

GAA GCC GCC GCT AAA GAG GCC GCT GCC AAA GAA GCT
GCT GCT AAG

[0340] SEQ ID NO: 18 剛性(EAAAK)₃連接子胺基酸序列

EAAAKEAAAKEAAAK

[0341] SEQ ID NO: 19 可撓性GS_n連接子一致胺基酸序列

$(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)_n$ ($n = 1$ 至6)

[0342] SEQ ID NO: 20 可撓性GS5 ((GGGS)₁)連接子胺基酸序
列

GGGS

[0343] SEQ ID NO: 21 可撓性GS10 ((GGGS)₂)連接子胺基酸序
列

GGGS GGGS

[0344] SEQ ID NO: 22 可撓性GS15 ((GGGS)₃)連接子核酸序列

GGT GGT GGT GGT AGC GGT GGT GGC GGT TCA GGT GGC

GGT GGT TCA

【0345】 SEQ ID NO: 23-可撓性GS15 ((GGGGS)₃)連接子胺基酸序列

GGGGS GGGGS GGGGS

【0346】 SEQ ID NO: 24-可撓性GS20 ((GGGGS)₄)連接子胺基酸序列

GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS

【0347】 SEQ ID NO: 25-可撓性GS25 ((GGGGS)₅)連接子胺基酸序列

GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS

【0348】 SEQ ID NO: 26-HBSAg-(EAAAK)₃-RBD核酸序列

GCTAGCGACgcccaccATGAAATTTCTCGGCGGCACAACAGTGTGCTGGGCCAGAAATAGCCAGTCTCCTACCAG
CAATCAGACGCCCCACCAGCTGTCTCCAACTGTCTCTGGCTACAGATGGATGTGCTTGGGGCGGTTCATCATCT
TTCTGTTCATCTTGCTGTGTGCTGATCTTCTGTCTGGTGTCTGTGGATTACCAGGGGAATGCTGCTGTGTGT
CCTCTGATCCCTGGCAGCAGCACAAACAGCACAGGCCCTTGCAGAACCTGCACAACACCAGCTCAGGGCACCA
GCATGTACCTTAGCTGTGTGTGTACCAAGCCTAGCGAAGGCAACTGCACATGCATCCCCATTCTAGCAGCTG
GGCTTTGGCAAGTTTCTGTGGGAATGGGCCAGCGCCAGATTTCGGAAGCGCGCGCTAAGAGAGGCGGTGTG
CAAGAAGCTGCTGCTAAGAGAGTGCAGGCCACCGAGTCTATCGTTGGGTTTCCCCAACATCACTAATCTGTG
CCCTTTGGCGAGGTGTCAACGCCACAAGATTGCCAGCGTGTACGCTTGGAACCGGAAGAGAAATCAGCAA
CTGCGTGGCGGACTACAGCGTGTGTACAATAGCGCCAGCTTCAGCACCTTCAAGTGTCTACGGCGTGTCTCCCT
ACCAAGCTGAACGACCTGTGCTTCACCAATGTGTACGCCGACAGCTTCGTGATCAGAGGGGACGMAAGTTCGG
CAGATCGCTCCTGGACAGACAGGCAAGATCGCGGATTACAACCTACAAGCTGCCCCAGCACTTCACCGGCTGC
GTGATCGCTTGGAAATAGCAACACCTGGACAGCAAGTTCGGCGGGCAACTACAACCTACCTGTACCGGCTGTCTCC
GGAAGTCCAACCTGAAGCTTTCCAGCGGGACATCAGCACCGAAATCTACCAGGCGCGGACAGCACCCCTTGT
ATGGCGTGGGAAGGCTTCAACTGTCTACTTCCACTGTGAGTCTTACGGGCTTCCAGGCTACAAACCGCGTGGGCTA
CCAGGCTTATAGAGTGGTGGTGTGTGAGCTTCGAACCTGCTGCATGCCCTGCTACAGTGTGCGGGCCCCAAGAAG
TgaTaaGCGGCGCGC

(0354) 在起始ATG (粗體)之前添加KozAC序列(gcc acc，加底線)。

(0355) 在NotI之前添加分泌形式1ga 1aa (加雙底線)

(0356) 已分別於5'端NheI處及於3'端NotI處添加獨特之限制性位點(加雙底線)

(0357) 加粗LLL加虛線底線之序列對應於(EAAAK)₃連接子。

(0358) SEQ ID NO: 28 對應於SEQ ID NO: 26及 27之HBSAg-(EAAAK)₃-RBD胺基酸序列

MINFIGGTTVCLGQNSQSPTSNHSPTSCFPTCPGYRWMCIRRFIIHFIIICIFIIIVLDYQGMIPLCPPIPGSSITS
TGPKRTCTTPAQGTSMYPSCCCTKPSIDGNCTCIPPSWAFGKFWWWASARFSEAAAKEAAAKEAAAKRVQPT
SIVRIIPNITNLCPFGVFNATRFASVYAWNIRKRISNCVADYSVIYNSASFSTFKCYGVSPTKINDICFINVYADSFVIR
GDEVQRQIAPGQIGKIDYNYKIPDDFTGCVIAWNSNINDSKVGGNYNYIYRIIRKSNIKPIERDISTEYQAGSIPC
NGVEGFNCTFPIQSYGRQPTNGVGVOQPYRWVISHHAPATVCGPKK

(0359) (EAAAK)₃連接子加底線。

(0360) SEQ ID NO: 29 HbV-GS15 RBD核酸序列

GAGCTCATGATGCACGTGACCGCTGTTTAAATCIGGCAGATACCGTGTAGGTGGTCTGCCGACCGAACIGATTAGCAGTGCCGGTGGTCAGCTGTTTTATAGCCGTCGGGTGTAGCGCAATGGTGAACCGACCGTTAAACTGTATACCAGCGTGGAAAATGCACAGCAGGATAAAGGTATTGCAATTCGCATGATATTGATCTGGGTGAAAGCGGTGTGTGATTACGGATTATGATAATCAGCATGAACAGGATCGTCCGACACCGAGTCCGGCACCAGACCGGTCCGTTAGCGTCTGGGTGCAAAATGATGTTCTGTGGCTGAGCGCTGACCGCAGCAGAAATATGATCAGAGCACCTATGGTAGCAGCACCGGTCCGGTTTTATGTTAGCGATAGCGTTACCCGGTTAATGTTGCAACCGGTGCACAGGCAGTTGCACGTAGCGCTGGATTGGACCAAAAGTGACCGCTGGATGGTCTCGTCCGCTGAGCACCAATTCAGCAGTATAGCAAAACCTTTTTGTTCIGCCGCTGGGTGGTAAACTGAGCTTTGGGAAGCAGGCACCACCAAAAGCAGGTTATCCGTATAACIATAATACCACCGCAAGCGATCAGCTGCTGGTTGAAAACGCAGCAGGTCATCGTGTGTGCAATTAGCACCTATACCACAGTTTAGGTGCAGGTCCGGTAGCATTAGCGCAGTTGCAGTCTGGCACCGCATTCAGCCGGTGGTGGTGGTAGCGGTGGTGGGGTTCAGGTTGGGGTGGTTCAGGTTTCAGCCGACAGAAAGCAATGTTCGTTTTCCGAATAACCAATCTGTGTCCGTTGGCGAAGTTTAAATGCAACCGGTTTGCAGCGGTTATGCGCTGGAAATCGTAAACGTAATTAGCAATTGCGTTGCCGATTATAGCGTGTCTGTATAATAGCGCAAGCTTAGCACCTTAAATGCTATGGTGTAGCCCGACCAAACTGAATGATCTGTGTTTACCAATGTGTATGCCGATAGCTTTGTGATTCGTGGTGATGAAGTTCCGTACAGATTGCACCGGGTCCAGACCGGTAAATTCAGATTATAACTACAAACIGCCGGATGATTTACGGGTGGTGTATTGCAATGGAATAGCAATAACCTGGATAGCAAAAGTGGTGGCAACTATAACTATCTGTATCGCGCTGTTTCGTAAGAGCAATCTGAACCGGTTGAACGTGATATTAGCACCGAAATTTATCAGGCCAGGTAGCACCCCGTGCAATGGTGTGGAAGGTTTTAATGTTAATTTCCGCTGCAGAGCTATGTTTTCAGCCCTACCAATGGTGTGGGTATTCAGCCGATCGTGTGTGTGTCTGTCAATTGAACIGCTGCATGCACCGGCAACCGTTGTGGTCCGAAAAAALgaLaaGCGGCCGC

〔0366〕 起始ATG (粗體)

〔0367〕 在NoII之前添加分泌形式1ga 1aa (加雙底線)

〔0368〕 已分別於5'端SacI處及於3'端NoII處添加獨特之限制性位點(加虛底線)

〔0369〕 加粗LLL加虛線底線之序列對應於GS15連接子。

〔0370〕 SEQ ID NO: 31 對應於SEQ ID NO: 29及30之HEV-GS15。

EBD胺基酸序列

MIATLTENIADITLGGIPTEISSAGGQIYSRPVVSANGEPVVKIYISVENAQQDKGIAIPHDDIGESRVVIQDYD
NQHFQDHRFITSPAPSRPFVIRANDVIMWISLTAAEYDQSTYGSSTGPVTVSDSVITVNVATGAQAVARSDWTKV
TLDGRPLSTIQQYSKTFVILRGKISFWIEAGITKAGYPYNYNTTASDQILVENAAGHRAISTYTTSLGAGPVSISA
VAVIAPHSAGGGGSGGGGSGGGGSRVQPTFSVIRFPNITNLCPFGVEVFNAIRFASVYAWNRRKRISNCVADYSVLY
NSASFSTFKCYGVSPFKLNIDLCFTNYYADSFVRGDEVROJAPGQTGKIADYNYKIPDDFTGCVIAWNSNNLDSKV
GGNYNYLYRIIRKSNLKPFRDISTEYQAGSTPCINGVEGFNCYTPIQSYGIFQPTINGVGYQPYRVVVISFEJLIAPA
TVCGPKK

〔0371〕 GS15連接子加底線

〔0372〕 SEQ ID NO: 32 EBSAg (EAAAK)₃ 全長SARS-CoV-2棘蛋白核酸序列，經人類密碼子最佳化以用於293f (HEK)細胞表現

AAGCTTGCCgcccacc**ATG**GAGAACATCACATCAGGATTCCCTAGGACCCCTGCTCGTGTTACAGGCGGG
GTTTTTCTTGTTGACAAGAATCCTCACAATACCACAGAGTCTAGACTCGTGGTGGACTTCTCTCAATT
TTCTAGGGGGATCACCCGTGTGTCTGGGGCCAAAATTGCGAGTCCCCAACCTCCAATCACTCACCAACC
TCTTGTCTCTCAATTTGTCTGGCTATCGCTGGATGTGTCTGCGGCGTTTTATCATATTCCTCTTCAT
CCTGCTGCTATGCCTCATCTTCTTGTGTTCTTCTGGACTACCAGGGTATGTTGCCCGTTTGTCTCTC
TAATTCAGGATCAACAACCTACCAACACGGGACCATGCAAGACCTGCACGACTCCTGCTCAAGGAAAC
TCTATGTTTCCCTCTTGTGCTGTACAAAACCTACCGACGGAAACTGCACTTGTATTCCCATCCCATC
ATCCTGGGCTTTTCGCAAAATACCTATGGGAGTGGGCCTCAGTCCGTTTCTCCTGGCTCAGTTTACTAG
TGCCATTTGTTTCAGTGGTTTCGTAGGGCTTTCCCCCACTGTTTGGCTTTCCGCTATATGGATGATGTGG
TATTGGGGGCCAAGTCTGTACAGCATCGTGAGTCCCTTTATACCTCTATTACCAATTTTCTTTTGTCT
TTGGGTATACATT**GAGGCTGCCGCAAAGGAAGCCGCAGCTAAAGAGGCAGCTGCCAAG**TTTCGTGTTCC
TGGTTCTGCTGCCCCCTGGTGTCTAGCCAGTGCCTGAACCTGACCACCAGAACACAGCTGCCTCCAGCC
TACACCAACAGCTTCACCAGAGGCGTGTACTACCCCGACAAGGTGTTCCGGTCTCCTCCGTGCTGCATTC
TACCCAGGACCTGTTCTGCTTTCTTCTCCAACGTGACCTGGTTCCACGCCATCCATGTGTCTGGCA
CCAACGGCACCAAGAGATTGACAACCCCGTGCTGCCTTTCAACGACGGGGTGTACTTTGCCTCCACC
GAGAAGTCCAACATCATCAGAGGCTGGATCTTCGGCACAACCCCTGGACAGCAAGACCCAGAGCCTGCT
GATCGTGAACAACGCCACCAACGTGGTCATCAAAGTGTGCGAGTTCCAGTTCTGCAACGACCCCTTCC
TGGGCGTCTACTACCACAAGAACAACAAGTCTGGATGGAATCCGAGTTCCGGGTGTACTCCTCCGCC
AACAACCTGCACCTTCGAATAACGTGTCCCAGCCTTTCTGATGGACCTGGAAGGCAAGCAGGGCAACTT
CAAGAACCTGCGCGAGTTTCGTGTTCAAGAACATCGACGGCTACTTCAAGATCTACTCCAAGCACACCC
CTATCAACCTCGTGCGGGATCTGCCTCAGGGCTTCTCTGCTCTGGAACCCCTGGTGGATCTGCCCATC
GGCATCAACATCACCCGGTTTCAGACCCTGCTGGCCCTGCACCGGTCTTATTTGACCCCTGGCGACTC
CTCTTCTGGCTGGACTGCTGGCGCCGCTGCTTACTATGTGGGCTACCTGCAGCCTCGGACCTTTCTGC
TGAAGTACAACGAGAATGGCACCATCACCGACGCCGTGGACTGTGCTCTGGATCCTCTGTCCGAGACA
AAGTGCACCCTGAAGTCCTTCACCGTGGAAAAGGGCATCTACCAGACCTCCAACCTCCGGGTGCAGCC
CACCGAGTCTATCGTGCGGTTCCCTAACATCACCAACCTGTGTCTTTTCGGCGAGGTGTTCAATGCCA
CCAGATTGCGCTCTGTGTACGCCCTGGAACCGGAAGCGGATCTCTAACTGCGTGGCCGACTACAGCGTG

CTGTACAACTCCGCTCCTTCAGCACCTTCAAGTGCTACGGCGTGTCCTTACAAAGCTGAACGACCT
GTGCTTCACAAACGTGTACGCCGACAGCTTCGTGATCCGGGGAGATGAAGTGCGGCAGATCGCTCCTG
GACAGACCGGCAAGATCGCCGATTACAACCTACAAGCTGCCCGACGACTTCACCGGCTGTGTGATCGCT
TGGAACCTCCAACAACCTGGACTCCAAAGTCGGCGGCAACTACAACCTACCTGTACCGGCTGTTCCGGAA
GTCTAACCTGAAGCCTTTTCGAGCGGGACATCAGCACCGAGATCTACCAGGCTGGCAGCACCCCTTGTA
ACGGCGTGGAAGGCTTCAACTGCTACTTCCCCTGTCAGTCTTACGGCTTTTACGCTACCAATGGCGTG
GGCTATCAGCCCTACAGAGTGCTGGTGCTGTCTTCGAGCTGCTGCATGCTCCTGCTACCGTGTGCGG
CCCTAAGAAATCTACCAACCTGGTCAAGAACAATGCGTGAACTTCAACTTCAACGGCCTGACCGGCA
CCGGCGTGCTGACAGAGTCCAACAAGAAGTTCCTGCCATTCCAGCAGTTCGGCCGGGATATCGCCGAT
ACCACAGATGCCGTGAGGGACCCCTCAGACACTGGAAATCCTGGACATCACCCCTTGCTCCTTCGGCGG
AGTGTCTGTGATCACCCAGGCACCAACACCTCTAACAGGTGGCCGTGCTGTATCAGGACGTGAACT
GTACCGAGGTGCCCGTGGCTATCCATGCCGATCAGCTGACCCCTACATGGCGCGTGTACTCCACCGGC
TCTAACGTGTTCCAGACAAGAGCTGGCTGTCTGATCGGCGCTGAGCACGTGAACAATTCTACGAGTG
CGACATCCCCATCGGAGCCGGAATCTGCGCCTCTTATCAGACCCAGACCAACTCTCCAGACGGGCCA
GATCTGTGGCCAGCCAGTCTATCATTGCTTACACCATGAGCCTGGGCGCCGAGAACTCTGTGGCCTAC
AGCAACAACCTCTATCGCTATCCCCACCAACTTCACCATCTCCGTGACCACAGAGATCCTGCCAGTGT
CATGACCAAGACCAGCGTGGACTGCACCATGTACATCTGCGGCGACTCTACCGAGTGCTCCAACCTGC
TGCTCCAGTACGGCTCCTTCTGCACCCAGCTGAATAGAGCCCTGACCGGAATCGCCGTGGAACAGGAC
AAGAACACCCAAGAGGTGTTGCCCCAAGTGAAGCAGATCTACAAGACCCCTCCTATCAAGGACTTCGG
CGGCTTCAATTTCTCCAGATTCTGCCCGATCCTAGCAAGCCCTCCAAGCGGTCTTTTCATCGAGGACC
TGCTGTTCAACAAAGTGACACTGGCCGACGCCGGCTTCATCAAGCAGTACGGCGACTGTCTGGGCGAC
ATTGCCGCTAGGGATCTGATCTGCGCCAGAAAGTTTAAAGGACTGACAGTGCTGCCTCCTCTGCTGAC
CGATGAGATGATCGCCAGTACACCTCCGCACTGCTGGCTGGCACAATCACCTCTGGATGGACATTTG
GCGCTGGCGCTGCTCTGCAAATCCCATTGCTATGCAAATGGCCTACCGGTTCAACGGCATCGGCGTG
ACCCAGAATGTGCTGTACGAGAACCAGAAGCTGATCGCCAACCAGTTCAACAGCGCCATCGGAAAGAT
CCAGGACAGCCTGTCCAGCACCGCTTCTGCCCTGGGAAAGCTGCAGGATGTGGTCAACCAGAACGCTC
AGGCCCTGAACACCCCTCGTGAAGCAGCTGTCTAGCAACTTCGGCGCCATCTCCTCTGTGCTGAACGAT
ATCCTGAGCCGGCTGGACAAGGTGGAAGCCGAGGTGCAGATCGACAGACTGATCACCGGACGGCTGCA
GTCCCTGCAGACCTATGTTACCCAGCAGCTGATCCGGGCTGCCGAGATTAGAGCCTCTGCCAATCTGG
CCGCAACCAAGATGTCTGAGTGTGTGCTGGGACAGTCCAAGAGAGTGGACTTCTGCGGCAAGGGCTAC
CACCTGATGAGCTTCCCTCAGTCTGCTCCTCACGGCGTGGTGTCTTCTGCACGTGACCTACGTGCCCGC
TCAAGAGAAGAACTTTACCAACCGCTCCTGCCATCTGCCACGACGGCAAGGCTCACTTTCTAGAGAAG
GCGTGTTCTGTCTAACGGCACCCATTGGTTCTGTACACAGCGGAACTTCTACGAGCCCCAGATCATC
ACCACCGACAACACCTTCGTGTCCGGCAACTGCGACGTCTGTGATCGGAATTGTGAACAATACCGTGTA
CGACCCTCTGCAGCCCGAGCTGGACTCCTTCAAAGAGGAACTGGACAAGTACTTTAAGAACCACACAA
GCCCCGACGTGGACCTGGGAGACATCTCTGGCATCAACGCCTCCGTGGTCAACATCCAGAAAGAGATC
GACCGGCTGAACGAGGTGGCCAAGAATCTGAACGAGTCCCTGATCGACCTGCAAGAAGTGGGGAAGTA
CGAGCAGTACATCAAGTGGCCCTGGTACATCTGGCTGGGCTTTATCGCTGGCCTGATCGCTATCGTGA
TGGTCACAATCATGCTGTGCTGTATGACCTCCTGTTGCTCCTGCCTGAAGGGCTGCTGCTCTTGCGGC
TCTTGCTGCAAGTTCGACGAGGACGACTCTGAGCCCGTGCTGAAAGGCGTGAAGCTGCACTATACCTG
ATGACTCGAG

【0373】 在起始ATG (粗體)之前添加KOZAC序列(gcc acc，加底線)。

【0374】 加粗且加虛線底線之序列對應於(EAAAK)₃連接子。

【0375】 SEQ ID NO: 33-對應於SEQ ID NO: 32之HBSAg-(EAAAK)₃-全長2019-nCoV棘蛋白胺基酸序列

【序列表】

<110> 美商斯派克納有限公司(Spicona Inc.)

<120> 組合疫苗

<130> P67254WO

<150> GB 2010425.3

<151> 2020-07-07

<160> 33

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1273

<212> PRT

<213> SARS-CoV-2

<400> 1

Met Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val
1 5 10 15

Asn Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe
20 25 30

Thr Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu
35 40 45

His Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp
50 55 60

Phe His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp
65 70 75 80

Asn Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu
85 90 95

Lys Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser
100 105 110

Lys Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile
115 120 125

Lys Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr
130 135 140

Tyr His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr
145 150 155 160

Ser Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu
165 170 175

Met Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe
180 185 190

Val Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr
195 200 205

Pro Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu
210 215 220

Pro Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr
225 230 235 240

Leu Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser
245 250 255

Gly Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro
260 265 270

Arg Thr Phe Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala
275 280 285

Val Asp Cys Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys
290 295 300

Ser Phe Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val

305 310 315 320

Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys
325 330 335

Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala
340 345 350

Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu
355 360 365

Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro
370 375 380

Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe
385 390 395 400

Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly
405 410 415

Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys
420 425 430

Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn
435 440 445

Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe
450 455 460

Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys
465 470 475 480

Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly
485 490 495

Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val
500 505 510

Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys
515 520 525

Lys Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn
530 535 540

Gly Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu
545 550 555 560

Pro Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val
565 570 575

Arg Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe
580 585 590

Gly Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val
595 600 605

Ala Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile
610 615 620

His Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser
625 630 635 640

Asn Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val
645 650 655

Asn Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala
660 665 670

Ser Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala
675 680 685

Ser Gln Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser
690 695 700

Val Ala Tyr Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile

705 710 715 720

Ser Val Thr Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val
725 730 735

Asp Cys Thr Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu
740 745 750

Leu Leu Gln Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr
755 760 765

Gly Ile Ala Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln
770 775 780

Val Lys Gln Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe
785 790 795 800

Asn Phe Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser
805 810 815

Phe Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly
820 825 830

Phe Ile Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp
835 840 845

Leu Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu
850 855 860

Leu Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly
865 870 875 880

Thr Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile
885 890 895

Pro Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr
900 905 910

Gln Asn Val Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn
915 920 925

Ser Ala Ile Gly Lys Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala
930 935 940

Leu Gly Lys Leu Gln Asp Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn
945 950 955 960

Thr Leu Val Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val
965 970 975

Leu Asn Asp Ile Leu Ser Arg Leu Asp Lys Val Glu Ala Glu Val Gln
980 985 990

Ile Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val
995 1000 1005

Thr Gln Gln Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn
1010 1015 1020

Leu Ala Ala Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys
1025 1030 1035

Arg Val Asp Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro
1040 1045 1050

Gln Ser Ala Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val
1055 1060 1065

Pro Ala Gln Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His
1070 1075 1080

Asp Gly Lys Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn
1085 1090 1095

Gly Thr His Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln

1100	1105	1110
Ile Ile Thr Thr Asp Asn Thr Phe Val Ser Gly Asn Cys Asp Val		
1115	1120	1125
Val Ile Gly Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro		
1130	1135	1140
Glu Leu Asp Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn		
1145	1150	1155
His Thr Ser Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn		
1160	1165	1170
Ala Ser Val Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu		
1175	1180	1185
Val Ala Lys Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu		
1190	1195	1200
Gly Lys Tyr Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu		
1205	1210	1215
Gly Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met		
1220	1225	1230
Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys		
1235	1240	1245
Ser Cys Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro		
1250	1255	1260
Val Leu Lys Gly Val Lys Leu His Tyr Thr		
1265	1270	

<210> 2
<211> 3839
<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> SARS-CoV2棘蛋白核酸-經最佳化以用於大腸桿菌表現

<400> 2

gagctcatgt ttgttttctt ggttctgctg ccgctggta gcagccagtg tgttaatctg	60
accacacgta cccagctgcc tccggcatat accaatagct ttacccgtgg tgtttattat	120
ccggacaaag tttttcgtag cagcgttctg catagcacc aggacctgtt tctgccgttt	180
tttagcaatg ttacctgggt tcatgccatt catgttagcg gcaccaatgg caccaaactg	240
tttgataatc cggctctgcc gtttaatgat ggtgtgtatt ttgcaagcac cgaaaaaagc	300
aacattattc gcggttggtt ttttggtaac accctggata gcaaaaccca gagcctgctg	360
attgttaata atgccaccaa tgtgggtgat aaagtgtgag aatttcagtt ttgcaatgat	420
ccgtttctgg gcgtgtatta ccacaaaaat aacaagagct ggatggaaag cgaatttcgt	480
gtttatagca gcgccaataa ttgcaccttt gaatatgta gccagccgtt tctgatggat	540
ctggaaggta aacagggtta ctttaaaaac ctgcgcgagt tcgtgttcaa aaacatcgat	600
ggttacttca aaatctatag caaacacacc ccgattaatc tggttcgtga tctgccgcag	660
ggtttttagcg cactggaacc gctgggtgat ctgccaattg gtattaatat taccgtttt	720
cagacctgc tggcactgca tcgtagctat ctgacaccgg gtgatagcag cagcggttgg	780
accgcaggcg cagcagcata ttatgttggg tatctgcagc ctctacatt tctgctgaaa	840
tataacgaaa atggcacaat taccgatgcc gttgattgtg ccctggatcc gctgagcgaa	900
accaaagtga ccctgaaaag ctttaccgtt gagaaaggta ttatcagac cagcaatttt	960
cgtgtgcagc cgaccgaaag cattgttcgt ttccgaata tcaccaatct gtgtccgttt	1020
ggcgaagttt ttaatgcaac ccgttttgc agcgtttatg catggaatcg taaacgtatt	1080
agcaattgcg ttgccgatta tagcgttctg tataatagcg caagcttcag caccittaaa	1140
tgctatggtg ttagcccgac caaactgaat gatctgtgtt ttaccaatgt gtatgccgat	1200
agctttgtga ttctgtgtga tgaagttcgt cagattgcac cgggtcagac cggtaaaatt	1260
gcagattata actataaact gccggatgat ttacgggtt gtgttattgc ctggaatagc	1320

aataatctgg acagcaaagt tgggtggcaac tataactatc tgtatcgccct gtttcgtaag	1380
agcaatctga aaccgtttga acgtgatatt agcaccgaga tttatcaggc aggtagcacc	1440
ccgtgtaatg gtgttgaagg ttttaattgc tattttccgc tgcagagcta tggttttcag	1500
ccgacaaatg gtgtgggtta tcagccgtat cgtgttgttg ttctgtcatt tgaactgctg	1560
catgcaccgg caaccgtttg tgggtccgaaa aaaagtacca atctggtgaa aaataagtgc	1620
gtgaacttta actttaatgg tctgaccggc accggtgttc tgaccgaaag taacaaaaaa	1680
ttcttgccgt ttcagcagtt tggccgtgat attgcagata ccaccgatgc agttcgcgat	1740
ccgcagacac tggaaattct ggatattacc ccgtgcagct ttggtgggtgt ttcagttatt	1800
acaccgggta caaataccag caatcaggtt gcagttctgt atcaggatgt taattgtacc	1860
gaagttccgg ttgcaattca tgcagatcag ctgaccccgga cctggcgtgt gtatagcacc	1920
ggtagcaatg tgtttcagac acgtgcaggt tgtctgattg gtgcagaaca tgtgaataat	1980
agctatgaat gcgatattcc gattgggtgcg ggtatttttg ccagctatca gaccagacc	2040
aatagtccgc gtcgtgcacg tagcgttgca agccagagca ttattgccta taccatgagc	2100
ctgggtgcag aaaatagcgt tgcctatagt aataacagca ttgccattcc gaccaacttt	2160
accattagcg ttaccaccga aattctgccg gttagcatga ccaaaaccag cgttgattgc	2220
accatgtata tttgtgggtga tagtaccgaa tgtagcaatc tgctgctgca gtatggtagc	2280
ttttgcacc agctgaatcg tgcactgacc ggtattgcag ttgaacagga taaaaacacg	2340
caagaagttt ttgcacaggt caagcagatc tataaaaccc ctccgattaa agattttggc	2400
ggtttcaatt ttagccagat cctgccggat ccgagcaaac cgagtaaacg tagctttatt	2460
gaagatctgc tgttcaacaa agtgaccctg gcagatgcag gttttatcaa acagtatggt	2520
gattgcctgg gcgatattgc cgcacgtgat ctgatttttg cacagaaatt taacggcctg	2580
accgttctgc ctccgtgct gaccgatgaa atgattgcac agtataccag cgcactgctg	2640
gcaggcacca ttaccagtgg ttggaccttt ggtgccggtg ccgcactgca gattccgttt	2700
gcaatgcaga tggcatatcg ttttaatggt attgggtgta ccagaaacgt gctgtatgaa	2760
aaccagaaac tgattgccaa ccagtttaat agcgccattg gcaaaattca ggatagcctg	2820

agcagcaccg caagtgcact gggtaaactg caggacgttg ttaatcagaa tgcacaggca 2880

ctgaataccc tggttaaaca gctgagcagt aattttggtg caatttcaag cgtgctgaac 2940

gatattctga gccgtctgga taaagttgaa gcagaagttc agattgatcg tctgattacc 3000

ggtcgtctgc aaagcctgca gacctatgtg acccagcagc tgattcgcgc agcagaaatt 3060

cgtgcaagcg caaatctggc agccaccaaa atgagcgaat gtgttctggg tcagagcaaa 3120

cgtgttgatt ttgctggcaa aggttatcac ctgatgagct ttccgcagag cgcaccgcat 3180

gggtttgtgt ttctgcatgt tacctatgtt ccggcacaag aaaaaactt tacaaccgct 3240

ccggcaattt gccatgatgg taaagcacat ttccgcgtg aagggtgttt tgttagtaat 3300

ggcaccatt ggtttggttac acagcgcaac ttttatgaac cgcagattat tacaaccgac 3360

aacacctttg ttagcggtaa ctgtgatgtt gtgattggca ttgtgaataa caccgtttat 3420

gatccactgc agccggaact ggatagcttt aaagaagaac tggacaaata tttcaaaaac 3480

cacaccagtc cggaigtgga tctgggtgat atttcaggta ttaatgccag cgtgggtgaac 3540

atccagaaag aaattgatcg cctgaatgaa gtggccaaaa atctgaatga aagcctgatt 3600

gatctgcaag aactggggaa atatgagcag tatatcaaat ggccgtggta tatttggtg 3660

ggttttattg caggcctgat tgcaattgtt atggtgacca ttatgctgtg ttgtatgacc 3720

agctgttgta gctgtctgaa aggtttgtgc agctgcggta gctgttgcaa atttgatgaa 3780

gatgatagcg aaccggtgct gaaagggtgt aaactgcatt atacctaatt agcggccgc 3839

<210> 3

<211> 4556

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> 編碼融合蛋白HEV-SARS-CoV-2棘蛋白之核酸-經最佳化以用於在大腸桿菌中之表現

<400> 3

gagtcatga ttgactgac cctgtttaat ctggcagata ccctgttagg tggctgccg 60

accgaactga ttagcagtgc cgggtggtcag ctgttttata gccgtccgtg tgtagcgca 120

aatggtgaac cgaccgttaa actgtatacc agcgttgaaa atgcacagca ggataaaggt	180
attgcaattc cgcatgatat tgatctgggt gaaagccgtg ttgtgattca ggattatgat	240
aatcagcatg aacaggatcg tccgacaccg agtccggcac cgagccgtcc gtttagcggt	300
ctgcgtgcaa atgatgttct gtggctgagc ctgaccgcag cagaatatga tcagagcacc	360
tatggtagca gcaccgggtcc ggtttatgtt agcgatagcg ttaccttgggt taatgttgca	420
accggtgcac aggcagttgc acgtagcctg gattggacca aagtgaccct ggatggtcgt	480
ccgctgagca ccattcagca gtatagcaaa accttttttg ttctgccgct gcgtggtaaa	540
ctgagctttt gggaagcagg caccaccaa gcaggttacc cgtataacta taataccacc	600
gcaagcgatc agctgctggt tgaaaacgca gcaggtcacc gtgttgcaat tagcacctat	660
accaccagtt taggtgcagg tccggttagc attagcgcag ttgcagttct ggcaccgcat	720
agcgcatttg ttttctggt tctgctgccg ctgggttagca gccagtgtgt taatctgacc	780
acacgtaccc agctgcctcc ggcatatacc aatagcttta cccgtgggtgt ttattatccg	840
gacaaagttt ttcttagcag cgttctgcat agcaccagg accgttttct gccgtttttt	900
agcaatgtta cctggtttca tgccattcat gttagcggca ccaatggcac caaacgtttt	960
gataatccgg tgctgccgtt taatgatggt gtgtattttg caagcaccga aaaaagcaac	1020
attattcgcg gttggatttt tggtaaac ctggatagca aaaccagag cctgctgatt	1080
gttaataatg ccaccaatgt ggtgatcaaa gtgtgcgaat ttcagttttg caatgatccg	1140
tttctgggcg tgtattacca caaaaataac aagagctgga tggaaagcga atttcgtgtt	1200
tatagcagcg ccaataattg cacctttgaa tatgttagcc agccgtttct gatggatctg	1260
gaaggtaaac agggtaactt taaaaacctg cgcgagttcg tgttcaaaaa catcgatggt	1320
tacttcaaaa tctatagcaa acacaccccg attaatctgg ttcgtgatct gccgcagggt	1380
tttagcgcac tggaaccgct ggttgatctg ccaattggta ttaacattac ccgttttcag	1440
acctgctgg cactgcatcg tagctatctg acaccgggtg atagcagcag cggttgacc	1500
gcaggcgcag cagcatatta tgttggttat ctgcagcctc gtacctttct gctgaaatat	1560
aacgaaaatg gcacaattac cgatgccgtt gattgtgccc tggatccgct gagcgaaacc	1620

aaatgtaccc tgaaaagctt taccgttgag aaaggtatit atcagaccag caattttcgt	1680
gtgcagccga ccgaaagcat tgttcgtttt ccgaatatca ccaatctgtg tccgtttggc	1740
gaagttttta atgcaacccg ttttgccagc gtttatgcat ggaatcgtaa acgtattagc	1800
aattgcgttg ccgattatag cgttctgtat aatagcgcaa gcttcagcac ctttaaatgc	1860
tatggtgtta gcccagccaa actgaatgat ctgtgtttta ccaatgtgta tgccgatagc	1920
tttgtgattc gtggtgatga agttcgtcag attgcaccgg gtcagaccgg taaaattgca	1980
gattataact ataaactgcc ggatgatitit acgggttggt ttattgcctg gaatagcaat	2040
aatctggaca gcaaagttgg tggcaactat aactatctgt atcgctgtt tcgtaagagc	2100
aatctgaaac cgtttgaacg tgatattagc accgagattt atcaggcagg tagcaccgcc	2160
tgtaatggtg ttgaaggttt taattgctat tttccgtgc agagctatgg ttttcagccg	2220
acaaatggtg tgggttatca gccgtatcgt gttgttggtc tgtcatttga actgctgcat	2280
gcaccggcaa ccgtttgtgg tccgaaaaaa agtaccaatc tggtgaaaaa taagtgcgtg	2340
aactttaact ttaatggtct gaccggcacc ggtgttctga ccgaaagtaa caaaaaattc	2400
ctgccgtttc agcagtttg ccgtgatatt gcagatacca ccgatgcagt tcgcgatccg	2460
cagacactgg aaattctgga tattaccccg tgcagctttg gtggtgtttc agttattaca	2520
ccgggtacaa ataccagcaa tcaggttgca gttctgtatc aggatgttaa ttgtaccgaa	2580
gttccggttg caattcatgc agatcagctg accccgacct ggcgtgtgta tagcaccggt	2640
agcaatgtgt ttcagacacg tgcaggttgt ctgattgggt cagaacatgt gaataatagc	2700
tatgaatgcg atattccgat tgggtcgggt atttgtgcca gctatcagac ccagaccaat	2760
agtccgcgtc gtgcacgtag cgttgcaagc cagagcatta ttgcctatac catgagcctg	2820
ggtgcagaaa atagcgttg ctatagtaat aacagcattg ccattccgac caactttacc	2880
attagcgta ccaccgaaat tctgccggtt agcatgacca aaaccagcgt tgattgcacc	2940
atgtatatit gtggtgatag taccgaatgt agcaatctgc tgctgcagta tggtagcttt	3000
tgcacccagc tgaatcgtgc actgaccggt attgcagttg aacaggataa aaacacgcaa	3060
gaagtttttg cacaggtaaa gcagatctat aaaaccctc cgattaaaga ttttggcgg	3120

ttcaatttta gccagatcct gccggatccg agcaaaccga gtaaacgtag ctttattgaa	3180
gatctgctgt tcaacaaagt gaccctggca gatgcagggt ttatcaaaca gtatggtgat	3240
tgcctgggcg atattgccgc acgtgatctg atttgtgcac agaaatttaa cggcctgacc	3300
gttctgcctc cgctgctgac cgatgaaatg attgcacagt ataccagcgc actgctggca	3360
ggcaccatta ccagtgggtg gacctttggt gccggtgccg cactgcagat tccgtttgca	3420
atgcagatgg catatcgttt taatgggtatt ggtgttacct agaacgtgct gtatgaaaac	3480
cagaaactga ttgccaaacca gtttaatagc gccattggca aaattcagga tagcctgagc	3540
agcaccgcaa gtgcactggg taaactgcag gacgtttgta atcagaatgc acaggcactg	3600
aataccctgg ttaaacagct gagcagtaat tttggtgcaa tttcaagcgt gctgaacgat	3660
attctgagcc gtctggataa agttgaagca gaagttcaga ttgatcgtct gattaccggt	3720
cgctcgaaa gcctgcagac ctatgtgacc cagcagctga ttcgcgcagc agaaattcgt	3780
gcaagcgcaa atctggcagc caccaaaatg agcgaatgtg ttctgggtca gagcaaacgt	3840
gttgattttt gcggcaaagg ttatcacctg atgagctttc cgcagagcgc accgcatggt	3900
gttgtgtttc tgcatgttac ctatgttccg gcacaagaaa aaaactttac aaccgctccg	3960
gcaatttgcc atgatggtaa agcacatttt ccgcgtgaag gtgtttttgt tagtaatggc	4020
accattggt ttgttacaca gcgcaacttt tatgaaccgc agattattac aaccgacaac	4080
acctttgtta gcgtaactg tgatgttgtg attggcattg tgaataacac cgtttatgat	4140
ccactgcagc cggaactgga tagctttaaa gaagaactgg acaaatattt caaaaaccac	4200
accagtccgg atgttgatct ggggtgatatt tcaggtaatta atgccagcgt ggtgaacatc	4260
cagaaagaaa ttgatgcct gaatgaagtg gccaaaaatc tgaatgaaag cctgattgat	4320
ctgcaagaac tggggaaata tgagcagtat atcaaatggc cgtggtatat ttggctgggt	4380
tttattgcag gcctgattgc aattgttatg gtgaccatta tgctgtgttg tatgaccagc	4440
tgtttagct gtctgaaagg ttgttcagc tgcggtagct gttgcaaatt tgatgaagat	4500
gatagcgaac cggctctgaa aggtgttaaa ctgcattata cctaatagagc ggccgc	4556

<210> 4

<211> 3839
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> SARS-CoV-2棘蛋白核酸序列-經最佳化以用於在巴斯德克馬格特勒酵母中之表現

<400> 4	
ttcgaaacga tgttcgtgtt cttggtcctg ttgccattgg ttctttccca gtgtgttaac	60
ctgaccacta gaactcaatt gcctccagcc tacaccaatt ccttcaccag aggtgtttac	120
taccagaca aggtgttcag atcttccgtc ttgcactcca ctcaggactt gttcttgcca	180
ttctttccca acgttiacctg gtccacgct attcacgttt ccggaactaa cggtaactaag	240
agattcgaca acccagtcct gccattcaac gatgggtgctt acctcgcttc taccgagaag	300
tccaacatca tcagagggtg gatcttcggt actacctgg actctaagac tcagtccttg	360
ctgatcgta acaacgccac caacgttgct atcaagggtt gcgagttcca gttctgcaac	420
gaccattct tgggtgtgta ctaccacaag aacaacaagt cttggatgga atccgagttc	480
agagtttact cctccgcca caactgtacc ttcgagtacg ttcccagcc attcttgatg	540
gacttgagg gtaagcagg taactcaag aacctgagag agttcgttt caagaacatc	600
gacggttact tcaagatcta ctccaagcac accccaatca acctggtag agatttgcca	660
caaggttct ccgctttgga gcctttggt gacttgcaa tcggtatcaa cateaccaga	720
ttccagacct tgttggcctt gcacagatcc tacttgactc caggtgattc ttctccggt	780
tggactgctg gtgctgctgc ttactatgtt ggttacttgc agccaagaac ctctctgctg	840
aagtacaacg agaacggaac tatcactgac gctgttgact gtgctttgga cccattgtct	900
gagactaagt gcaccttgaa gtccttcacc gttgagaagg gtactacca gacctcaac	960
ttcagagttc agccaactga gtccatcgct agattcccaa acatcactaa cttgtgcca	1020
ttcggtgagg tgttcaacgc tactagattc gttctgttt acgcctggaa cagaaagaga	1080
atctccaact gcgttgctga ctactccgtc ttgtacaact ctgcttcatt ctccaccttc	1140
aagtgctacg gtgtttcccc aactaagttg aacgacctgt gtttactaa cgtctacgcc	1200
gactccttcg ttattagagg tgacgaggtt agacagatcg ctccaggtca aactggtaag	1260

atcgtgact acaactacaa gctgccagac gacttcaccg gttgtgttat tgcttgaac	1320
tccaacaacc tggactccaa ggttggfggf aactacaatt acctgtaccg tctgttcaga	1380
aagtcgaact tgaagccatt cgagagagac atctccaccg agatctacca agctggttct	1440
actccatgta acgggtgtga gggtttcaac tgtacttcc cattgcaatc ctacggtttc	1500
caacctacca acgggtgttg ataccagcca tacagagttg tcgttttgtc cttcgagttg	1560
ttgcacgctc cagctactgt ttgtggfcca aagaagtcca ccaacttggf caagaacaaa	1620
tgcgtcaact ttaacttcaa cggcctgacc ggtactggf gtttgactga atccaacaag	1680
aagttcctgc ctttccagca gttcggfaga gacattgtct acactactga cgccgttaga	1740
gatccacaga ctttggagat cttggacatc acccatgtt ccttcggfgg tgtttccgtt	1800
attaccctg gaactaacac ctccaatcag gtcgtgtct tgtaccagga cgttaactgt	1860
actgaggttc cagttgctat ccacgtgac caattgactc caacttggag agtctactcc	1920
accggttcca acgttttcca aactagagcc ggttgtttga tcggtgctga acacgtcaac	1980
aactcctacg agtgtgacat tccaattggf gctggfctct gtgcctccta ccaaactcaa	2040
actaactccc caagaagggc tagatccgtt gtttccaat ccattatcgc ttacaccatg	2100
tctttgggtg ccgagaactc tgttgcttac tetaacaact ctatcgtat ccctaccaac	2160
ttcaccatct ccgttaccac tgagatcttg ccagtctcca tgaccaagac ttccgttgac	2220
tgtaccatgt acatctgtgg tgactccact gagtgttcca acttgttgct gcaatacggf	2280
tccttctgca ccagttgaa cagagctttg actggtattg ctgtcgagca agacaagaac	2340
actcaagagg ttttcgcca ggtgaagcag atctacaaga ctccacctat taaggacttc	2400
ggtggcttca acttctccca gattttgcca gatccatcta agccctcaa gagatccttc	2460
attgaggacc tgctgttcaa caaggttact ttggctgacg ccggtttcat caagcagtac	2520
ggtgattgct tgggtgacat tgcagctaga gacttgatct gtgcccagaa gttcaacggf	2580
ttgaccgttt tgccaccttt gttgaccgac gagatgatcg ctcagtacac ttctgctttg	2640
ttggccggta ctatcacttc tggttggaca tttggagctg gtgccgcatt gcaaattcca	2700
ttcgtatgc aaatggccta cagattcaac ggtatcggf ttaccagaa cgtcctgtac	2760

gagaaccaga agcttatcgc caaccagttc aactccgcta tcggttaagat tcaggactcc	2820
ttgtcctcta ctgcttcctgc cttgggaaag ttgcaggatg ttgttaacca gaatgccag	2880
gccttgaaca ccctggftaa gcaactgtcc tctaacttcg gtgctatctc ctccgttttg	2940
aacgacatct tgtcccgttt ggacaagggt gaggctgagg ttcagatcga cagattgac	3000
actggtagat tgcagtcctt gcagacttac gttactcagc agttgattag agctgccag	3060
attagagcct ctgctaactt ggctgctact aagatgtccg agtgtgtttt gggtcagtcc	3120
aagagagtig acttctgcgg taagggttac cacctgatgt ctttcccaca atctgtccca	3180
cacggtgtcg ttttcttgca cgttacttac gtccagctc aagagaagaa cttcactact	3240
gtccagcca ttgtcacga tggtaaggct cactttcctc gtgagggtgt tttcgtttcc	3300
aacggtactc actggttcgt caccagaga aacttttacg agccacagat catcaccacc	3360
gacaacactt tcgtttctgg taactgtgac gtcgtcatcg gtatcgtgaa caacactgtc	3420
tacgatccat tgcagccaga attggactcc ttcaaagagg aactggacaa gtactttaag	3480
aaccacactt cccagacgt tgacctgggt gatatttccg gtattaacgc ctccgttgtc	3540
aacatccaaa aagagatcga ccgtttgaac gaggtcgcca agaacttgaa cgagtccttg	3600
attgacttgc aagagctggg caagtacgag cagtacatta agtggccatg gtacatttgg	3660
ctgggtttca ttgctgggtt gatcgccatc gttatgttca ccatcatgtt gtgctgtatg	3720
acctcctgtt gctcctgttt gaagggttgt tgttcctgcg gttcctgttg taagtccgac	3780
gaagatgact ccgagccagt cttgaagggt gttaagttgc actacactta agcggccgc	3839

- <210> 5
- <211> 5357
- <212> DNA
- <213> 人造序列

<220>
<223> 編碼融合蛋白HPV18L1/SARS-CoV-2棘蛋白之核酸-經最佳化以用於在巴斯德克馬格特勒酵母中之表現

<400> 5	
ttcgaaacga tggctctttg gagaccatcc gacaacactg tttacttgcc accaccatcc	60

gttgctagag ttgttaacac tgacgactac gttactagaa ctccatctt ctaccacgt	120
ggttcttcca gattgttgac tgttggtaac ccatacttca gagttccagc tggagggtgt	180
aacaagcaag acatcccaaa ggtttccgt taccagtaca gagttttcag agttcagttg	240
ccagacccaa acaagtttg attgccagac acttccatct acaaccaga gactcagaga	300
cttgtttggg cttgtgctgg tgttgaaatc ggtagaggac agccattggg tgttggtttg	360
tctggtcacc cattctacaa caagttaggac gacactgaat ctctcacgc tgctacttct	420
aacgtttccg aggatgttag agacaacgtt tccgttgact acaagcagac tcagttgtgt	480
atcttgggtt gtgctccagc tattggtgaa cattgggcta aggttactgc ttgtaagtcc	540
agaccattgt ctacaggaga ttgtccacca ttggagtga agaactgt tttggaggac	600
ggtgatatgg ttgatactgg ttacggtgct atggacttct ctactttgca ggacactaag	660
tgtgaagttc cattggacat ctgtcagtc atctgtaagt acccagacta cttgcaaatg	720
tccgtgac cttacgggtga ctctatgttc ttctgtttga gaagagagca gttgttcgt	780
agacacttct ggaacagagc tgggtactatg ggtgacactg ttccacaatc cttgtacatc	840
aagggtactg gaatgagagc ttctctgtgt tcttgtgttt actctccatc tccatccgt	900
tccattgtta cttccgactc ccagttgttc aacaagccat actggttgca taaggctcaa	960
ggtcacaaca acggtgtttg ttggcacaac cagttgttcg ttactgttgt tgacactact	1020
agatccacta acttgactat ctgtgcttcc actcaatctc cagttccagg acaatacgac	1080
gctactaagt tcaagcagta ctccagacac gttgaagagt acgacttgca gttcatcttc	1140
cagttgtgta ctatcacttt gactgctgat gttatgtcct acatccactc tatgaactcc	1200
tccatttttg aggattggaa cttcgtgtgt ccaccaccac caactacttc attggttgac	1260
acttacagat tcgttcagtc cgttgctatc acttgtaaaa aggacgctgc tccagctgaa	1320
aacaaggacc catacgacaa gttgaagttc tggaacgttg acttgaaaga gaagtctcc	1380
ttggacttgg accaataccc attgggtaga aagtttttgg ttcaggctgg attgagaaga	1440
aagccaacta tcggtccaag aaagagatca gtccatccg ctactacttc atccaagcca	1500
gctaagagag ttagagttag agctagaaaag ttcgtgttct tggtcctgtt gccattggtt	1560

tcttcccagt gtgttaacct gaccactaga actcaattgc ctccagccta caccaattcc	1620
ttcaccagag gtgtttacta cccagacaag gtgttcagat ctccgctctt gcactccact	1680
caggacttgt tcttgccatt cttctccaac gttacctggg tccacgctat tcacgtttcc	1740
ggaactaacg gtactaagag attcgacaac ccagtcctgc cattcaacga tgggtgtctac	1800
ttcgcttcta ccgagaagtc caacatcatc agaggttgga tcttcggtac taccctggac	1860
tctaagactc agtccttgct gatcgftaac aacgccacca acgttgtcat caaggtttgc	1920
gagttccagt tctgcaacga cccattcttg ggtgtgtact accacaagaa caacaagtct	1980
tggatggaat ccgagttcag agtttactcc tccgccaaaca actgtacctt cgagtacgtt	2040
tcccagccat tcttgatgga cttggagggt aagcagggtg acttcaagaa cctgagagag	2100
ttcgttttca agaacatcga cggttacttc aagatctact ccaagcacac cccaatcaac	2160
ctggttagag atttgccaca aggtttctcc gctttggagc ctttggttga cttgccaatc	2220
ggtatcaaca tcaccagatt ccagaccttg ttggccttgc acagatccta cttgactcca	2280
ggtgattctt cttccggttg gactgctggg gctgctgctt actatgttgg ttacttgtag	2340
ccaagaacct tctgctgaa gtacaacgag aacggaacta tcttgacgc tgttgactgt	2400
gctttggacc cattgtctga gactaagtgc acctgaagt cttcaccgt tgagaagggt	2460
atctaccaga cctccaactt cagagttcag ccaactgagt ccacgtcag attcccaaac	2520
atcactaact tgtgcccatt cgggtgaggtg ttcaacgcta ctagattcgc ttctgtttac	2580
gcctggaaca gaaagagaat ctccaactgc gttgctgact actccgtctt gtacaactct	2640
gcttcattct ccaccttcaa gtgctacggg gtttcccaa ctaagttgaa cgacctgtgt	2700
ttactaacg tctacgccga ctcttctgtt attagaggtg acgaggtag acagatcgt	2760
ccagggtcaa ctggtlaagat cgctgactac aactacaagc tgccagacga cttcaccggt	2820
tgtgttattg cttggaactc caacaacctg gactccaagg ttggtggtaa ctacaattac	2880
ctgtaccgtc tgttcagaaa gtccaacttg aagccattcg agagagacat ctccaccgag	2940
atctaccaag ctggttctac tccatgtaac ggtgtcgagg gtttcaactg ctacttccca	3000
ttgcaatcct acggtttcca acctaccaac ggtgttggat accagccata cagagttgtc	3060

gttttgtcct tcgagttgtt gcacgctcca gctactgttt gtggtcctaaa gaagtccacc	3120
aacttgggtca agaacaatg cgtcaacttt aacttcaacg gcctgaccgg tactgggtgtt	3180
ttgactgaat ccaacaagaa gtacctgcct ttccagcagt tcggtagaga cattgctgac	3240
actactgacg ccgttagaga tccacagact ttggagatct tggacatcac cccatgttcc	3300
ttcggtggtg tttccgttat tacccttggg actaacacct ccaatcaggt cgctgtcttg	3360
taccaggacg ttaactgtac tgagggtcca gttgctatcc acgtgacca attgactcca	3420
acttggagag tctactccac cggttccaac gttttccaaa ctagagccgg ttgtttgatc	3480
ggtgctgaac acgtcaacaa ctctacgag tgtgacattc caattggtgc tggatatgt	3540
gcctctacc aaactcaaac taactcccca agaagggtc gatccgttgc ttcccaatcc	3600
attatcgctt acaccatgtc tttgggtgcc gagaactctg ttgcctactc taacaactct	3660
atcgctatcc ctaccaactt caccatctcc gttaccactg agatcttgcc agtctccatg	3720
accaagactt ccgttgactg taccatgtac atctgtggtg actccactga gtgttccaac	3780
ttgttgctgc aatacggttc ctctgcacc cagttgaaca gagctttgac tggatttgct	3840
gtcgagcaag acaagaacac tcaagaggtt ttgcccagg tgaagcagat ctacaagact	3900
ccacctatta aggacttcgg ttggttcaac ttctccaga ttttgccaga tccatctaag	3960
ccctccaaga gatccttcat tgaggacctg ctgttcaaca aggttacttt ggctgacgcc	4020
ggtttcatca agcagtacgg tgattgcttg ggtgacattg cagctagaga cttgatctgt	4080
gcccagaagt tcaacggttt gaccgttttg ccacctttgt tgaccgacga gatgatcgct	4140
cagtacactt ctgctttgtt ggccggtact atcacttctg gttggacatt tggagctggt	4200
gccgcattgc aaattccatt cgctatgcaa atggcctaca gattcaacgg tatcggtgtt	4260
accagaacg tcctgtacga gaaccagaag ctatctgcca accagttcaa ctccgctatc	4320
ggtaagattc aggactcctt gtcctctact gcttctgcct tgggaaagtt gcaggatgtt	4380
gttaaccaga atgcccaggc tttgaacacc ctggttaagc aactgtcctc taacttcggt	4440
gctatctcct ccgttttgaa cgacatcttg tcccgtttgg acaaggttga ggctgaggtt	4500
cagatcgaca gattgatcac tggtagattg cagtcctgc agacttacgt tactcagcag	4560

ttgattagag ctgccgagat tagagcctct gctaacttgg ctgctactaa gatgtccgag	4620
tgtgttttgg gtcagtccaa gagagttgac ttctgcggtg agggttacca cctgatgtct	4680
ttcccacaat ctgctccaca cgggtgtcgtt ttcttgcacg ttacttacgt tccagctcaa	4740
gagaagaact tcactactgc tccagccatt tgtcacgatg gtaaggctca ctttcctcgt	4800
gagggtgttt tcgtttccaa cgggtactcac tggttcgtca cccagagaaa cttttacgag	4860
ccacagatca tcaccaccga caacacttcc gtttctggta actgtgacgt cgtcatcggg	4920
atcgtgaaca acaactgtcta cgatccattg cagccagaat tggactcctt caaagaggaa	4980
ctggacaagt actttaagaa ccacacttcc ccagacgttg acctgggtga tatttcgggt	5040
attaacgcct ccgtttgtcaa catccaaaaa gagatcgacc gtttgaacga ggtcgccaag	5100
aacttgaacg agtccttgat tgacttgcaa gagctgggca agtacgagca gtacattaag	5160
tggccatggg acatttggct gggtttcatt gctggtttga tcgccatcgt tatggtcacc	5220
atcatgttgt gctgtatgac ctctgttgc tcctgtttga agggttgttg ttcttgcggg	5280
tcctgttcta agttcgacga agatgactcc gagccagtct tgaagggtgt taagttgcac	5340
tacacttaag cggccgc	5357

<210> 6
<211> 5351
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 編碼融合蛋白HPV16L1/SARS-CoV-2棘蛋白之核酸-經最佳化以用於在巴斯德克馬格特勒酵母中之表現

<400> 6	
ttcgaaacga tgtctttgtg gttgccatct gaagctactg ttfacttggc accagttcca	60
gtttctaaag ttgtttccac tgacgaatac gttgctagaa ctaacatcta ctaccacgt	120
ggtacttcta gattgttggc tgttggicat ccatacttcc caattaagaa gccaaacaac	180
aacaagattt tggttccaaa ggtttccgga ttgcaataga gagttttcag aatccatttg	240
ccagatccaa acaagtttgg ttcccagat acttctttct acaaccaga cactcaaaga	300
cttgtttggg cttgtgttgg tgttgaagtt ggtagaggtc aaccattggg tgttggatt	360

tctggtcacc cattgttgaa caagtggac gatactgaaa acgcttctgc ttacgtgct	420
aacgtgggtg ttgataacag agaatgtatt tctatggact acaagcaaac tcaattgtgt	480
ttgattgggt gtaagccacc aattggtgaa cattggggaa agggttctcc atgtactaat	540
gttgcctgta accctgggtga ttgtccacca ttggaattga ttaacactgt tattcaagac	600
ggtgatatgg ttgatactgg ttctgggtgct atggatttca ctactttgca agctaacaag	660
tctgaagttc cattggacat ttgtacttcc atctgtaagt acccagacta cattaagatg	720
gtttctgaac catacgggtga ttctttgttc ttctacttga gaagagaaca aatgtttgtt	780
agacacttgt tcaacagagc tgggtgctgtt ggtgaaaacg ttccagatga cttgtacatt	840
aagggttctg gttctactgc taacttggct tcttctaact actttccaac tccatctggt	900
tctatgggtta cttctgacgc tcaaattttc aacaagccat actggttgca aagagcacia	960
ggtcataaca acggtatttg ttggggtaac caattgttcg ttactgttgt tgacactact	1020
agatccacta acatgtcctt gtgtgctgct atttctactt ctgaaactac ttacaagaac	1080
actaacttca aagagtactt gagacacgga gaagaatacg acttgcaatt cattttccaa	1140
tttgttaaga ttactttgac tgctgacgtt atgacttaca ttactctat gaactctact	1200
athttgaag attggaactt cggattgcaa ccaccaccag gtggtacttt ggaagatact	1260
tacagattcg ttacttctca agctattgct tgtcaaaagc atactccacc tgctccaaaa	1320
gaagatccat tgaagaagta cactttctgg gaagttaact tgaaagaaaa gttctctgct	1380
gatttggatc aattcccatt gggtagaaag tttttgttg cagctggatt gaaggctaaa	1440
ccaaagtcca ctttgggaaa gagaaaggct actccaacta cttcttctac ttctactact	1500
gctaagagaa agaagagaaa attgttcgtg ttcttgggtc tgttgccatt ggtttcttcc	1560
cagtggttta acctgaccac tagaactcaa ttgcctccag cctacaccaa ttcttcacc	1620
agagggtgtt actaccaga caagggttc agatcttccg tcttgactc cactcaggac	1680
ttgttcttgc cattcttctc caacgttacc tggttccacg ctattcacgt ttccggaact	1740
aacggtacta agagattcga caaccacgtc ctgccattca acgatgggtgt ctacttgcgt	1800
tctaccgaga agtccaacat catcagaggt tggatcttcg gtactacct ggactctaag	1860

actcagtcct tgctgatcgt taacaacgcc accaacgttg tcatcaaggt ttgcgagttc	1920
cagttctgca acgacccatt cttgggtgtg tactaccaca agaacaaca gtccttgatg	1980
gaatccgagt tcagagttaa ctctccgcc aacaactgta ccttcgagta cgtttccag	2040
ccattcttga tggacttga gggtaagcag ggtaacttca agaacctgag agagttcgtt	2100
ttcaagaaca tcgacggta cttaagatc tactccaagc acacccaat caacctggtt	2160
agagatttgc cacaaggttt ctccgctttg gagcctttgg ttgacttgcc aatcggtatc	2220
aacatcacca gattccagac cttgttggcc ttgcacagat cctacttgac tccaggtgat	2280
tcttcttccg gttggactgc tgggtgctgt gcttactatg ttggttactt gcagccaaga	2340
accttctgc tgaagtacaa cgagaacgga actatcactg acgtgttga ctgtgctttg	2400
gacctattgt ctgagactaa gtgcacctg aagtccttca ccgttgagaa gggatatctac	2460
cagacctcca atttcagagt tcagccaact gagtccatcg tcagattccc aaacatcact	2520
aacttgtgcc cattcggtga ggtgttcaac gctactagat tcgcttctgt ttacgcctgg	2580
aacagaaaga gaatctcaa ctgcgttgct gactactccg tcttgtacaa ctctgcttca	2640
ttctccacct tcaagtgcta cgggtgttcc ccaactaagt tgaacgacct gtgtttcact	2700
aacgtctacg ccgactcctt cgttattaga ggtgacgagg ttagacagat cgctccaggt	2760
caaactggta agatcgctga ctacaactac aagctgccag acgacttcac cggttgtgtt	2820
attgcttga actccaaca cctggactcc aaggttggtg gtaactaaa ttacctgtac	2880
cgctgttca gaaagtcaa cttgaagcca ttcgagagag acatctccac cgagatctac	2940
caagctggtt ctactccatg taacggtgtc gagggtttca actgctactt cccattgcaa	3000
tcctacggtt tccaacctac caacggtgtt ggataccagc catacagagt tgtcgttttg	3060
tccttcgagt tgttgcacgc tccagctact gtttgtggc caaagaagtc caccaacttg	3120
gtcaagaaca aatgcgtcaa ctttaacttc aacggcctga ccggtactgg tgttttgact	3180
gaatccaaca agaagttcct gcctttccag cagttcggt gagacattgc tgacactact	3240
gacgccgtta gagatccaca gactttggag atcttggaca tcaccccatg ttcttcggt	3300
ggtgtttccg ttattacccc tggaactaac acctccaatc aggtcgtgt cttgtaccag	3360

gacgttaact gtactgaggt tccagttgct atccacgctg accaattgac tccaacttgg	3420
agagtcctact ccaccgggtc caacgttttc caaactagag ccggttgttt gatcggtgct	3480
gaacacgtca acaactccta cgagtgtgac attccaattg gtgctgggtat ctgtgcctcc	3540
taccaaactc aaactaactc cccaagaagg gctagatccg ttgcttccca atccattatc	3600
gcttacacca tgtcttttggg tgccgagaac tctgttgccct actctaacaa ctctatcgct	3660
atccctacca acttcaccat ctccgttacc actgagatct tgccagtctc catgaccaag	3720
acttccgttg actgtacat gtacatctgt ggtgactcca ctgagtgttc caacttgttg	3780
ctgcaatacg gttccttctg caccagttg aacagagctt tgactgggtat tgctgtcgag	3840
caagacaaga acactcaaga ggttttcgcc cagggtgaagc agatctacaa gactccacct	3900
attaaggact tcggtggctt caacttctcc cagattttgc cagatccatc taagccctcc	3960
aagagatcct tcatigagga cctgctgttc aacaaggta ctttggctga cgccggtttc	4020
atcaagcagt acggtgattg cttgggtgac attgcagcta gagacttgat ctgtgcccag	4080
aagttcaacg gtttgaccgt tttgccacct ttgttgaccg acgagatgat cgctcagtac	4140
acttttgctt tgttggccgg tactatcact tctggttgga catttgagc tggtgccgca	4200
ttgcaaattc cattcgctat gcaaatggcc tacagattca acggtatcgg tgttaccag	4260
aacgtcctgt acgagaacca gaagcttacc gccaacctgt tcaactccgc tatcggttaag	4320
attcaggact ccttgcctc tactgtctct gccttgggaa agttgcagga tgttgttaac	4380
cagaatgcc aggccttgaa caccctgggt aagcaactgt cctctaactt cgggtctatc	4440
tcctccgttt tgaacgacat cttgtcccg tttggacaagg ttgaggctga gggtcagatc	4500
gacagattga tcactggtag attgcagtc ctgcagactt acgttactca gcagttgatt	4560
agagctgccg agattagagc ctctgctaac ttggctgcta ctaagatgtc cgagtgtgtt	4620
ttgggtcagt ccaagagagt tgacttctgc ggtaagggtt accacctgat gtctttccca	4680
caatctgtc cacacgggtg cgttttcttg cacgttactt acgttccagc tcaagagaag	4740
aacttacta ctgtccagc catttgtcac gatggtaagg ctcaatttcc tcgtgagggt	4800
gttttcgttt ccaacgggtac tcactgggtc gtcaccaga gaaactttta cgagccacag	4860

atcatcacca cgcacaacac tttcgtttct ggtaactgtg acgtcgtcat cggtatcgtg	4920
aacaacactg tctacgatcc attgcagcca gaattggact ccttcaaaga ggaactggac	4980
aagtacttta agaaccacac tccccagac gttgacctgg gtgatatctt cggtaattaac	5040
gcctccgttg tcaacatcca aaaagagatc gaccgtttga acgaggtcgc caagaacttg	5100
aacgagtcct tgattgactt gcaagagctg ggcaagtacg agcagtacat taagtggcca	5160
tggtaacatt ggctggggtt cattgctggt ttgatcgcca tcgttatggt caccatcatg	5220
tttgtctgta tgacctcctg ttgctcctgt ttgaagggtt gttgttcctg cggttcctgt	5280
tgtaaattcg acgaagatga ctccgagcca gtcttgaagg gtgttaagtt gcactacact	5340
taagcggccg c	5351

<210> 7
<211> 3836
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> SARS-CoV-2棘蛋白核酸序列- 經最佳化以用於在人類中之表現

<400> 7 gctagcgaca tgttcgtgtt tctggtgctg ctgcctctgg tgtccagcca gtgtgtgaac	60
ctgaccacca gaacacagct gcctccagcc tacaccaata gttcaccag gggcgtgtac	120
taccccgaca aggtgttcag atctagcgtg ctgcacagca cccaggacct gtttctgccc	180
ttcttcagca acgtgacctg gttccacgcc atccacgtgt ccggcaccaa tggcaccaag	240
agattcgaca accccgtgct gcccttcaac gatggggtgt actttgccag caccgagaag	300
tccaacatca tcagaggctg gatcttcggc accacactgg acagcaagac ccagagcctg	360
ctgatcgtga acaacgccac caacgtggtc atcaaagtgt gcgagttcca gttctgcaac	420
gaccatttc tgggagtcta ctaccacaag aacaacaaga gctggatgga aagcgagttc	480
cggtgtgata gcagcgccaa caactgcacc ttcgagtacg tgtcccagcc tttctgatg	540
gacctggaag gcaagcaggg caacttcaag aacctgcgcg agttcgtgtt caagaacatc	600

gacggctact tcaagatcta cagcaagcac acccctatca acctcgtgcg ggatctgcct	660
cagggtttt ctgctctgga acctctgggtg gacctgccta tcggcatcaa catcaccgg	720
tttcagacct tgctggccct gcacagatct tacctgacac ctggcgatag cagctctgga	780
tggacagctg gcgccgctgc ctattatgtg ggctacctgc agcctcggac cttcctgctg	840
aagtacaacg agaacggcac catcaccgac gccgtggatt gtgctctgga tcccctgagc	900
gagacaaagt gcacctgaa gtccctcacc gtggaaaagg gcatctacca gaccagcaac	960
ttcagagtgc agcccaccga gagcatcgtg cggttcccca atatcaccaa tctgtgcccc	1020
ttcggcgagg tgttcaatgc cacaagattt gccagcgtgt acgcctggaa ccggaagaga	1080
atcagcaact gcgtggccga ctacagcgtg ctgtacaata gcgccagctt cagcaccttc	1140
aagtgtacg gcgtgtcccc taccaagctg aacgacctgt gcttcaccaa tgtgtacgcc	1200
gacagcttcg tgatcagagg cgacgaagtt cggcagatcg ctcttgaca gacaggcaag	1260
atcgccgatt acaactacaa gctgcccgac gacttcaccg gctgcgtgat cgcctggaat	1320
agcaacaacc tggactccaa agtcggcggc aactacaact acctgtaccg gctgttcgg	1380
aagtccaatc tgaagccctt cgagcgggac atctccaccg aaatctatca ggccggcagc	1440
acccttgta acggcgtgga aggcttcaac tgctacttcc cactgcagtc ctacggcttt	1500
cagcctacca atggcgtggg ctatcagccc tatagagtgg tggctgtgag cttcgaactg	1560
ctgcatgccc ctgctaccgt gtgcggccct aagaagtcta ccaacctggt caagaacaaa	1620
tgcgtgaact tcaacttcaa cggcctgacc ggcacagcgc tgctgacaga gagcaacaag	1680
aagtctctgc ctttcagca gtttgccgg gatatcgccg ataccacaga cgccgttaga	1740
gatccccaga cactggaaat cctggacatc acccatgca gctttggcgg agtgtctgtg	1800
atcaccctg gcaccaatac cagcaatcag gtggccgtgc tgtatcagga cgtgaactgt	1860
acagaggtgc ccgtggccat tcacgccgat caactgacac ccacttgag agtgtactcc	1920
accggtcca acgtgttcca gactagagcc ggatgtctga tcggagccga gcacgtgaac	1980
aatagctacg agtgcgacat ccccatcggc gctggcatct gtgccagcta ccagacacag	2040
acaaatagcc ccagacgggc cagaagcgtg gcctctcaga gcatcattgc ctacacaatg	2100

agcctgggcg ccgagaattc tgtggcctac agcaacaact ctatcgctat cccaccaac	2160
ttcaccatca gcgtgaccac cgagatcctg cctgtgtcca tgaccaagac cagcgtggac	2220
tgcaccatgt acatctgcgg cgattccacc gagtgcagca acctgctgct gcagtacggc	2280
agcttctgca cccagctgaa tagagccctg acagggatcg ccgtggaaca ggacaagaac	2340
acccaagagg tgttcgccca agtgaagcag atctacaaga cccctcctat caaggacttc	2400
ggcggcttca atttcagcca gattctgccc gatcctagca agcccagcaa gcggagcttt	2460
atcgaggacc tgctgttcaa caaagtgaca ctggccgacg ccggcttcat caagcagtat	2520
ggcgattgcc tgggcgacat tgccgccaga gatctgattt gcgcccagaa gtttaacgga	2580
ctgacagtgc tgccctctct gctgaccgat gagatgatcg cccagtacac atctgctctg	2640
ctggccggca caatcaccag cggatggaca tttggagctg gcgcagccct gcagatcccc	2700
tttgctatgc agatggccta ccggttcaac ggcacgcgag tgaccagaa tgtgtgttac	2760
gagaaccaga agctgatcgc caaccagttc aacagcgcca tcggcaagat ccaggatagc	2820
ctgtctagca cagccagcgc tctgggcaaa ctgcaggacg tggccaatca gaacgctcag	2880
gccctgaaca cctcgtgaa gcagctgagc agcaatttcg gcgccatcag ctccgtgctg	2940
aacgatatcc tgagccggct ggataagggtg gaagccgagg tgcagatcga cagactgac	3000
acaggcagac tgcagagcct ccagacatac gtgaccagc agctgatcag agccgccgag	3060
attagagcct ctgccaatct ggccgccacc aagatgtctg agtgtgtgct gggccagagc	3120
aagagagtgg atttctgcgg caagggtac cacctgatga gctttccaca gtctgtcct	3180
cacggcgtgg tgtttctgca cgtgacctat gtgcccgtc aagagaagaa cttcacaaca	3240
gcccctgcca tctgccacga cggaaaggcc cattttccta gagaaggcgt gttcgtgtcc	3300
aacggcacc attggttcgt gacacagcgg aacttctacg agccccagat catcaccacc	3360
gacaacacct tcgtgtctgg caactgtgac gtcgtgatcg gcattgtgaa caacaccgtg	3420
tacgaccctc tgcaagccga gctggacagc ttcaaagagg aactggacaa gtactttaag	3480
aaccacacaa gccccgacgt ggacctgggc gatattagcg gcatcaatgc ctccgtggtc	3540
aacatccaga aagagatcga ccggctgaac gaggtggcca agaatttgaa cgagagcctg	3600

atcgacctgc aagaactggg gaagtacgag cagtacatca agtggccctg gtacatctgg 3660

ctgggcttta tcgccggact gattgccatc gtgatggtca caatcatgct gtgctgcatg 3720

accagctgct gtagctgcct gaagggtgtg tgcagctgtg gcagctgctg caagttcgac 3780

gaggatgata gcgagcctgt gctgaagggc gtgaaactgc actacaccgc ggccgc 3836

<210> 8

<211> 4232

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> 編碼融合蛋白HBSAg/SARS-CoV-2棘蛋白之核酸-經最佳化以用於在人類中之表現

<400> 8

gctagcgaca tgaactttct gggcggctacg acagtatgcc ttggacaaaa ttcacaatct 60

ccgacgtcta atcactcccc tacaagtgtt ccaccgactt gccccggcta taggtggatg 120

tgtctcagac gattcataat ctttctcttc attcttcttc tgtgcctgat attcttgctg 180

gtccttcttg attaccaggg aatgcttccc gtgtgtcctc tgattcctgg ttcattccact 240

acatctacgg gtccctgtag aacatgcacc acacctgcac agggcacctc catgtatccg 300

tcatgtctgt gcacgaaacc atcagatggt aactgcacgt gcataccgat cccctcatca 360

tgggcgtttg ggaaatttct gtgggagtgg gcctcagccc ggttttcctt cgtgtttctg 420

gtgctgctgc ctctggtgtc cagccagtgt gtgaacctga ccaccagaac acagctgcct 480

ccagcctaca ccaatagctt caccaggggc gtgtactacc ccgacaaggt gtteagatct 540

agcgtgctgc acagcaccca ggacctgttt ctgcccttct tcagcaacgt gacctggttc 600

cacgccatcc acgtgtccgg caccaatggc accaagagat tcgacaaccc cgtgctgccc 660

ttcaacgatg ggggtgtact ttgccagcacc gagaagtcca acatcatcag aggctggatc 720

ttcggcacca cactggacag caagaccagc agcctgctga tcgtgaacaa cgccaccaac 780

gtggtcatca aagtgtgcga gticcagttc tgcaacgacc cattcctggg agtctactac 840

cacaagaaca acaagagctg gatggaaagc gagttccggg tgtacagcag cgccaacaac 900

tgcaccttcg agtacgtgtc ccagccttct ctgatggacc tgggaaggcaa gcagggaac 960

ttcaagaacc tgcgcgagtt cgtgttcaag aacatcgacg gctacttcaa gatctacagc	1020
aagcacaccc ctatcaacct cgtgcgggat ctgcctcagg gcttttctgc tctggaacct	1080
ctgggtggacc tgcctatcgg catcaacatc acccggtttc agaccttgct ggccctgcac	1140
agatcttacc tgacacctgg cgatagcagc tctggatgga cagctggcgc cgctgcctat	1200
tatgtgggct acctgcagcc tcggaccttc ctgctgaagt acaacgagaa cggcaccatc	1260
accgacgccg tggattgtgc tctggatccc ctgagcgaga caaagtgcac cctgaagtcc	1320
ttcacctggg aaaagggcat ctaccagacc agcaacttca gattgcagcc caccgagagc	1380
atcgtgcggt tccccaatat caccaatctg tggcccttcg gcgagggtgtt caatgccaca	1440
agatttgcca gcgtgtacgc ctggaaccgg aagagaatca gcaactgcgt ggccgactac	1500
agcgtgctgt acaatagcgc cagcttcagc accttcaagt gctacggcgt gtcccctacc	1560
aagctgaacg acctgtgctt caccaatgtg tacgccgaca gcttcgtgat cagaggcgac	1620
gaagttcggc agatcgctcc tggacagaca ggcaagatcg ccgattacaa ctacaagctg	1680
cccgacgact tcaccggctg cgtgatcgcc tggaatagca acaacctgga ctccaaagtc	1740
ggcggcaact acaactacct gtaccggctg ttccggaagt ccaatctgaa gcccttcgag	1800
cgggacatct ccaccgaaat ctatcaggcc ggcagcaccc cttgtaacgg cgtggaaggc	1860
ttcaactgct acttcccact gcagtcctac ggctttcagc ctaccaatgg cgtgggctat	1920
cagccctata gattggtggt gctgagcttc gaactgctgc atgcccctgc taccgtgtgc	1980
ggccctaaga agtctaccaa cctgggtcaag aacaaatcg tgaacttcaa cttaacggc	2040
ctgaccggca caggcgtgct gacagagagc aacaagaagt tcctgccttt ccagcagttt	2100
ggccgggata tcgccgatac cacagacgcc gttagagatc ccagacact ggaaatcctg	2160
gacatcacc ccatgcagctt tggcggagtg tctgtgatca cccctggcac caataccagc	2220
aatcaggtgg ccgtgctgta tcaggacgtg aactgtacag aggtgccctg ggccattcac	2280
gccgatcaac tgacaccac ttggagagtg tactccaccg gtccaacgt gttccagact	2340
agagccggat gtctgatcgg agccgagcac gtgaacaata gctacgagt cgacatcccc	2400
atcggcgctg gcattgtgtc cagctaccag acacagaaa atagccccag acgggccaga	2460

agcgtggcct ctcagagcat cattgcctac acaatgagcc tgggcgccga gaattctgtg	2520
gcctacagca acaactctat cgctatcccc accaacttca ccatcagcgt gaccaccgag	2580
atcctgcctg tgtccatgac caagaccagc gtggactgca ccatgtacat ctgcggcgat	2640
tccaccgagt gcagcaacct gctgctgcag tacggcagct tctgcacca gctgaataga	2700
gccctgacag ggatcgccgt ggaacaggac aagaacaccc aagagggtgtt cgcccaagtg	2760
aagcagatct acaagacccc tcctatcaag gacttcggcg gcttcaattt cagccagatt	2820
ctgcccgatc ctagcaagcc cagcaagcgg agctttatcg aggacctgct gttcaacaaa	2880
gtgacactgg ccgacgccgg ctctcatcaag cagtatggcg attgcctggg cgacattgcc	2940
gccagagatc tgatttgcgc ccagaagttt aacggactga cagtgtgcc tcctctgctg	3000
accgatgaga tgatcgccca gtacacatct gctctgctgg ccggcacaat caccagcggg	3060
tggacatttg gagctggcgc agccctgcag atcccccttg ctatgcagat ggccctaccgg	3120
ttcaacggca tcggagtgc ccagaatgtg ctgtacgaga accagaagct gatcgccaac	3180
cagttcaaca gcgccatcgg caagatccag gatagcctgt ctagcacagc cagcgtctg	3240
ggcaaactgc aggacgtggt caatcagaac gctcaggccc tgaacaccct cgtgaagcag	3300
ctgagcagca atttcggcgc catcagctcc gtgctgaacg atatcctgag ccggctggat	3360
aaggtggaag ccgaggtgca gatcgacaga ctgatcacag gcagactgca gagcctccag	3420
acatacgtga cccagcagct gatcagagcc gccgagatta gagcctctgc caatctggcc	3480
gccaccaaga tgtctgagtg tgtgctgggc cagagcaaga gagtggattt ctgcggcaag	3540
ggctaccacc tgatgagctt tccacagtct gctcctcag gcgtgggtgtt tctgcacgtg	3600
acctatgtgc ccgctcaaga gaagaacttc acaacagccc ctgccatctg ccacgacgga	3660
aaggccatt ttccatagaga aggcgtgttc gtgtccaacg gcacccattg gttcgtgaca	3720
cagcggaaact tctacagacc ccagatcacc accaccgaca acaccttcgt gtctggcaac	3780
tgtgacgtcg tgatcggcat tgtgaacaac accgtgtacg acctctgca gcccagctg	3840
gacagcttca aagaggaact ggacaagtac tttaagaacc acacaagccc cgacgtggac	3900
ctgggcgata ttagcggcat caatgcctcc gtgggtcaaca tccagaaaga gatcgaccgg	3960

ctgaacgagg tggccaagaa tctgaacgag agcctgacg acctgcaaga actggggaag4020

tacgagcagt acatcaagtg gccctgggtac atctggctgg gctttatcgc cggactgatt4080

gccatcgtga tggtcacaat catgctgtgc tgcattacca gctgctgtag ctgcctgaag4140

ggctgttgca gctgtggcag ctgctgcaag ttcgacgagg atgatagcga gcctgtgctg4200

aagggcgtga aactgcacta caccgcggcc gc4232

<210> 9

<211> 1512

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> 融合蛋白HEV-SARS-CoV-2棘蛋白

<400> 9

Met Ile Ala Leu Thr Leu Phe Asn Leu Ala Asp Thr Leu Leu Gly Gly

1 5 10 15

Leu Pro Thr Glu Leu Ile Ser Ser Ala Gly Gly Gln Leu Phe Tyr Ser

20 25 30

Arg Pro Val Val Ser Ala Asn Gly Glu Pro Thr Val Lys Leu Tyr Thr

35 40 45

Ser Val Glu Asn Ala Gln Gln Asp Lys Gly Ile Ala Ile Pro His Asp

50 55 60

Ile Asp Leu Gly Glu Ser Arg Val Val Ile Gln Asp Tyr Asp Asn Gln

65 70 75 80

His Glu Gln Asp Arg Pro Thr Pro Ser Pro Ala Pro Ser Arg Pro Phe

85 90 95

Ser Val Leu Arg Ala Asn Asp Val Leu Trp Leu Ser Leu Thr Ala Ala

100 105 110

Glu Tyr Asp Gln Ser Thr Tyr Gly Ser Ser Thr Gly Pro Val Tyr Val
115 120 125

Ser Asp Ser Val Thr Leu Val Asn Val Ala Thr Gly Ala Gln Ala Val
130 135 140

Ala Arg Ser Leu Asp Trp Thr Lys Val Thr Leu Asp Gly Arg Pro Leu
145 150 155 160

Ser Thr Ile Gln Gln Tyr Ser Lys Thr Phe Phe Val Leu Pro Leu Arg
165 170 175

Gly Lys Leu Ser Phe Trp Glu Ala Gly Thr Thr Lys Ala Gly Tyr Pro
180 185 190

Tyr Asn Tyr Asn Thr Thr Ala Ser Asp Gln Leu Leu Val Glu Asn Ala
195 200 205

Ala Gly His Arg Val Ala Ile Ser Thr Tyr Thr Thr Ser Leu Gly Ala
210 215 220

Gly Pro Val Ser Ile Ser Ala Val Ala Val Leu Ala Pro His Ser Ala
225 230 235 240

Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val Asn
245 250 255

Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe Thr
260 265 270

Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu His
275 280 285

Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp Phe
290 295 300

His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp Asn
305 310 315 320

Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu Lys
325 330 335

Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser Lys
340 345 350

Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile Lys
355 360 365

Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr Tyr
370 375 380

His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr Ser
385 390 395 400

Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu Met
405 410 415

Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe Val
420 425 430

Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr Pro
435 440 445

Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu Pro
450 455 460

Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr Leu
465 470 475 480

Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser Gly
485 490 495

Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro Arg
500 505 510

Thr	Phe	Leu	Leu	Lys	Tyr	Asn	Glu	Asn	Gly	Thr	Ile	Thr	Asp	Ala	Val
515				520				525							
Asp	Cys	Ala	Leu	Asp	Pro	Leu	Ser	Glu	Thr	Lys	Cys	Thr	Leu	Lys	Ser
530				535				540							
Phe	Thr	Val	Glu	Lys	Gly	Ile	Tyr	Gln	Thr	Ser	Asn	Phe	Arg	Val	Gln
545				550				555				560			
Pro	Thr	Glu	Ser	Ile	Val	Arg	Phe	Pro	Asn	Ile	Thr	Asn	Leu	Cys	Pro
565				570				575							
Phe	Gly	Glu	Val	Phe	Asn	Ala	Thr	Arg	Phe	Ala	Ser	Val	Tyr	Ala	Trp
580				585				590							
Asn	Arg	Lys	Arg	Ile	Ser	Asn	Cys	Val	Ala	Asp	Tyr	Ser	Val	Leu	Tyr
595				600				605							
Asn	Ser	Ala	Ser	Phe	Ser	Thr	Phe	Lys	Cys	Tyr	Gly	Val	Ser	Pro	Thr
610				615				620							
Lys	Leu	Asn	Asp	Leu	Cys	Phe	Thr	Asn	Val	Tyr	Ala	Asp	Ser	Phe	Val
625				630				635				640			
Ile	Arg	Gly	Asp	Glu	Val	Arg	Gln	Ile	Ala	Pro	Gly	Gln	Thr	Gly	Lys
645				650				655							
Ile	Ala	Asp	Tyr	Asn	Tyr	Lys	Leu	Pro	Asp	Asp	Phe	Thr	Gly	Cys	Val
660				665				670							
Ile	Ala	Trp	Asn	Ser	Asn	Asn	Leu	Asp	Ser	Lys	Val	Gly	Gly	Asn	Tyr
675				680				685							
Asn	Tyr	Leu	Tyr	Arg	Leu	Phe	Arg	Lys	Ser	Asn	Leu	Lys	Pro	Phe	Glu
690				695				700							
Arg	Asp	Ile	Ser	Thr	Glu	Ile	Tyr	Gln	Ala	Gly	Ser	Thr	Pro	Cys	Asn
705				710				715				720			

Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe
725 730 735

Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu
740 745 750

Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Lys
755 760 765

Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn Gly
770 775 780

Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu Pro
785 790 795 800

Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val Arg
805 810 815

Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe Gly
820 825 830

Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val Ala
835 840 845

Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile His
850 855 860

Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser Asn
865 870 875 880

Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val Asn
885 890 895

Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Ser
900 905 910

Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala Ser
915 920 925

Gln Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser Val
930 935 940

Ala Tyr Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile Ser
945 950 955 960

Val Thr Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val Asp
965 970 975

Cys Thr Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu Leu
980 985 990

Leu Gln Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr Gly
995 1000 1005

Ile Ala Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln
1010 1015 1020

Val Lys Gln Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly
1025 1030 1035

Phe Asn Phe Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys
1040 1045 1050

Arg Ser Phe Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala
1055 1060 1065

Asp Ala Gly Phe Ile Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile
1070 1075 1080

Ala Ala Arg Asp Leu Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr
1085 1090 1095

Val Leu Pro Pro Leu Leu Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr
1100 1105 1110

Ser Ala Leu Leu Ala Gly Thr Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly
1115 1120 1125

Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile Pro Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr
1130 1135 1140

Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr Gln Asn Val Leu Tyr Glu Asn
1145 1150 1155

Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn Ser Ala Ile Gly Lys Ile
1160 1165 1170

Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala Leu Gly Lys Leu Gln
1175 1180 1185

Asp Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn Thr Leu Val Lys
1190 1195 1200

Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu Asn Asp
1205 1210 1215

Ile Leu Ser Arg Leu Asp Lys Val Glu Ala Glu Val Gln Ile Asp
1220 1225 1230

Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val Thr
1235 1240 1245

Gln Gln Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn Leu
1250 1255 1260

Ala Ala Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys Arg
1265 1270 1275

Val Asp Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro Gln
1280 1285 1290

Ser Ala Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val Pro
1295 1300 1305

Ala Gln Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His Asp
1310 1315 1320

Gly Lys Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn Gly
1325 1330 1335

Thr His Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln Ile
1340 1345 1350

Ile Thr Thr Asp Asn Thr Phe Val Ser Gly Asn Cys Asp Val Val
1355 1360 1365

Ile Gly Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu
1370 1375 1380

Leu Asp Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn His
1385 1390 1395

Thr Ser Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn Ala
1400 1405 1410

Ser Val Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val
1415 1420 1425

Ala Lys Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly
1430 1435 1440

Lys Tyr Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly
1445 1450 1455

Phe Ile Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu
1460 1465 1470

Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser
1475 1480 1485

Cys Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val
1490 1495 1500

Leu Lys Gly Val Lys Leu His Tyr Thr
1505 1510

<210> 10
<211> 1779
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 融合蛋白HPV18L1/SARS-CoV-2棘蛋白

<400> 10

Met Ala Leu Trp Arg Pro Ser Asp Asn Thr Val Tyr Leu Pro Pro Pro
1 5 10 15

Ser Val Ala Arg Val Val Asn Thr Asp Asp Tyr Val Thr Arg Thr Ser
20 25 30

Ile Phe Tyr His Ala Gly Ser Ser Arg Leu Leu Thr Val Gly Asn Pro
35 40 45

Tyr Phe Arg Val Pro Ala Gly Gly Gly Asn Lys Gln Asp Ile Pro Lys
50 55 60

Val Ser Ala Tyr Gln Tyr Arg Val Phe Arg Val Gln Leu Pro Asp Pro
65 70 75 80

Asn Lys Phe Gly Leu Pro Asp Thr Ser Ile Tyr Asn Pro Glu Thr Gln
85 90 95

Arg Leu Val Trp Ala Cys Ala Gly Val Glu Ile Gly Arg Gly Gln Pro
100 105 110

Leu Gly Val Gly Leu Ser Gly His Pro Phe Tyr Asn Lys Leu Asp Asp
115 120 125

Thr Glu Ser Ser His Ala Ala Thr Ser Asn Val Ser Glu Asp Val Arg
130 135 140

Asp Asn Val Ser Val Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Ile Leu Gly
145 150 155 160

Cys Ala Pro Ala Ile Gly Glu His Trp Ala Lys Gly Thr Ala Cys Lys
165 170 175

Ser Arg Pro Leu Ser Gln Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Lys Asn
180 185 190

Thr Val Leu Glu Asp Gly Asp Met Val Asp Thr Gly Tyr Gly Ala Met
195 200 205

Asp Phe Ser Thr Leu Gln Asp Thr Lys Cys Glu Val Pro Leu Asp Ile
210 215 220

Cys Gln Ser Ile Cys Lys Tyr Pro Asp Tyr Leu Gln Met Ser Ala Asp
225 230 235 240

Pro Tyr Gly Asp Ser Met Phe Phe Cys Leu Arg Arg Glu Gln Leu Phe
245 250 255

Ala Arg His Phe Trp Asn Arg Ala Gly Thr Met Gly Asp Thr Val Pro
260 265 270

Gln Ser Leu Tyr Ile Lys Gly Thr Gly Met Arg Ala Ser Pro Gly Ser
275 280 285

Cys Val Tyr Ser Pro Ser Pro Ser Gly Ser Ile Val Thr Ser Asp Ser
290 295 300

Gln Leu Phe Asn Lys Pro Tyr Trp Leu His Lys Ala Gln Gly His Asn
305 310 315 320

Asn Gly Val Cys Trp His Asn Gln Leu Phe Val Thr Val Val Asp Thr
325 330 335

Thr Arg Ser Thr Asn Leu Thr Ile Cys Ala Ser Thr Gln Ser Pro Val
340 345 350

Pro Gly Gln Tyr Asp Ala Thr Lys Phe Lys Gln Tyr Ser Arg His Val
355 360 365

Glu Glu Tyr Asp Leu Gln Phe Ile Phe Gln Leu Cys Thr Ile Thr Leu
370 375 380

Thr Ala Asp Val Met Ser Tyr Ile His Ser Met Asn Ser Ser Ile Leu
385 390 395 400

Glu Asp Trp Asn Phe Gly Val Pro Pro Pro Pro Thr Thr Ser Leu Val
405 410 415

Asp Thr Tyr Arg Phe Val Gln Ser Val Ala Ile Thr Cys Gln Lys Asp
420 425 430

Ala Ala Pro Ala Glu Asn Lys Asp Pro Tyr Asp Lys Leu Lys Phe Trp
435 440 445

Asn Val Asp Leu Lys Glu Lys Phe Ser Leu Asp Leu Asp Gln Tyr Pro
450 455 460

Leu Gly Arg Lys Phe Leu Val Gln Ala Gly Leu Arg Arg Lys Pro Thr
465 470 475 480

Ile Gly Pro Arg Lys Arg Ser Ala Pro Ser Ala Thr Thr Ser Ser Lys
485 490 495

Pro Ala Lys Arg Val Arg Val Arg Ala Arg Lys Phe Val Phe Leu Val
500 505 510

Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val Asn Leu Thr Thr Arg Thr
515 520 525

Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe Thr Arg Gly Val Tyr Tyr
530 535 540

Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu His Ser Thr Gln Asp Leu
545 550 555 560

Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp Phe His Ala Ile His Val
565 570 575

Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp Asn Pro Val Leu Pro Phe
580 585 590

Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu Lys Ser Asn Ile Ile Arg
595 600 605

Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser Lys Thr Gln Ser Leu Leu
610 615 620

Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile Lys Val Cys Glu Phe Gln
625 630 635 640

Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr Tyr His Lys Asn Asn Lys
645 650 655

Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr Ser Ser Ala Asn Asn Cys
660 665 670

Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu Met Asp Leu Glu Gly Lys
675 680 685

Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe Val Phe Lys Asn Ile Asp
690 695 700

Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr Pro Ile Asn Leu Val Arg
705 710 715 720

Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu Pro Leu Val Asp Leu Pro
725 730 735

Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr Leu Leu Ala Leu His Arg
740 745 750

Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser Gly Trp Thr Ala Gly Ala
755 760 765

Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro Arg Thr Phe Leu Leu Lys
770 775 780

Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala Val Asp Cys Ala Leu Asp
785 790 795 800

Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys Ser Phe Thr Val Glu Lys
805 810 815

Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val Gln Pro Thr Glu Ser Ile
820 825 830

Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe
835 840 845

Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile
850 855 860

Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe
865 870 875 880

Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu
885 890 895

Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu
900 905 910

Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn
915 920 925

Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser
930 935 940

Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg
945 950 955 960

Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr
965 970 975

Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe
980 985 990

Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly
995 1000 1005

Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu
1010 1015 1020

Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Lys Ser Thr Asn
1025 1030 1035

Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn Gly Leu Thr
1040 1045 1050

Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu Pro Phe
1055 1060 1065

Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val Arg
1070 1075 1080

Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe
1085 1090 1095

Gly Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln
1100 1105 1110

Val Ala Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val
1115 1120 1125

Ala Ile His Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser
1130 1135 1140

Thr Gly Ser Asn Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly
1145 1150 1155

Ala Glu His Val Asn Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly
1160 1165 1170

Ala Gly Ile Cys Ala Ser Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg
1175 1180 1185

Arg Ala Arg Ser Val Ala Ser Gln Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met
1190 1195 1200

Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser Val Ala Tyr Ser Asn Asn Ser Ile
1205 1210 1215

Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile Ser Val Thr Thr Glu Ile Leu
1220 1225 1230

Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val Asp Cys Thr Met Tyr Ile
1235 1240 1245

Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu Leu Leu Gln Tyr Gly
1250 1255 1260

Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr Gly Ile Ala Val
1265 1270 1275

Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln Val Lys Gln
1280 1285 1290

Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe Asn Phe
1295 1300 1305

Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser Phe
1310 1315 1320

Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly
1325 1330 1335

Phe Ile Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg
1340 1345 1350

Asp Leu Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro
1355 1360 1365

Pro Leu Leu Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu
1370 1375 1380

Leu Ala Gly Thr Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala
1385 1390 1395

Ala Leu Gln Ile Pro Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn
1400 1405 1410

Gly Ile Gly Val Thr Gln Asn Val Leu Tyr Glu Asn Gln Lys Leu
1415 1420 1425

Ile Ala Asn Gln Phe Asn Ser Ala Ile Gly Lys Ile Gln Asp Ser
1430 1435 1440

Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala Leu Gly Lys Leu Gln Asp Val Val
1445 1450 1455

Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn Thr Leu Val Lys Gln Leu Ser
1460 1465 1470

Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu Asn Asp Ile Leu Ser
1475 1480 1485

Arg	Leu	Asp	Lys	Val	Glu	Ala	Glu	Val	Gln	Ile	Asp	Arg	Leu	Ile
1490						1495					1500			
Thr	Gly	Arg	Leu	Gln	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Val	Thr	Gln	Gln	Leu
1505						1510					1515			
Ile	Arg	Ala	Ala	Glu	Ile	Arg	Ala	Ser	Ala	Asn	Leu	Ala	Ala	Thr
1520						1525					1530			
Lys	Met	Ser	Glu	Cys	Val	Leu	Gly	Gln	Ser	Lys	Arg	Val	Asp	Phe
1535						1540					1545			
Cys	Gly	Lys	Gly	Tyr	His	Leu	Met	Ser	Phe	Pro	Gln	Ser	Ala	Pro
1550						1555					1560			
His	Gly	Val	Val	Phe	Leu	His	Val	Thr	Tyr	Val	Pro	Ala	Gln	Glu
1565						1570					1575			
Lys	Asn	Phe	Thr	Thr	Ala	Pro	Ala	Ile	Cys	His	Asp	Gly	Lys	Ala
1580						1585					1590			
His	Phe	Pro	Arg	Glu	Gly	Val	Phe	Val	Ser	Asn	Gly	Thr	His	Trp
1595						1600					1605			
Phe	Val	Thr	Gln	Arg	Asn	Phe	Tyr	Glu	Pro	Gln	Ile	Ile	Thr	Thr
1610						1615					1620			
Asp	Asn	Thr	Phe	Val	Ser	Gly	Asn	Cys	Asp	Val	Val	Ile	Gly	Ile
1625						1630					1635			
Val	Asn	Asn	Thr	Val	Tyr	Asp	Pro	Leu	Gln	Pro	Glu	Leu	Asp	Ser
1640						1645					1650			
Phe	Lys	Glu	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Phe	Lys	Asn	His	Thr	Ser	Pro
1655						1660					1665			
Asp	Val	Asp	Leu	Gly	Asp	Ile	Ser	Gly	Ile	Asn	Ala	Ser	Val	Val
1670						1675					1680			

Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val Ala Lys Asn
1685 1690 1695

Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly Lys Tyr Glu
1700 1705 1710

Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe Ile Ala
1715 1720 1725

Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu Cys Cys Met
1730 1735 1740

Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser Cys Gly Ser
1745 1750 1755

Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val Leu Lys Gly
1760 1765 1770

Val Lys Leu His Tyr Thr
1775

<210> 11
<211> 1777
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 融合蛋白HPV16L1/SARS-CoV-2棘蛋白

<400> 11

Met Ser Leu Trp Leu Pro Ser Glu Ala Thr Val Tyr Leu Pro Pro Val
1 5 10 15

Pro Val Ser Lys Val Val Ser Thr Asp Glu Tyr Val Ala Arg Thr Asn
20 25 30

Ile Tyr Tyr His Ala Gly Thr Ser Arg Leu Leu Ala Val Gly His Pro
35 40 45

Tyr Phe Pro Ile Lys Lys Pro Asn Asn Asn Lys Ile Leu Val Pro Lys
50 55 60

Val Ser Gly Leu Gln Tyr Arg Val Phe Arg Ile His Leu Pro Asp Pro
65 70 75 80

Asn Lys Phe Gly Phe Pro Asp Thr Ser Phe Tyr Asn Pro Asp Thr Gln
85 90 95

Arg Leu Val Trp Ala Cys Val Gly Val Glu Val Gly Arg Gly Gln Pro
100 105 110

Leu Gly Val Gly Ile Ser Gly His Pro Leu Leu Asn Lys Leu Asp Asp
115 120 125

Thr Glu Asn Ala Ser Ala Tyr Ala Ala Asn Ala Gly Val Asp Asn Arg
130 135 140

Glu Cys Ile Ser Met Asp Tyr Lys Gln Thr Gln Leu Cys Leu Ile Gly
145 150 155 160

Cys Lys Pro Pro Ile Gly Glu His Trp Gly Lys Gly Ser Pro Cys Thr
165 170 175

Asn Val Ala Val Asn Pro Gly Asp Cys Pro Pro Leu Glu Leu Ile Asn
180 185 190

Thr Val Ile Gln Asp Gly Asp Met Val Asp Thr Gly Phe Gly Ala Met
195 200 205

Asp Phe Thr Thr Leu Gln Ala Asn Lys Ser Glu Val Pro Leu Asp Ile
210 215 220

Cys Thr Ser Ile Cys Lys Tyr Pro Asp Tyr Ile Lys Met Val Ser Glu
225 230 235 240

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

Val Asn Leu Lys Glu Lys Phe Ser Ala Asp Leu Asp Gln Phe Pro Leu
450 455 460

Gly Arg Lys Phe Leu Leu Gln Ala Gly Leu Lys Ala Lys Pro Lys Phe
465 470 475 480

Thr Leu Gly Lys Arg Lys Ala Thr Pro Thr Thr Ser Ser Thr Ser Thr
485 490 495

Thr Ala Lys Arg Lys Lys Arg Lys Leu Phe Val Phe Leu Val Leu Leu
500 505 510

Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val Asn Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu
515 520 525

Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe Thr Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp
530 535 540

Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu His Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu
545 550 555 560

Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp Phe His Ala Ile His Val Ser Gly
565 570 575

Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp Asn Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp
580 585 590

Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu Lys Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp
595 600 605

Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser Lys Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val
610 615 620

Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile Lys Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys
625 630 635 640

Asn	Asp	Pro	Phe	Leu	Gly	Val	Tyr	Tyr	His	Lys	Asn	Asn	Lys	Ser	Trp
645				650				655							
Met	Glu	Ser	Glu	Phe	Arg	Val	Tyr	Ser	Ser	Ala	Asn	Asn	Cys	Thr	Phe
660				665				670							
Glu	Tyr	Val	Ser	Gln	Pro	Phe	Leu	Met	Asp	Leu	Glu	Gly	Lys	Gln	Gly
675				680				685							
Asn	Phe	Lys	Asn	Leu	Arg	Glu	Phe	Val	Phe	Lys	Asn	Ile	Asp	Gly	Tyr
690				695				700							
Phe	Lys	Ile	Tyr	Ser	Lys	His	Thr	Pro	Ile	Asn	Leu	Val	Arg	Asp	Leu
705				710				715				720			
Pro	Gln	Gly	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Pro	Leu	Val	Asp	Leu	Pro	Ile	Gly
725				730				735							
Ile	Asn	Ile	Thr	Arg	Phe	Gln	Thr	Leu	Leu	Ala	Leu	His	Arg	Ser	Tyr
740				745				750							
Leu	Thr	Pro	Gly	Asp	Ser	Ser	Ser	Gly	Trp	Thr	Ala	Gly	Ala	Ala	Ala
755				760				765							
Tyr	Tyr	Val	Gly	Tyr	Leu	Gln	Pro	Arg	Thr	Phe	Leu	Leu	Lys	Tyr	Asn
770				775				780							
Glu	Asn	Gly	Thr	Ile	Thr	Asp	Ala	Val	Asp	Cys	Ala	Leu	Asp	Pro	Leu
785				790				795				800			
Ser	Glu	Thr	Lys	Cys	Thr	Leu	Lys	Ser	Phe	Thr	Val	Glu	Lys	Gly	Ile
805				810				815							
Tyr	Gln	Thr	Ser	Asn	Phe	Arg	Val	Gln	Pro	Thr	Glu	Ser	Ile	Val	Arg
820				825				830							
Phe	Pro	Asn	Ile	Thr	Asn	Leu	Cys	Pro	Phe	Gly	Glu	Val	Phe	Asn	Ala
835				840				845							

Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn
850 855 860

Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr
865 870 875 880

Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe
885 890 895

Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg
900 905 910

Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys
915 920 925

Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn
930 935 940

Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe
945 950 955 960

Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile
965 970 975

Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys
980 985 990

Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly
995 1000 1005

Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu His
1010 1015 1020

Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys Lys Ser Thr Asn Leu Val
1025 1030 1035

Lys	Asn	Lys	Cys	Val	Asn	Phe	Asn	Phe	Asn	Gly	Leu	Thr	Gly	Thr
1040						1045					1050			
Gly	Val	Leu	Thr	Glu	Ser	Asn	Lys	Lys	Phe	Leu	Pro	Phe	Gln	Gln
1055						1060					1065			
Phe	Gly	Arg	Asp	Ile	Ala	Asp	Thr	Thr	Asp	Ala	Val	Arg	Asp	Pro
1070						1075					1080			
Gln	Thr	Leu	Glu	Ile	Leu	Asp	Ile	Thr	Pro	Cys	Ser	Phe	Gly	Gly
1085						1090					1095			
Val	Ser	Val	Ile	Thr	Pro	Gly	Thr	Asn	Thr	Ser	Asn	Gln	Val	Ala
1100						1105					1110			
Val	Leu	Tyr	Gln	Asp	Val	Asn	Cys	Thr	Glu	Val	Pro	Val	Ala	Ile
1115						1120					1125			
His	Ala	Asp	Gln	Leu	Thr	Pro	Thr	Trp	Arg	Val	Tyr	Ser	Thr	Gly
1130						1135					1140			
Ser	Asn	Val	Phe	Gln	Thr	Arg	Ala	Gly	Cys	Leu	Ile	Gly	Ala	Glu
1145						1150					1155			
His	Val	Asn	Asn	Ser	Tyr	Glu	Cys	Asp	Ile	Pro	Ile	Gly	Ala	Gly
1160						1165					1170			
Ile	Cys	Ala	Ser	Tyr	Gln	Thr	Gln	Thr	Asn	Ser	Pro	Arg	Arg	Ala
1175						1180					1185			
Arg	Ser	Val	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Ile	Ala	Tyr	Thr	Met	Ser	Leu
1190						1195					1200			
Gly	Ala	Glu	Asn	Ser	Val	Ala	Tyr	Ser	Asn	Asn	Ser	Ile	Ala	Ile
1205						1210					1215			
Pro	Thr	Asn	Phe	Thr	Ile	Ser	Val	Thr	Thr	Glu	Ile	Leu	Pro	Val
1220						1225					1230			

Ser Met Thr Lys Thr Ser Val Asp Cys Thr Met Tyr Ile Cys Gly
1235 1240 1245

Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu Leu Leu Gln Tyr Gly Ser Phe
1250 1255 1260

Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr Gly Ile Ala Val Glu Gln
1265 1270 1275

Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala Gln Val Lys Gln Ile Tyr
1280 1285 1290

Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly Gly Phe Asn Phe Ser Gln
1295 1300 1305

Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser Lys Arg Ser Phe Ile Glu
1310 1315 1320

Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu Ala Asp Ala Gly Phe Ile
1325 1330 1335

Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile Ala Ala Arg Asp Leu
1340 1345 1350

Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val Leu Pro Pro Leu
1355 1360 1365

Leu Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala Leu Leu Ala
1370 1375 1380

Gly Thr Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly Ala Ala Leu
1385 1390 1395

Gln Ile Pro Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe Asn Gly Ile
1400 1405 1410

Gly Val	Thr Gln Asn Val	Leu Tyr Glu Asn Gln Lys	Leu Ile Ala
1415		1420	1425
Asn Gln	Phe Asn Ser Ala Ile	Gly Lys Ile Gln Asp	Ser Leu Ser
1430		1435	1440
Ser Thr	Ala Ser Ala Leu Gly	Lys Leu Gln Asp Val	Val Asn Gln
1445		1450	1455
Asn Ala	Gln Ala Leu Asn Thr	Leu Val Lys Gln Leu	Ser Ser Asn
1460		1465	1470
Phe Gly	Ala Ile Ser Ser Val	Leu Asn Asp Ile Leu	Ser Arg Leu
1475		1480	1485
Asp Lys	Val Glu Ala Glu Val	Gln Ile Asp Arg Leu	Ile Thr Gly
1490		1495	1500
Arg Leu	Gln Ser Leu Gln Thr	Tyr Val Thr Gln Gln	Leu Ile Arg
1505		1510	1515
Ala Ala	Glu Ile Arg Ala Ser	Ala Asn Leu Ala Ala	Thr Lys Met
1520		1525	1530
Ser Glu	Cys Val Leu Gly Gln	Ser Lys Arg Val Asp	Phe Cys Gly
1535		1540	1545
Lys Gly	Tyr His Leu Met Ser	Phe Pro Gln Ser Ala	Pro His Gly
1550		1555	1560
Val Val	Phe Leu His Val Thr	Tyr Val Pro Ala Gln	Glu Lys Asn
1565		1570	1575
Phe Thr	Thr Ala Pro Ala Ile	Cys His Asp Gly Lys	Ala His Phe
1580		1585	1590
Pro Arg	Glu Gly Val Phe Val	Ser Asn Gly Thr His	Trp Phe Val
1595		1600	1605

Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln Ile Ile Thr Thr Asp Asn
1610 1615 1620

Thr Phe Val Ser Gly Asn Cys Asp Val Val Ile Gly Ile Val Asn
1625 1630 1635

Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu Leu Asp Ser Phe Lys
1640 1645 1650

Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn His Thr Ser Pro Asp Val
1655 1660 1665

Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn Ala Ser Val Val Asn Ile
1670 1675 1680

Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val Ala Lys Asn Leu Asn
1685 1690 1695

Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly Lys Tyr Glu Gln Tyr
1700 1705 1710

Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe Ile Ala Gly Leu
1715 1720 1725

Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu Cys Cys Met Thr Ser
1730 1735 1740

Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser Cys Gly Ser Cys Cys
1745 1750 1755

Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val Leu Lys Gly Val Lys
1760 1765 1770

Leu His Tyr Thr
1775

<210> 12
<211> 1407
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 融合蛋白HBSAg/SARS-CoV-2棘蛋白

<400> 12

Met Asn Phe Leu Gly Gly Thr Thr Val Cys Leu Gly Gln Asn Ser Gln
1 5 10 15

Ser Pro Thr Ser Asn His Ser Pro Thr Ser Cys Pro Pro Thr Cys Pro
20 25 30

Gly Tyr Arg Trp Met Cys Leu Arg Arg Phe Ile Ile Phe Leu Phe Ile
35 40 45

Leu Leu Leu Cys Leu Ile Phe Leu Leu Val Leu Leu Asp Tyr Gln Gly
50 55 60

Met Leu Pro Val Cys Pro Leu Ile Pro Gly Ser Ser Thr Thr Ser Thr
65 70 75 80

Gly Pro Cys Arg Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Tyr
85 90 95

Pro Ser Cys Cys Cys Thr Lys Pro Ser Asp Gly Asn Cys Thr Cys Ile
100 105 110

Pro Ile Pro Ser Ser Trp Ala Phe Gly Lys Phe Leu Trp Glu Trp Ala
115 120 125

Ser Ala Arg Phe Ser Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser
130 135 140

Ser Gln Cys Val Asn Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr
145 150 155 160

Thr Asn Ser Phe Thr Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg
165 170 175

Ser Ser Val Leu His Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser
180 185 190

Asn Val Thr Trp Phe His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr
195 200 205

Lys Arg Phe Asp Asn Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe
210 215 220

Ala Ser Thr Glu Lys Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr
225 230 235 240

Thr Leu Asp Ser Lys Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr
245 250 255

Asn Val Val Ile Lys Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe
260 265 270

Leu Gly Val Tyr Tyr His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu
275 280 285

Phe Arg Val Tyr Ser Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser
290 295 300

Gln Pro Phe Leu Met Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn
305 310 315 320

Leu Arg Glu Phe Val Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr
325 330 335

Ser Lys His Thr Pro Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe
340 345 350

Ser Ala Leu Glu Pro Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr
355 360 365

Arg Phe Gln Thr Leu Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly
370 375 380

Asp Ser Ser Ser Gly Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly
385 390 395 400

Tyr Leu Gln Pro Arg Thr Phe Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr
405 410 415

Ile Thr Asp Ala Val Asp Cys Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys
420 425 430

Cys Thr Leu Lys Ser Phe Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser
435 440 445

Asn Phe Arg Val Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile
450 455 460

Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala
465 470 475 480

Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp
485 490 495

Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr
500 505 510

Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr
515 520 525

Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro
530 535 540

Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp
545 550 555 560

Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys
565 570 575

Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn
580 585 590

Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly
595 600 605

Ser Thr Pro Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu
610 615 620

Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr
625 630 635 640

Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val
645 650 655

Cys Gly Pro Lys Lys Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn
660 665 670

Phe Asn Phe Asn Gly Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn
675 680 685

Lys Lys Phe Leu Pro Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr
690 695 700

Thr Asp Ala Val Arg Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr
705 710 715 720

Pro Cys Ser Phe Gly Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr
725 730 735

Ser Asn Gln Val Ala Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val
740 745 750

Pro Val Ala Ile His Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr
755 760 765

Ser Thr Gly Ser Asn Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly
770 775 780

Ala Glu His Val Asn Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala
785 790 795 800

Gly Ile Cys Ala Ser Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala
805 810 815

Arg Ser Val Ala Ser Gln Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly
820 825 830

Ala Glu Asn Ser Val Ala Tyr Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr
835 840 845

Asn Phe Thr Ile Ser Val Thr Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr
850 855 860

Lys Thr Ser Val Asp Cys Thr Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu
865 870 875 880

Cys Ser Asn Leu Leu Leu Gln Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn
885 890 895

Arg Ala Leu Thr Gly Ile Ala Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu
900 905 910

Val Phe Ala Gln Val Lys Gln Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp
915 920 925

Phe Gly Gly Phe Asn Phe Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro
930 935 940

Ser Lys Arg Ser Phe Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu
945 950 955 960

Ala Asp Ala Gly Phe Ile Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp Ile
965 970 975

Ala Ala Arg Asp Leu Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu Thr Val
980 985 990

Leu Pro Pro Leu Leu Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr Thr Ser Ala
995 1000 1005

Leu Leu Ala Gly Thr Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe Gly Ala Gly
1010 1015 1020

Ala Ala Leu Gln Ile Pro Phe Ala Met Gln Met Ala Tyr Arg Phe
1025 1030 1035

Asn Gly Ile Gly Val Thr Gln Asn Val Leu Tyr Glu Asn Gln Lys
1040 1045 1050

Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn Ser Ala Ile Gly Lys Ile Gln Asp
1055 1060 1065

Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala Leu Gly Lys Leu Gln Asp Val
1070 1075 1080

Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn Thr Leu Val Lys Gln Leu
1085 1090 1095

Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu Asn Asp Ile Leu
1100 1105 1110

Ser Arg Leu Asp Lys Val Glu Ala Glu Val Gln Ile Asp Arg Leu
1115 1120 1125

Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val Thr Gln Gln
1130 1135 1140

Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn Leu Ala Ala
1145 1150 1155

Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys Arg Val Asp
1160 1165 1170

Phe Cys Gly Lys Gly Tyr His Leu Met Ser Phe Pro Gln Ser Ala
1175 1180 1185

Pro His Gly Val Val Phe Leu His Val Thr Tyr Val Pro Ala Gln
1190 1195 1200

Glu Lys Asn Phe Thr Thr Ala Pro Ala Ile Cys His Asp Gly Lys
1205 1210 1215

Ala His Phe Pro Arg Glu Gly Val Phe Val Ser Asn Gly Thr His
1220 1225 1230

Trp Phe Val Thr Gln Arg Asn Phe Tyr Glu Pro Gln Ile Ile Thr
1235 1240 1245

Thr Asp Asn Thr Phe Val Ser Gly Asn Cys Asp Val Val Ile Gly
1250 1255 1260

Ile Val Asn Asn Thr Val Tyr Asp Pro Leu Gln Pro Glu Leu Asp
1265 1270 1275

Ser Phe Lys Glu Glu Leu Asp Lys Tyr Phe Lys Asn His Thr Ser
1280 1285 1290

Pro Asp Val Asp Leu Gly Asp Ile Ser Gly Ile Asn Ala Ser Val
1295 1300 1305

Val Asn Ile Gln Lys Glu Ile Asp Arg Leu Asn Glu Val Ala Lys
1310 1315 1320

Asn Leu Asn Glu Ser Leu Ile Asp Leu Gln Glu Leu Gly Lys Tyr
1325 1330 1335

Glu Gln Tyr Ile Lys Trp Pro Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe Ile
1340 1345 1350

Ala Gly Leu Ile Ala Ile Val Met Val Thr Ile Met Leu Cys Cys
1355 1360 1365

Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys Ser Cys Gly
1370 1375 1380

Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro Val Leu Lys
1385 1390 1395

Gly Val Lys Leu His Tyr Thr Ala Ala
1400 1405

<210> 13
<211> 665
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> RBD SARS-CoV-2棘蛋白核酸

<400> 13	
gctagcgacg ccaccatgag agtccaacca acagaatcta ttgtagatt tcctaataatt	60
acaaacttgt gcccttttgg tgaagttttt aacgccacca gatttgcata tgtttatgct	120
tggaacagga agagaatcag caactgtgtt gctgattatt ctgtcctata taattccgca	180
tcattttcca cttttaagtg ttatggagtg tctcctacta aattaaatga tctctgcttt	240
actaatgtct atgcagattc atttgaatt agaggtagtg aagtcagaca aatcgctcca	300
gggcaaactg gaaagattgc tgattataat tataaattac cagatgattt tacaggctgc	360
gttatagctt ggaattctaa caatcttgat tctaagggtg gtggtaatta taattacctg	420
tatagattgt ttaggaagtc taatctcaaa ccttttgaga gagatatttc aactgaaatc	480
tatcaggccg gtagcacacc ttgtaatggt gttgaagggt ttaattgtta ctttccttta	540
caatcatatg gtttccaacc cactaatggt gttggttacc aaccatacag agtagtagta	600
ctttcttttg aacttctaca tgcaccagca actgtttgtg gacctaaaaa gtgataagcg	660

gccgc 665

<210> 14
<211> 665
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> RBD SARS-CoV-2棘蛋白核酸序列 - 經人類密碼子最佳化

<400> 14
gctagcgacg ccaccatgag agtgcagcct acagagtcta tcgtgcggtt ccccaacatc 60

accaatctgt gccctttcgg cgaggtgttc aacgccacaa gatttgccag cgtgtacgcc 120

tggaaccgga agagaatcag caactgcgtg gccgactaca gcgtgctgta caatagcgcc 180

agcttcagca ctttcaagtg ctacggcgtg tccccaccca agctgaacga cctgtgcttc 240

accaatgtgt acgccgacag cttcgtgacg agaggcgacg aagttcggca gatcgtcctt 300

ggacagacag gcaagatcgc cgattacaac tacaagctgc ccgacgactt caccggctgc 360

gtgatcgcct ggaatagcaa caacctggac agcaaagtcg gcggcaacta caactacctg 420

taccggctgt tccggaagtc caacctgaag cttttcgagc gggacatcag caccgagatc 480

tatcaggccg gcagcacccc ttgtaatggc gtggaaggct tcaactgcta cttcccactg 540

cagtcctacg gcttccagcc taaaacggc gtgggctacc agccttatag agtggtggtg 600

ctgagcttcg aactgctgca tgccccctgt acagtgtgcy gcccgaagaa gtgataagcg 660

gccgc 665

<210> 15
<211> 212
<212> PRT
<213> SARS-CoV-2

<400> 15

Met Arg Val Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr
1 5 10 15

Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser
20 25 30

Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr
35 40 45

Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly
50 55 60

Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly
85 90 95

Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe
100 105 110

Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val
115 120 125

Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu
130 135 140

Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser
145 150 155 160

Thr Pro Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln
165 170 175

Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg
180 185 190

Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys
195 200 205

Gly Pro Lys Lys
210

<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> EAAAK連接子一致序列

<400> 16

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Ala
1 5

<210> 17
<211> 45
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> (EAAAK)3連接子

<400> 17
gaagccgccg ctaaagaggc cgctgccaaa gaagctgctg ctaag 45

<210> 18
<211> 15
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> (EAAAK)3連接子

<400> 18

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
1 5 10 15

<210> 19
<211> 5
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> GS連接子一致序列

<400> 19

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 20
<211> 5
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> GS5連接子

<400> 20

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 21
<211> 10
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> GS10連接子

<400> 21

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 22
<211> 45
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> GS15連接子

<400> 22
ggtgggtggtg gtagcgggtgg tggcgggttca ggtggcgggtg gtica 45

<210> 23
<211> 15
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> GS15連接子

<400> 23

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 24
<211> 20
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> GS20連接子

<400> 24

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 25
<211> 25
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> GS25連接子

<400> 25

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 26
<211> 1427
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>

<223> HBSAg-(EAAAK)3-RBD

<400> 26

gctagcgacg ccacatgat tgcactgacc ctgtttaac tggcagatac cctgttaggt	60
ggtctgccga ccgaactgat tagcagtgcc ggtggtcagc tgttttatag ccgtccggtt	120
gttagcgcaa atggatgaacc gaccgttaaa ctgtatacca gcgttgaaaa tgcacagcag	180
gataaaggta ttgcaattcc gcatgatatt gatctgggtg aaagccgtgt tgtgattcag	240
gattatgata atcagcatga acaggatcgt ccgacaccga gtccggcacc gagccgtccg	300
tttagcgttc tgcgtgcaaa tgatgttctg tggctgagcc tgaccgcagc agaatatgat	360
cagagcacct atggtagcag caccggtccg gtttatgita gcgatagcgt taccctggtt	420
aatgttgcaa ccggtgcaca ggcagttgca cgtagccctg attggaccaa agtgaccctg	480
gatggtcgtc cgctgagcac cattcagcag tatagcaaaa ccttttttgt tctgccgctg	540
cgtggtaaac tgagcttttg ggaagcaggc accaccaaag caggttatcc gtataactat	600
aataccaccg caagcgatca gctgctgggt gaaaacgcag caggtcacgt tgttgcaatt	660
agcacctata ccaccagttt aggtgcaggt ccggttagca ttagcgcagt tgcagttctg	720
gcaccgcatt cagccgaagc agccgctaaa gaagcagccg ctaaagaagc agccgctaaa	780
agagtccaac caacagaatc tattgttaga ttctctaata ttacaaactt gtgccctttt	840
ggtgaagttt ttaacgccac cagatttgca tctgtttatg cttggaacag gaagagaatc	900
agcaactgtg ttgctgatta ttctgtccta tataattccg catcattttc cacttttaag	960
tgttatggag tgtctcctac taaattaaat gatctctgct ttactaatgt ctatgcagat	1020
tcatttgtaa ttagaggatga tgaagtcaga caaatcgctc cagggcaaac tggaaagatt	1080
gctgattata attataaatt accagatgat ttacaggtc gcgttatagc ttggaattct	1140
aacaatcttg attctaaggt tgggtggtaat tataattacc tgtatagatt gtttaggaag	1200
tctaattctca aaccttttga gagagatatt tcaactgaaa tctatcaggc cggtagcaca	1260
ccttgtaatg gtgttggaagg ttttaattgt tactttcctt tacaatcata tggtttccaa	1320
cccactaatg gtgttggtta ccaaccatac agagtagtag tactttcttt tgaacttcta	1380

catgcaccag caactgtttg tggacctaaa aagtgataag cggccgc	1427
<210> 27	
<211> 1106	
<212> DNA	
<213> 人造序列	
<220>	
<223> HBSAg-(EAAAK)3-RBD核酸序列，經人類密碼子最佳化	
<400> 27	
gctagcgacg ccacatgaa ttttctcggc ggcacaacag tgtgcctggg ccagaatagc	60
cagttccta ccagcaatca cagccccacc agctgtctc caacctgtcc tggctacaga	120
tggatgtgcc tgcggcggtt catcatcttt ctgttcatcc tgcctgtgtg cctgatcttc	180
ctgctgggtg tgcctgatta ccagggaatg ctgccttgtt gtccctctgat ccctggcagc	240
agcacaacaa gcacaggccc ttgcagaacc tgcacaacac cagctcaggg caccagcatg	300
taccctagct gctgtgttac caagcctagc gacggcaact gcacatgcat cccattcct	360
agcagctggg ccttcggcaa gtttctgtgg gaatgggcca gcgccagatt ttccgaagcc	420
gccgctaaag aggccgtgc caaagaagct gctgctaaga gattgcagcc caccgagtct	480
atcgtgcggt tccccaatat caccaatctg tgccctttcg gcgagggtgt caacgccaca	540
agatttgcca gcgtgtacgc ctggaaccgg aagagaatca gcaactgcgt ggccgactac	600
agcgtgctgt acaatagcgc cagcttcagc accttcaagt gctacggcgt gtcccctacc	660
aagctgaacg acctgtgctt caccaatgtg tacgccgaca gcttcgtgat cagaggcgac	720
gaagttcggc agatcgctcc tggacagaca ggcaagatcg ccgattacaa ctacaagctg	780
cccagcact tcaccggctg cgtgatcgcc tggaatagca acaacctgga cagcaaagtc	840
ggcggcaact acaactacct gtaccggctg ttccggaagt ccaacctgaa gcctttcgag	900
cgggacatca gcaccgaaat ctaccaggcc ggcagcacc cttgtaatgg cgtggaaggc	960
ttcaactgct acttcccact gcagtcctac ggcttcagc ctacaaacgg cgtgggctac	1020
cagccttata gagtgggtgt gctgagcttc gaactgctgc atgcccctgc tacagtgtgc	1080
ggccccaaga agtgataagc ggccgc	1106

<210> 28
<211> 359
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> HBSAg-(EAAAK)3-RBD

<400> 28

Met Asn Phe Leu Gly Gly Thr Thr Val Cys Leu Gly Gln Asn Ser Gln
1 5 10 15

Ser Pro Thr Ser Asn His Ser Pro Thr Ser Cys Pro Pro Thr Cys Pro
20 25 30

Gly Tyr Arg Trp Met Cys Leu Arg Arg Phe Ile Ile Phe Leu Phe Ile
35 40 45

Leu Leu Leu Cys Leu Ile Phe Leu Leu Val Leu Leu Asp Tyr Gln Gly
50 55 60

Met Leu Pro Val Cys Pro Leu Ile Pro Gly Ser Ser Thr Thr Ser Thr
65 70 75 80

Gly Pro Cys Arg Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Thr Ser Met Tyr
85 90 95

Pro Ser Cys Cys Cys Thr Lys Pro Ser Asp Gly Asn Cys Thr Cys Ile
100 105 110

Pro Ile Pro Ser Ser Trp Ala Phe Gly Lys Phe Leu Trp Glu Trp Ala
115 120 125

Ser Ala Arg Phe Ser Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
130 135 140

Ala Ala Ala Lys Arg Val Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro
145 150 155 160

Asn Ile Thr Asn Leu Cys Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg
165 170 175

Phe Ala Ser Val Tyr Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val
180 185 190

Ala Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys
195 200 205

Cys Tyr Gly Val Ser Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn
210 215 220

Val Tyr Ala Asp Ser Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile
225 230 235 240

Ala Pro Gly Gln Thr Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro
245 250 255

Asp Asp Phe Thr Gly Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp
260 265 270

Ser Lys Val Gly Gly Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys
275 280 285

Ser Asn Leu Lys Pro Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln
290 295 300

Ala Gly Ser Thr Pro Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe
305 310 315 320

Pro Leu Gln Ser Tyr Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln
325 330 335

Pro Tyr Arg Val Val Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala
340 345 350

Thr Val Cys Gly Pro Lys Lys
355

<210> 29
<211> 1418
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> HEV-GS15-RBD

<400> 29	
gagctcatga ttgcactgac cctgtttaat ctggcagata ccctgctggg tggctctgccg	60
accgaactga ttagcagtgc cgggtggtcag ctgttttata gccgtccggt tgtttagcgca	120
aatggtgaac cgaccgttaa actgtatacc agcgttgaaa atgcacagca ggataaaggt	180
attgcaattc cgcatgatat tgatctgggt gaaagccgtg ttgtgattca ggattatgat	240
aatcagcatg aacaggatcg tccgaccccg agtccggcac cgagccgtcc gtttagcggt	300
ctgcgtgcaa atgatgttct gtggctgagc ctgaccgcag cagaatatga tcagagcacc	360
tatggtagca gcaccgggtcc ggtttatgtt agcgatagcg ttaccctggt taatgttgca	420
accggtgcac aggcagttgc acgtagcctg gattggacca aagtgacct ggatggctcgt	480
ccgtgagca ccattcagca gtatagcaaa accttttttg ttctgccgt gcgtggtaaa	540
ctgagctttt gggaagcagg caccacaaa gcaggttatc cgtataacta taataccacc	600
gcaagcgatc agctgctggt tgaaaacgca gcaggtcac gtgttgcaat tagcacctat	660
accaccagtc tgggtgcagg tccggttagc attagcgag ttgcagttct ggcaccgcat	720
agcgcaggtg gaggagggtc tggaggcggg ggaagtggg gcggaggtag cagagtccaa	780
ccaacagaat ctattgtag atttccaat attacaaact tgtgcccttt tggatgaagt	840
tttaacgcca ccagatttgc atctgtttat gcttggaaca ggaagagaat cagcaactgt	900
gttgctgatt attctgtcct atataattcc gcatcattti ccacttttaa gtgttatgga	960
gtgtctccta ctaaattaaa tgatctctgc ttactaatg tctatgcaga ttcatttgta	1020
attagagggtg atgaagtcag acaaatcgct ccagggcaaa ctggaaagat tgctgattat	1080
aattataaat taccagatga ttttacaggc tgcgttatag cttggaattc taacaatctt	1140

gattctaagg ttggtagtaa ttataattac ctgtatagat tgtttaggaa gtctaattctc 1200

aaaccttttg agagagatat ttcaactgaa atctatcagg ccggtagcac accttgtaat 1260

ggtgttgaag gttttaattg ttactttcct ttacaatcat atggtttcca acccactaat 1320

ggtgttgggt accaaccata cagagtagta gtactttcct ttgaacttct acatgcacca 1380

gcaactgttt gtggacctaa aaagtataa gcggccgc 1418

<210> 30

<211> 1418

<212> DNA

<213> 人造序列

<220>

<223> HEV-GS15-RBD核酸序列，經最佳化以用於大腸桿菌表現

<400> 30

gagctcatga ttgcactgac cctgtttaat ctggcagata ccctgttagg tggctctgccg 60

accgaactga ttagcagtgc cggtagtcag ctgttttata gccgtccggt tgttagcgca 120

aatggtgaac cgaccgttaa actgtatacc agcgttgaaa atgcacagca ggataaagg 180

attgcaattc cgcatgatat tgatctgggt gaaagccgtg ttgtgattca ggattatgat 240

aatcagcatg aacaggatcg tccgacaccg agtccggcac cgagccgtcc gtttagcggt 300

ctgcgtgcaa atgatgttct gtggctgagc ctgaccgcag cagaatatga tcagagcacc 360

tatggtagca gcaccgggtc ggtttatgtt agcgatagcg ttaccctggt taatgttgca 420

accggtgcac aggcagttgc acgtagcctg gattggacca aagtgaccct ggatggtcgt 480

ccgctgagca ccattcagca gtatagcaaa accttttttg ttctgccgct gcgtggtaaa 540

ctgagctttt gggaagcagg caccacaaa gcaggttatc cgtataacta taataccacc 600

gcaagcgatc agctgctggt tgaaaacgca gcaggatcgc gtgttgcaat tagcacctat 660

accaccagtt taggtgcagg tccggttagc attagcgcag ttgcagttct ggcaccgcat 720

tcagccggtg gtggtggtag cggtagtggtc gggtcaggtg gcggtggttc acgtgttcag 780

ccgacagaaa gcattgttcg ttttccgaat atcaccaatc tgtgtccgtt tggcgaagtt 840

tttaatgcaa cccgttttgc aagcgtttat gcctggaatc gtaaactgat tagcaattgc 900

gttgccgatt atagcgtgct gtataatagc gcaagcttta gcacctttaa atgctatggt 960

gttagcccca ccaaactgaa tgatctgtgt ttaccaatg tgtatgccga tagctttgtg 1020

attcgtggtg atgaagttcg tcagattgca ccgggtcaga ccggtaaaat tgcagattat 1080

aactacaaac tgccggatga ttttacgggt tgtgttattg catggaatag caataacctg 1140

gatagcaaag ttggtggcaa ctataactat ctgtatcgcc tgtttcgtaa gagcaatctg 1200

aaaccgtttg aacgtgatat tagcaccgaa atttatcagg caggtagcac cccgtgcaat 1260

ggtgttgaag gttttaattg ttattttccg ctgcagagct atggttttca gcctaccaat 1320

ggtgtgggtt atcagccgta tcgtgttgtt gttctgtcat ttgaactgct gcatgcaccg 1380

gcaaccgttt gtggtccgaa aaaatgataa gcggccgc 1418

<210> 31

<211> 466

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> HEV-GS15-RBD

<400> 31

Met Ile Ala Leu Thr Leu Phe Asn Leu Ala Asp Thr Leu Leu Gly Gly

1 5 10 15

Leu Pro Thr Glu Leu Ile Ser Ser Ala Gly Gly Gln Leu Phe Tyr Ser

20 25 30

Arg Pro Val Val Ser Ala Asn Gly Glu Pro Thr Val Lys Leu Tyr Thr

35 40 45

Ser Val Glu Asn Ala Gln Gln Asp Lys Gly Ile Ala Ile Pro His Asp

50 55 60

Ile Asp Leu Gly Glu Ser Arg Val Val Ile Gln Asp Tyr Asp Asn Gln

65 70 75 80

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

275

280

285

Ala Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val
290 295 300

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

Pro Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser
325 330 335

Phe Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr
340 345 350

Gly Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly
355 360 365

Cys Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly
370 375 380

Asn Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro
385 390 395 400

Phe Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro
405 410 415

Cys Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr
420 425 430

Gly Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val
435 440 445

Val Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro
450 455 460

Lys Lys
465

<210>	32	
<211>	4566	
<212>	DNA	
<213>	人造序列	
<220>		
<223>	HBSAg-(EAAAK)3-全長SARS-CoV-2棘蛋白核酸序列，經人類密碼子最佳化	
<400>	32	
aagcttgccg ccacatgga gaacatcaca tcaggattcc taggaccct gctcgtgtta	60	
caggcggggt ttttcttggt gacaagaatc ctacacaatc cacagagtct agactcgtgg	120	
tggactttct tcaattttct agggggatca cccgtgtgtc tgggccaaaa ttgcgagtc	180	
ccaacctcca atcactcacc aacctcttgt cctccaattt gtcttggtta tcgctggatg	240	
tgtctgcggc gttttatcat attcctcttc atcctgtgtc tatgcctcat cttcttggtg	300	
gttcttctgg actaccaggg tatgttcccc gtttgctctc taattccagg atcaacaact	360	
accaacacgg gaccatgcaa gacctgcacg actcctgtct aaggaaactc tatgtttccc	420	
tcttgttgct gtacaaaacc taccgacgga aactgcactt gtattcccat cccatcatcc	480	
tgggctttcg caaaatacct atgggagttg gcctcagtc gtttctctg gctcagttta	540	
ctagtgccat ttgttcagtg gtctgtaggg ctttccccca ctgtttggct ttccgctata	600	
tggatgatgt ggtattgggg gccaagtctg tacagcatcg tgagtccctt tatacctcta	660	
ttaccaattt tcttttgtct ttgggtatac attgaggctg ccgcaaagga agccgcagct	720	
aaagaggcag ctgccaagtt cgtgttctct gttctgtgtc ccttggtgtc tagccagtgc	780	
gtgaacctga ccaccagaac acagctgcct ccagcctaca ccaacagctt caccagaggc	840	
gtgtactacc ccgacaaggt gtcccggtcc tccgtgtgtc attctacca ggacctgttc	900	
ctgcctttct tctccaacgt gacctggttc cagccatcc atgtgtctgg caccaacggc	960	
accaagagat tcgacaacct cgtgtgtcct ttcaacgacg ggggtgactt tgccctcacc	1020	
gagaagtcca acatcatcag aggttggtac ttccgcacaa ccttggtacg caagaccag	1080	
agcctgtctg tcgtgaacaa cgccaccaac gtgggtcatc aagtgtgcga gttccagttc	1140	
tgcaacgacc ccttctctgg cgtctactac cacaagaaca acaagtctg gatggaatcc	1200	

gagttccggg tgtactctc cgccaacaac tgcacctcg aatacgtgtc ccagcctttc	1260
ctgatggacc tggaaaggcaa gcagggaac ttcaagaacc tgcgcgagtt cgtgttcaag	1320
aacatcgacg gctacttcaa gatctactcc aagcacacce ctatcaacct cgtgcgggat	1380
ctgcctcagg gcttctctgc tctggaaccc ctggtggatc tgcccatcgg catcaacatc	1440
acccggtttc agacctgct ggccctgcac cggctttatt tgaccttg cgactcctct	1500
tctggctgga ctgctggcgc cgtgcttac tatgtgggt acctgcagcc tcggaccttt	1560
ctgctgaagt acaacgagaa tggcaccatc accgacgccc tggactgtgc tctggatcct	1620
ctgtccgaga caaagtgcac cctgaagtc ttaccgtgg aaaaggcat ctaccagacc	1680
tccaacttcc gggcgcagcc caccgagtct atcgtgcggt tccctaacat caccaacctg	1740
tgtcctttcg gcgagggtgt caatgccacc agattcgct ctgtgtacgc ctggaaccgg	1800
aagcggatct ctaactgct ggccgactac agcgtgctgt acaactccgc ctcttcagc	1860
accttcaagt gctacggcgt gtccctaca aagctgaacg acctgtgctt cacaacgtg	1920
tacccgaca gcttcgtgat ccggggagat gaagtgcggc agatcgctcc tggacagacc	1980
ggcaagatcg ccgattacaa ctacaagctg cccgacgact tcaccggctg tgtgatcgt	2040
tggaactcca acaacctgga ctccaaagtc ggcggcaact acaactacct gtaccggctg	2100
ttccggaagt ctaacctgaa gcctttcgag cgggacatca gcaccgagat ctaccaggct	2160
ggcagcacc cttgtaacgg cgtggaaggc ttcaactgct acttccact gcagtcctac	2220
ggctttcagc ctaccaatgg cgtgggtat cagccctaca gagtgggtgt gctgtccttc	2280
gagctgctgc atgctcctgc taccgtgtgc ggccctaaga aatctaccaa cctggtaag	2340
aacaaatgcg tgaacttcaa cttaacggc ctgaccggca ccggcgtgct gacagagtc	2400
aacaagaagt tctgccatt ccagcagttc ggccgggata tcgccgatac cacagatgcc	2460
gtcagggacc ctacagacct ggaaatcctg gacatcccc cttgctcctt cggcggagt	2520
tctgtgatea cccagggcac caacacctct aaccaggtag ccgtgctgta tcaggacgtg	2580
aactgtaccg aggtgcccgt ggctatccat gccgatcagc tgaccttac atggcgcgtg	2640
tactccaccg gctctaact gtccagaca agagctggct gtctgatcgg cgctgagcac	2700

gtgaacaatt cctacgagtg cgacatcccc atcggagccg gaatctgcgc ctcttatcag	2760
accagacca actctcccag acgggccaga tctgtggcca gccagtctat cattgcttac	2820
accatgagcc tggg'gcgcga gaactctgtg gcctacagca acaactctat cgctatcccc	2880
accaacttca ccatctccgt gaccacagag atcctgccag tgtccatgac caagaccagc	2940
gtggactgca ccatgtacat ctgcggcgac tctaccgagt gctccaacct gctgctccag	3000
tacggctcct tctgcacca gctgaataga gccctgaccg gaatcgccgt ggaacaggac	3060
aagaacaccc aagagggtgtt cgcccaagtg aagcagatct acaagacccc tcctatcaag	3120
gacttcggcg gcttcaattt ctcccagatt ctgcccgatc ctagcaagcc ctccaagcgg	3180
tctttcatcg aggacctgct gttcaacaaa gtgacactgg ccgacgccgg ctctcatcaag	3240
cagtacggcg actgtctggg cgacattgcc gctagggatc tgatctgcgc ccagaagttt	3300
aacggactga cagtgtctgc tcctctgtg accgatgaga tgatcgccca gtacacctcc	3360
gcactgtctg ctggcacaat cacctctgga tggacattt gcgctggcgc tgctctgcaa	3420
atcccattcg ctatgcaaat ggcctaccgg ttcaacggca tcggcgtgac ccagaatgtg	3480
ctgtacgaga accagaagct gatcgccaac cagttcaaca gcgccatcgg aaagatccag	3540
gacagcctgt ccagaccgc ttctgccctg ggaaagctgc aggatgtggt caaccagaac	3600
gctcaggccc tgaacaccct cgtgaagcag ctgtctagca acttcggcgc catctcctct	3660
gtgctgaacg atatcctgag ccggtctggac aaggtggaag ccgaggtgca gatcgacaga	3720
ctgatcaccg gacggtgca gtccctgcag acctatgta ccagcagct gatccgggct	3780
gccagatta gagcctctgc caatctggcc gcaaccaaga tgtctgagtg tgtgtctggga	3840
cagtccaaga gagtggactt ctgcggcaag ggtaccacc tgatgagctt ccctcagtct	3900
gtccttcacg gcgtgggtgtt tctgcacgtg acctacgtgc ccgtcaaga gaagaacttt	3960
accaccgtc ctgccatctg ccacgacggc aaggctcact ttctagaga aggcgtgttc	4020
gtgtctaacg gcacccattg gttcgtgaca cagcggaact tctacgagcc ccagatcadc	4080
accaccgaca acaccttcgt gtccggcaac tgcgacgtcg tgatcggaat tgtgaacaat	4140
accgtgtacg acctctgca gcccagctg gactccttca aagaggaact ggacaagtac	4200

tttaagaacc acacaagccc cgacgtggac ctgggagaca tctctggcat caacgcctcc 4260

gtgggtcaaca tccagaaaga gatcgaccgg ctgaacgagg tggccaagaa tctgaacgag 4320

tccctgatcg acctgcaaga actggggaag tacgagcagt acatcaagtg gccctgggtac 4380

atctggctgg gctttatcgc tggcctgata gctatcgtga tggtcacaat catgctgtgc 4440

tgtatgacct cctgttgctc ctgcctgaag ggctgctgct ctgcggctc ttgctgcaag 4500

ttcgacgagg acgactctga gcccgtgctg aaaggcgtga agctgcacta tacctgatga 4560

ctcgag 4566

<210> 33

<211> 1513

<212> PRT

<213> 人造序列

<220>

<223> HBSAg-(EAAAK)3-全長SARS-CoV-2棘蛋白

<400> 33

Met Glu Asn Ile Thr Ser Gly Phe Leu Gly Pro Leu Leu Val Leu Gln

1 5 10 15

Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln Ser Leu

20 25 30

Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu Gly Gly Ser Pro Val Cys

35 40 45

Leu Gly Gln Asn Ser Gln Ser Pro Thr Ser Asn His Ser Pro Thr Ser

50 55 60

Cys Pro Pro Ile Cys Pro Gly Tyr Arg Trp Met Cys Leu Arg Arg Phe

65 70 75 80

Ile Ile Phe Leu Phe Ile Leu Leu Leu Cys Leu Ile Phe Leu Leu Val

85 90 95

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

Phe His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp
305 310 315 320

Asn Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu
325 330 335

Lys Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser
340 345 350

Lys Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile
355 360 365

Lys Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr
370 375 380

Tyr His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr
385 390 395 400

Ser Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu
405 410 415

Met Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe
420 425 430

Val Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr
435 440 445

Pro Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu
450 455 460

Pro Leu Val Asp Leu Pro Ile Gly Ile Asn Ile Thr Arg Phe Gln Thr
465 470 475 480

Leu Leu Ala Leu His Arg Ser Tyr Leu Thr Pro Gly Asp Ser Ser Ser
485 490 495

Gly Trp Thr Ala Gly Ala Ala Ala Tyr Tyr Val Gly Tyr Leu Gln Pro
500 505 510

Arg Thr Phe Leu Leu Lys Tyr Asn Glu Asn Gly Thr Ile Thr Asp Ala
515 520 525

Val Asp Cys Ala Leu Asp Pro Leu Ser Glu Thr Lys Cys Thr Leu Lys
530 535 540

Ser Phe Thr Val Glu Lys Gly Ile Tyr Gln Thr Ser Asn Phe Arg Val
545 550 555 560

Gln Pro Thr Glu Ser Ile Val Arg Phe Pro Asn Ile Thr Asn Leu Cys
565 570 575

Pro Phe Gly Glu Val Phe Asn Ala Thr Arg Phe Ala Ser Val Tyr Ala
580 585 590

Trp Asn Arg Lys Arg Ile Ser Asn Cys Val Ala Asp Tyr Ser Val Leu
595 600 605

Tyr Asn Ser Ala Ser Phe Ser Thr Phe Lys Cys Tyr Gly Val Ser Pro
610 615 620

Thr Lys Leu Asn Asp Leu Cys Phe Thr Asn Val Tyr Ala Asp Ser Phe
625 630 635 640

Val Ile Arg Gly Asp Glu Val Arg Gln Ile Ala Pro Gly Gln Thr Gly
645 650 655

Lys Ile Ala Asp Tyr Asn Tyr Lys Leu Pro Asp Asp Phe Thr Gly Cys
660 665 670

Val Ile Ala Trp Asn Ser Asn Asn Leu Asp Ser Lys Val Gly Gly Asn
675 680 685

Tyr Asn Tyr Leu Tyr Arg Leu Phe Arg Lys Ser Asn Leu Lys Pro Phe
690 695 700

Glu Arg Asp Ile Ser Thr Glu Ile Tyr Gln Ala Gly Ser Thr Pro Cys
705 710 715 720

Asn Gly Val Glu Gly Phe Asn Cys Tyr Phe Pro Leu Gln Ser Tyr Gly
725 730 735

Phe Gln Pro Thr Asn Gly Val Gly Tyr Gln Pro Tyr Arg Val Val Val
740 745 750

Leu Ser Phe Glu Leu Leu His Ala Pro Ala Thr Val Cys Gly Pro Lys
755 760 765

Lys Ser Thr Asn Leu Val Lys Asn Lys Cys Val Asn Phe Asn Phe Asn
770 775 780

Gly Leu Thr Gly Thr Gly Val Leu Thr Glu Ser Asn Lys Lys Phe Leu
785 790 795 800

Pro Phe Gln Gln Phe Gly Arg Asp Ile Ala Asp Thr Thr Asp Ala Val
805 810 815

Arg Asp Pro Gln Thr Leu Glu Ile Leu Asp Ile Thr Pro Cys Ser Phe
820 825 830

Gly Gly Val Ser Val Ile Thr Pro Gly Thr Asn Thr Ser Asn Gln Val
835 840 845

Ala Val Leu Tyr Gln Asp Val Asn Cys Thr Glu Val Pro Val Ala Ile
850 855 860

His Ala Asp Gln Leu Thr Pro Thr Trp Arg Val Tyr Ser Thr Gly Ser
865 870 875 880

Asn Val Phe Gln Thr Arg Ala Gly Cys Leu Ile Gly Ala Glu His Val
885 890 895

Asn Asn Ser Tyr Glu Cys Asp Ile Pro Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala
900 905 910

Ser Tyr Gln Thr Gln Thr Asn Ser Pro Arg Arg Ala Arg Ser Val Ala
915 920 925

Ser Gln Ser Ile Ile Ala Tyr Thr Met Ser Leu Gly Ala Glu Asn Ser
930 935 940

Val Ala Tyr Ser Asn Asn Ser Ile Ala Ile Pro Thr Asn Phe Thr Ile
945 950 955 960

Ser Val Thr Thr Glu Ile Leu Pro Val Ser Met Thr Lys Thr Ser Val
965 970 975

Asp Cys Thr Met Tyr Ile Cys Gly Asp Ser Thr Glu Cys Ser Asn Leu
980 985 990

Leu Leu Gln Tyr Gly Ser Phe Cys Thr Gln Leu Asn Arg Ala Leu Thr
995 1000 1005

Gly Ile Ala Val Glu Gln Asp Lys Asn Thr Gln Glu Val Phe Ala
1010 1015 1020

Gln Val Lys Gln Ile Tyr Lys Thr Pro Pro Ile Lys Asp Phe Gly
1025 1030 1035

Gly Phe Asn Phe Ser Gln Ile Leu Pro Asp Pro Ser Lys Pro Ser
1040 1045 1050

Lys Arg Ser Phe Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asn Lys Val Thr Leu
1055 1060 1065

Ala Asp Ala Gly Phe Ile Lys Gln Tyr Gly Asp Cys Leu Gly Asp
1070 1075 1080

Ile Ala Ala Arg Asp Leu Ile Cys Ala Gln Lys Phe Asn Gly Leu
1085 1090 1095

Thr Val Leu Pro Pro Leu Leu Thr Asp Glu Met Ile Ala Gln Tyr
1100 1105 1110

Thr Ser Ala Leu Leu Ala Gly Thr Ile Thr Ser Gly Trp Thr Phe
1115 1120 1125

Gly Ala Gly Ala Ala Leu Gln Ile Pro Phe Ala Met Gln Met Ala
1130 1135 1140

Tyr Arg Phe Asn Gly Ile Gly Val Thr Gln Asn Val Leu Tyr Glu
1145 1150 1155

Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Gln Phe Asn Ser Ala Ile Gly Lys
1160 1165 1170

Ile Gln Asp Ser Leu Ser Ser Thr Ala Ser Ala Leu Gly Lys Leu
1175 1180 1185

Gln Asp Val Val Asn Gln Asn Ala Gln Ala Leu Asn Thr Leu Val
1190 1195 1200

Lys Gln Leu Ser Ser Asn Phe Gly Ala Ile Ser Ser Val Leu Asn
1205 1210 1215

Asp Ile Leu Ser Arg Leu Asp Lys Val Glu Ala Glu Val Gln Ile
1220 1225 1230

Asp Arg Leu Ile Thr Gly Arg Leu Gln Ser Leu Gln Thr Tyr Val
1235 1240 1245

Thr Gln Gln Leu Ile Arg Ala Ala Glu Ile Arg Ala Ser Ala Asn
1250 1255 1260

Leu Ala Ala Thr Lys Met Ser Glu Cys Val Leu Gly Gln Ser Lys
1265 1270 1275

Arg	Val	Asp	Phe	Cys	Gly	Lys	Gly	Tyr	His	Leu	Met	Ser	Phe	Pro
1280						1285					1290			
Gln	Ser	Ala	Pro	His	Gly	Val	Val	Phe	Leu	His	Val	Thr	Tyr	Val
1295						1300					1305			
Pro	Ala	Gln	Glu	Lys	Asn	Phe	Thr	Thr	Ala	Pro	Ala	Ile	Cys	His
1310						1315					1320			
Asp	Gly	Lys	Ala	His	Phe	Pro	Arg	Glu	Gly	Val	Phe	Val	Ser	Asn
1325						1330					1335			
Gly	Thr	His	Trp	Phe	Val	Thr	Gln	Arg	Asn	Phe	Tyr	Glu	Pro	Gln
1340						1345					1350			
Ile	Ile	Thr	Thr	Asp	Asn	Thr	Phe	Val	Ser	Gly	Asn	Cys	Asp	Val
1355						1360					1365			
Val	Ile	Gly	Ile	Val	Asn	Asn	Thr	Val	Tyr	Asp	Pro	Leu	Gln	Pro
1370						1375					1380			
Glu	Leu	Asp	Ser	Phe	Lys	Glu	Glu	Leu	Asp	Lys	Tyr	Phe	Lys	Asn
1385						1390					1395			
His	Thr	Ser	Pro	Asp	Val	Asp	Leu	Gly	Asp	Ile	Ser	Gly	Ile	Asn
1400						1405					1410			
Ala	Ser	Val	Val	Asn	Ile	Gln	Lys	Glu	Ile	Asp	Arg	Leu	Asn	Glu
1415						1420					1425			
Val	Ala	Lys	Asn	Leu	Asn	Glu	Ser	Leu	Ile	Asp	Leu	Gln	Glu	Leu
1430						1435					1440			
Gly	Lys	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Ile	Lys	Trp	Pro	Trp	Tyr	Ile	Trp	Leu
1445						1450					1455			
Gly	Phe	Ile	Ala	Gly	Leu	Ile	Ala	Ile	Val	Met	Val	Thr	Ile	Met
1460						1465					1470			

Leu Cys Cys Met Thr Ser Cys Cys Ser Cys Leu Lys Gly Cys Cys
1475 1480 1485

Ser Cys Gly Ser Cys Cys Lys Phe Asp Glu Asp Asp Ser Glu Pro
1490 1495 1500

Val Leu Lys Gly Val Lys Leu His Tyr Thr
1505 1510

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種流感-COVID-19組合疫苗，其包含：

- (a) 流感血球凝集素(HA)或其免疫原性片段；及
- (b) 一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段；

其中該等抗原能夠激發對抗流感及COVID-19兩者之免疫反應及保護。

【請求項2】

如請求項1之流感-COVID-19組合疫苗，其進一步包含流感神經胺糖酸酶(NA)或其免疫原性片段。

【請求項3】

如請求項1或2之流感-COVID-19組合疫苗，其中：

(a)該流感HA或其免疫原性片段係：

- (i)包含於不活化流感病毒體中；
- (ii)重組HA或其免疫原性片段；
- (iii)包含HA或其免疫原性片段之融合蛋白；或
- (iv)由RNA或DNA疫苗編碼；及/或

(b)該流感NA或其免疫原性片段係：

- (i)包含於不活化流感病毒體中；
- (ii)重組NA或其免疫原性片段；
- (iii)包含NA或其免疫原性片段之融合蛋白；或
- (iv)由RNA或DNA疫苗編碼；及/或

(c)該一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段係：

- (i)至少一種重組SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段；
- (ii)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之融合蛋白；
- (iii)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之病毒樣顆粒(VLP)；
- (iv)至少一種編碼重組SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之多核苷酸；或
- (v)由至少一種RNA或DNA疫苗編碼。

【請求項4】

如前述請求項中任一項之流感-COVID-19組合疫苗，其中該流感HA或其免疫原性片段及該流感NA或其免疫原性片段係包含於不活化流感病毒體中且該一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段係：(i)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之融合蛋白，或(ii)至少一種包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之病毒樣顆粒(VLP)。

【請求項5】

如請求項1或2之流感-COVID-19組合疫苗，其中：

- (a) 該流感HA或其免疫原性片段係包含於減毒活流感病毒體中；
 - (b) 該流感NA或其免疫原性片段係包含於減毒活流感病毒體中；
- 及/或
- (c) 該一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段係包含於活病毒載體中。

【請求項6】

如請求項5之流感-COVID-19組合疫苗，其中包含該一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段之活病毒載體係：

- (a) 腺病毒載體；
- (b) 麻疹病毒載體；
- (c) 腮腺炎病毒載體；
- (d) 風疹病毒(rubella virus)載體；
- (e) 水痘病毒載體；
- (f) 小兒麻痺病毒載體；或
- (g) 黃熱病病毒載體。

【請求項7】

如前述請求項中任一項之流感-COVID-19組合疫苗，其進一步包含佐劑。

【請求項8】

如請求項7之流感-COVID-19組合疫苗，其中該佐劑係細胞(Th1)及體液(Th2)免疫反應之刺激物。

【請求項9】

如前述請求項中任一項之流感-COVID-19組合疫苗，其中該佐劑包含鯊烯水包油乳液、鋁鹽或單磷醯脂質A (MPL)。

【請求項10】

如前述請求項中任一項之流感-COVID-19組合疫苗，其中該一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原係選自：

- (a) 與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段；

(b) 包含與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段之融合蛋白；

(c) 包含與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段之VLP；

(d) 編碼與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段之多核苷酸；
或

(e) 表現與SEQ ID NO: 1具有至少90%一致性之來自SARS-CoV-2之棘蛋白，或其與該棘蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段之病毒載體、RNA疫苗或DNA質體

其中視需要該SARS-CoV-2棘蛋白之片段包含該SARS-CoV-2棘蛋白之受體結合域(RBD)或由其構成，較佳與SEQ ID NO: 15具有至少90%一致性。

【請求項11】

如前述請求項中任一項之流感-COVID-19組合疫苗，其中該一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原係包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之融合蛋白且進一步包含：

(a) B型肝炎表面抗原，或其與該B型肝炎表面抗原具有共同抗原交叉反應性之片段；

(b) HPV 18 L1蛋白，或其與該HPV 18 L1蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段；

(c) E型肝炎P239蛋白，或其與該E型肝炎P239蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段；及/或

(d) HPV 16 L1蛋白，或其與該HPV 16 L1蛋白具有共同抗原交叉反應性之片段。

【請求項12】

如請求項11之流感-COVID-19組合疫苗，其中：

(a) 該融合蛋白係由包含與SEQ ID NO: 3、5、6、8、26、27、29、30或32中之任一者具有至少90%一致性之核酸序列或由其構成之多核苷酸編碼；及/或

(b) 該融合蛋白包含與SEQ ID NO: 9、10、11、12、28、31或33中之任一者具有至少90%一致性之胺基酸序列或由其構成。

【請求項13】

如前述請求項中任一項之流感-COVID-19組合疫苗，其中該一或多種來源於SARS-CoV-2之抗原係包含SARS-CoV-2棘蛋白或其免疫原性片段之VLP，其中該VLP包含如請求項11或12中所定義之融合蛋白或由其構成。

【請求項14】

如前述請求項中任一項之流感-COVID-19組合疫苗，其中該流感HA或其免疫原性片段及該流感NA或其免疫原性片段係包含於：

(a) 季節性流感疫苗，特別是季節性3價流感疫苗或季節性4價流感疫苗；

(b) 單價大流行流感疫苗；或

(c) 通用流感疫苗。

【請求項15】

如前述請求項中任一項之流感-COVID-19組合疫苗，其用於治療及/

或預防COVID-19及流感之方法中。

【請求項16】

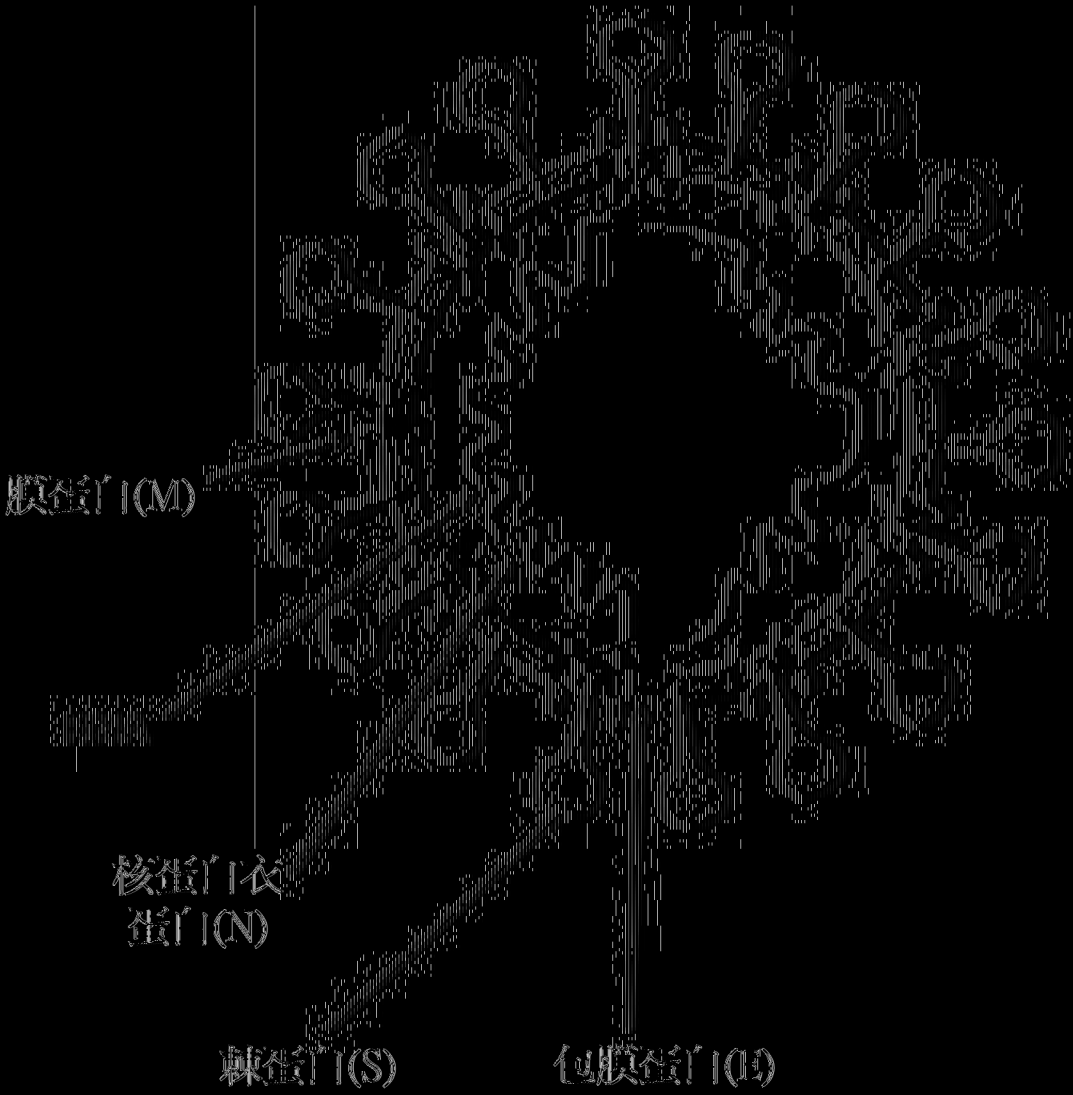
一種流感HA或其免疫原性片段及來源於SARS-CoV-2之抗原或其免疫原性片段及視需要流感NA或其免疫原性片段於製造用於治療及/或預防COVID-19及流感之藥劑之用途，其中該藥劑係如請求項1至14中任一項之流感-COVID-19組合疫苗。

【請求項17】

一種使個體對流感及COVID-19兩者免疫之方法，其包括對該個體投與治療有效量之如請求項1至14中任一項之流感-COVID-19組合疫苗。

【請求項18】

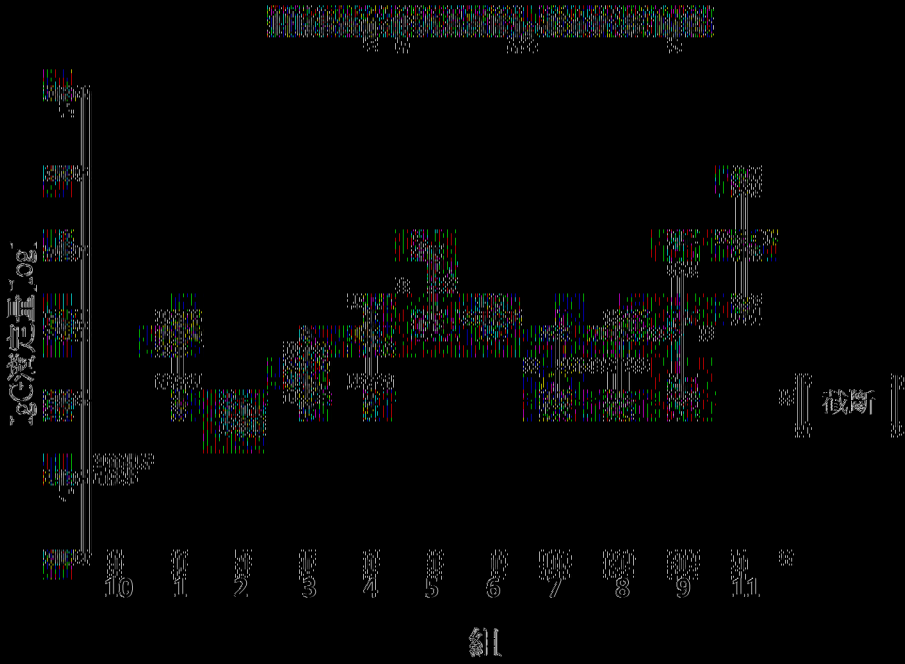
如請求項15之流感-COVID-19組合疫苗、如請求項16之用途或如請求項17之方法，其中該流感-COVID-19組合疫苗係以10至14個月之間隔投與，視需要其中該流感-COVID-19組合疫苗係以約12個月之間隔投與。



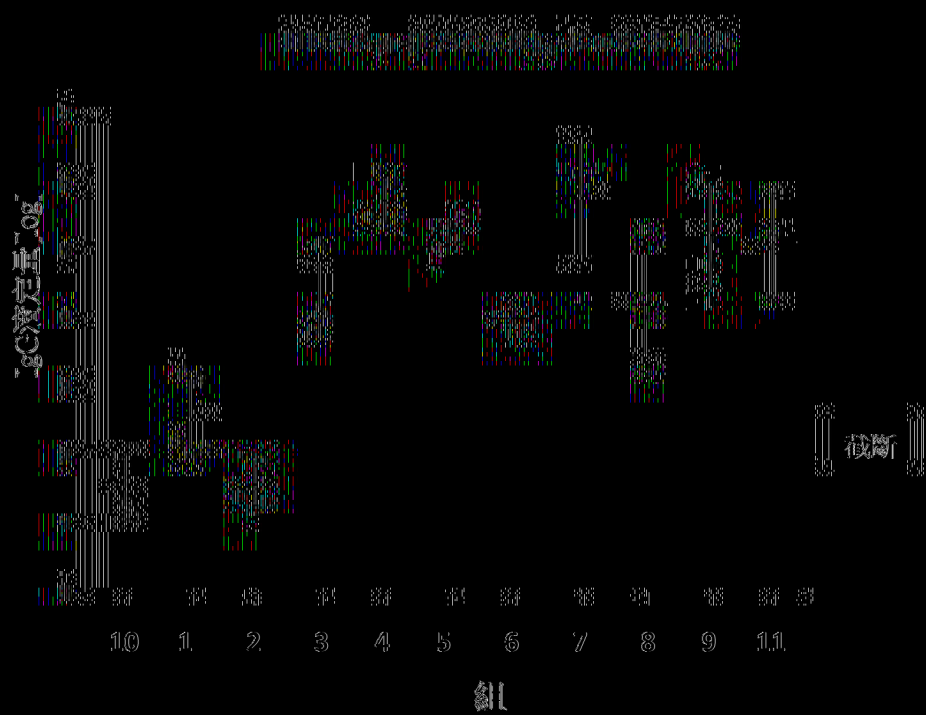
〔同1〕



【圖2】



(b)3)



(圖5)

